

Tesis para optar por el título de Dr. en Ciencias Naturales

Desarrollo de un sistema de cría para
Cheirodon interruptus: una alternativa a la
explotación de poblaciones silvestres y
para el uso de la especie en bioensayos
de toxicidad



Lic. Ignacio D. García

Directores
Dr. Darío C. Colautti
Dr. Carlos A. Bonetto

Año 2018
Facultad de Ciencias Naturales y Museo
Universidad Nacional de La Plata

Agradecimientos

Primero quiero agradecer a mi familia, que me ha dado la posibilidad de estudiar Biología o “los pecesitos” como ellos dicen. Gracias a mi Vieja por lo compartido, el aliento, la paciencia y por todo, esta tesis está especialmente dedicada a ella, en donde estés, siempre te llevaré conmigo. A mi Viejo por el aguante, estar siempre en el detalle y las salidas de pesca de la adolescencia. A mis Tíos Carlos y Graciela, por esos días de pesca y aventura, allá hace muchos años, en Goya donde tanto aprendí. A Kel, mis primas, locas y divertidas, a mis primos muy personajes que siempre están. A mi madrina que es un ser tan único que siempre ve lo bueno en todo. A Marina porque la vida es más linda compartida con vos, gracias por el aguante.

A mis directores, Darío y Carlos, gracias por la paciencia que tuvieron. Los momentos de charla, la libertad de pensamiento y el aprendizaje.

A los pibes del laboratorio: Ariel, un ídolo y un gran maestro. A Lolo, Javi y Juan por los buenos momentos y la predisposición en las últimas instancias. A Miri y Vivian por la paciencia, cariño y colaboración. Al Laboratorio de “ciclos” Any, Naty, Silvia, Marina y Hernán por su colaboración y charlas compartidas. A Palito, el Rústico, el Pacha, Hugo y Jorge por la charlas, los mates y los almuerzos en el laburo. Y a todos los Integrantes del ILPLA desde el primero al último que me apoyaron en estos últimos momentos. Al Rata y al Seba por la charqueadas y las fotos intentadas. Al laboratorio de parásitos acuáticos del CEPAVE por su colaboración y camaradería.

A Alan, mi amigo de la primaria con el que leíamos libros de evolución a escondidas en un colegio católico. A mis amigos de la facu: Rama, Jupi, Pato, Chelu, Beto, Pablo, Ugus, Naza, Augusto, Santi, Bruno, el Lea, Josecho y el Porra, sin dudas la carrera no hubiera sido lo mismo sin ustedes.

Y por último y no menos importante a la banda ictiológica, cuyos apodos de campaña voy a preservar, gracias por esas charlas taxonómicas y ecológicas donde la filosofía y el sentido de pertenencia siempre están presentes. En especial al “brodes” Felipe un hermano para mí, a Pablo un sinfín de anécdotas y apreciaciones. A Guillo del Bermejo, a Anyelo y a los que se vienen Marcos, Tomi y Facu.

Índice

Resumen.....	5
Abstract.....	8
Capítulo I: Introducción general	11
I.1. <i>Cheirodon interruptus</i> , la mojarra “colita negra”	11
I.1.1. Antecedentes y ubicación taxonómica	11
I.1.2. Descripción morfológica	12
I.1.3. Dimorfismo sexual	12
I.1.4. Distribución	13
I.1.5. Rasgos ecológicos	13
I.2. Contexto actual de la acuicultura, especies apropiadas para el cultivo	14
I.3. Comercialización de <i>Cheirodon interruptus</i> y problemáticas asociadas.....	16
I.4. Utilización de especies autóctonas para bioensayos	21
I.5. Hipótesis de trabajo	21
I.5.1. Objetivo General.....	22
I.5.2. Objetivos Específicos.....	22
Capítulo II: Desarrollo de sistemas de cultivo y experimentación para <i>Cheirodon interruptus</i>.....	23
II.1. Introducción.....	23
II.2. Sistemas de cultivo	29
II.2.1. Acuarios	29
II.2.2. Estanques	30
II.2.3. Jaulas Flotantes.....	31
II.3. Sistema de experimentación.....	31
Capítulo III: Reproducción en cautiverio.....	36
III.1. Introducción.....	36
III.2. Materiales y métodos	37
III.3. Resultados	40
III.4. Discusión y conclusiones.....	42
Capítulo IV: Biología reproductiva: efecto del fotoperíodo y la temperatura en el desarrollo gonadal de <i>Cheirodon interruptus</i>	46
IV.1. Introducción	46
IV.2. Materiales métodos.....	48

IV.2.1. Experimento 1: Influencia del fotoperíodo	48
IV.2.2. Experimento 2: Influencia del fotoperíodo y la temperatura.....	51
IV.3. Resultados	52
IV.4. Discusión.....	60
Capítulo V: Crecimiento	65
V.1. Introducción	65
V.2. Materiales y métodos.....	67
V.2.1. Estimadores de crecimiento instantáneo y prácticas de cultivo	68
V.2.2. Evaluación de modelos y ajuste de curvas de crecimiento	70
V.2.3. Comparación entre sistemas de cultivo	74
V.2.4. Efecto del fotoperíodo sobre el crecimiento.....	74
V.3. Resultados	74
V.4. Discusión y conclusiones	92
Capítulo VI: <i>Cheirodon interruptus</i> como modelo de bioensayos de toxicidad	97
VI.1. Introducción	97
VI.2 Materiales y métodos.....	99
VI.2.1. Organismo ensayado	99
VI.2.2. Plaguicidas.....	100
VI.2.3. Protocolos aplicados	101
VI.2.4. Análisis de datos	101
VI.3. Resultados	102
VI.4. Discusión.....	108
Consideraciones finales	113
Bibliografía.....	116

Resumen

La “mojarra” *Cheirodon interruptus* (Ostariophysi: Characidae) es una especie autóctona que presenta una amplia distribución en Argentina, especialmente en la región pampeana, abarcando tanto ambientes lóticos como lénticos. Su talla máxima promedia los 55 mm para los machos y 65 mm en las hembras. Por ser una especie abundante, eurioica y muy resistente, *C. interruptus* es la especie más utilizada como carnada por la mayoría de los pescadores aficionados a la pesca del pejerrey con caña. La extracción de ejemplares salvajes, para abastecer este vasto mercado, se realiza con redes de arrastre de malla fina, produciendo un impacto sobre las comunidades de peces y un deterioro de los ambientes someros de arroyos, bañados o lagunas. Estas áreas constituyen hábitats de cría para muchas especies de peces y otros organismos que no sólo son capturados y descartados durante la extracción de mojarras, sino que también ven reducidas sus posibilidades de supervivencia debido a que su ambiente es perturbado y desestructurado. Los vendedores de carnada en su mayoría compran mojarras provenientes de zonas distantes siendo las más lejanas Tres Arroyos, Buenos Aires y Tanti, Córdoba, observándose dificultades en el traslado y el mantenimiento de los ejemplares. Las grandes distancias y las pobres condiciones de traslado y mantenimiento representan un riesgo en la propagación de hongos y parásitos de importancia en acuicultura.

El objetivo general de esta tesis fue generar el conocimiento biotecnológico necesario para desarrollar sistemas de producción para el carácido autóctono, *C. interruptus*, que permitan ofrecer una alternativa a la pesca de poblaciones naturales para su utilización como carnada y posibilite el acceso a un stock permanente y estandarizado de individuos para realizar evaluaciones de toxicidad mediante ensayos de laboratorio. A estos efectos se realizaron una serie de pruebas y experimentos orientados a resolver la problemática planteada.

En primer lugar se realizaron experiencias tendientes a evaluar el rendimiento de diferentes tipos de sistemas para la obtención de desoves y larvas, a diferentes escalas de volumen y condiciones ambientales a fin de identificar las posibilidades y limitaciones de cada uno. El sistema de acuarios fue el que mostró mejores resultados en cuanto a la cantidad de huevos embrionados y juveniles de un mes de vida obtenidos por pareja reproductora y el sistema de estanques es el que permitió obtener la mayor cantidad de juveniles por evento reproductivo. *C. interruptus* se reprodujo exitosamente en todos los sistemas ensayados y en un amplio rango de parámetros fisicoquímicos

(pH, conductividad y temperatura) lo que evidencia la potencialidad de la especie para la acuicultura.

En segunda instancia se realizaron experimentos destinados a profundizar el conocimiento de la biología reproductiva de *C. interruptus*. Se desarrolló un sistema de recirculación de agua con capacidad de controlar el fotoperíodo y la temperatura en 12 acuarios para la realización de 4 tratamientos por triplicado. Se realizó un primer experimento para evaluar la influencia de diferentes regímenes de fotoperíodo artificial sobre la maduración ovárica en *C. interruptus*. Considerando los resultados obtenidos se realizó un segundo experimento combinando el fotoperíodo y la temperatura. Los resultados en el primer experimento no sólo indicaron que los tratamientos fotoperiódicos pueden afectar el desarrollo de los ovarios sino también evidenciaron diferentes respuestas en los parámetros reproductivos evaluados. Los resultados del tratamiento de fotoperíodo progresivo en el cual se comprimó la función del incremento de horas de luz diaria observado en la transición invierno-primavera, afirman la idea de que el control del fotoperíodo puede promover la maduración ovárica en *C. interruptus* debido a que en este tratamiento se registraron los valores significativamente superiores en los parámetros reproductivos evaluados. La exposición a iluminación permanente, evidenció una disminución generalizada de los valores del índice gonadosomático, alcanzando los valores más bajos con la menor dispersión de todo el experimento. En cambio, el tratamiento 12 horas luz-día no indujo ningún cambio en el tejido gonadal. Los resultados del segundo experimento fueron consistentes con lo observado anteriormente. El tratamiento de fotoperíodo y temperatura progresiva alcanzó el valor máximo de IGS representando un avance en el desarrollo gonadal cercano al 20% con respecto al alcanzado en el tratamiento de fotoperíodo progresivo sin incremento de temperatura del experimento anterior. Esto sugiere que la temperatura tiene una influencia en el desarrollo ovárico en *C. interruptus* acelerando los procesos de cambio generados por el fotoperíodo, ya que se obtuvo una mayor maduración en el mismo intervalo de tiempo. De acuerdo a los resultados de este estudio, el fotoperíodo y la temperatura deberían ser considerados como herramientas de manejo relevantes en el desarrollo de técnicas de cultivo para la especie.

En una tercera etapa se trató el crecimiento individual de *C. interruptus* que es uno de los aspectos más relevantes para la comprensión de la ecología y el cultivo de esta especie. Se calcularon los principales estimadores de crecimiento instantáneos en diferentes sistemas de cultivo a partir de experimentos en que se realizó la cría de ejemplares de pocos días hasta su adultez en acuarios y estanques. Se evaluaron

diferentes modelos matemáticos para describir la dinámica del crecimiento individual de la especie. Además se analizó el rol del fotoperíodo y la temperatura en el crecimiento. Se obtuvieron resultados semejantes de crecimiento a lo largo de todo el periodo de cultivo en los sistemas evaluados. Se propone la utilización del modelo Logístico para la descripción del crecimiento en *C. interruptus* en función del tiempo, especialmente si se incluyen la primeras etapas de la ontogenia, debido a que mostró el mejor ajuste a los datos provenientes de los sistemas de cultivo según criterios elegidos. El modelo seleccionado indica que el tiempo requerido para llegar al primer tamaño de venta es de 83 a 100 días dependiendo del sistema utilizado, posibilitando la obtención de 3 o 4 ciclos productivos al año utilizando las mismas instalaciones. También se corroboró el crecimiento diferencial por sexo en *C. interruptus* donde se observa una mayor longitud final alcanzada en hembras y una tasa de crecimiento mayor en machos. En los experimentos en los que se manipuló el fotoperíodo y la temperatura, se observó que la longitud final alcanzada por los peces en el tratamiento de iluminación permanente fue máxima. Fotoperíodos artificiales largos sumado al incremento de temperatura estimulan el crecimiento somático en *C. interruptus* por lo que deben ser considerados como herramientas para aumentar la eficiencia de la producción.

Finalmente se evaluó el uso de la especie como modelo para la realización de bioensayos de toxicidad. Se calcularon concentraciones letal cincuenta (CL50) promedio para plaguicidas de amplia utilización en cultivos de soja (lambdacialotrina, clorpirifos y cipermetrina). *C. interruptus* mostró una alta sensibilidad a lambdacialotrina situándose en el 10 % de las especies más sensibles a este compuesto para los ensayos con recambio de medio. Para clorpirifos y cipermetrina se observó una sensibilidad media. El desarrollo de estudios con especies autóctonas permite comprender de una mejor manera la estructura y la dinámica de los sistemas. Teniendo en cuenta la resistencia a la manipulación, su amplia distribución, la representatividad que tiene en diferentes ambientes pampeanos y la sensibilidad observada a lambdacialotrina, es una especie adecuada para ser utilizada como un organismo centinela para la evaluación del riesgo ambiental.

La tolerancia a la manipulación y la rápida adaptación a distintas condiciones de mantenimiento en adición a la factibilidad de su reproducción en distintos sistemas de cultivo señalan a *C. interruptus* como un candidato adecuado para desarrollar emprendimientos acuícolas a gran escala en distintas zonas de la región pampeana. De esta manera es factible ofrecer una alternativa a la explotación de poblaciones naturales y disponer de un stock estandarizado para su utilización en bioensayos de toxicidad.

Abstract

The "mojarra" *Cheirodon interruptus* (Ostariophysi: Characidae) is an autochthonous species that has a wide distribution in Argentina, especially in the Pampean region, covering both lotic and lentic environments. Its maximum size averages 55 mm for males and 65 mm for females. Because it is an abundant species, eurioic and very resistant, *C. interruptus* is the species most commonly used as bait by most fishermen who are fond of fishing silversides by angling. The extraction of wild specimens, to supply this vast market, is done with fine mesh trawls, producing an impact on the fish communities and a deterioration of the shallow environments of streams, marshes or lagoons. These areas are breeding habitats for many species of fish and other organisms that are not only caught and discarded during the extraction of "mojarras", but also their chances of survival are reduced because their environment is disturbed and unstructured. Bait sellers mostly buy *C. interruptus* from distant areas, being the most remote Tres Arroyos, Buenos Aires and Tanti, Córdoba, where difficulties are observed in the transfer and maintenance of the specimens. Large distances and poor transport and maintenance conditions represent a risk in the propagation of fungi and parasites of importance in aquaculture.

The general objective of this thesis was to generate the necessary biotechnological knowledge to develop production systems for the native characid *C. interruptus*, that will allow to offer an alternative to the fishing of natural populations for its use as bait and to allow the access to a permanent stock and standardized individuals to perform toxicity assessments through laboratory tests. To this end, a series of tests and experiments were carried out aimed at solving these problems.

In the first place, experiments were carried out to evaluate the performance of different types of systems for obtaining spawn and larvae, at different scales of volume and environmental conditions in order to identify the possibilities and limitations of each one. The aquarium system was the one that showed the best results in terms of the number of fertilized and juvenile eggs of one month of life obtained per breeding pair and the system of ponds was the one that allowed to obtain the largest number of juveniles per reproductive event. *C. interruptus* were successfully bred in all systems tested and in a wide range of physicochemical parameters (pH, conductivity and temperature) which shows the potential of the species for aquaculture.

In a second instance, experiments were carried out to deepen the knowledge of the reproductive biology of *C. interruptus*. A water recirculation system was developed

with the capacity to control the photoperiod and temperature in 12 aquariums to carry out 4 treatments in triplicate. A first experiment was conducted to evaluate the influence of different artificial photoperiod regimens on ovarian maturation in *C. interruptus*. Considering the results obtained, a second experiment was carried out combining photoperiod and temperature. The results in the first experiment not only indicated that photoperiodic treatments can affect the development of the ovaries but also showed different responses in the reproductive parameters evaluated. The results of the progressive photoperiod treatment in which the function of the increase in daylight hours observed in the winter-spring transition was compressed, affirm the idea that control of the photoperiod can promote ovarian maturation in *C. interruptus* because in this treatment, significantly higher values were recorded in the reproductive parameters evaluated. Exposure to permanent illumination, showed a generalized decrease in the values of the gonadosomatic index, reaching the lowest values with the lowest dispersion of the whole experiment. In contrast, the treatment of 12 hours of light-day did not induce any change in the gonadal tissue. The results of the second experiment were consistent with what was observed previously. The treatment of photoperiod and progressive temperature reached the maximum value of GSI representing an advance in gonadal development close to 20% with respect to that achieved in the treatment of progressive photoperiod without temperature increase of the previous experiment. This suggests that the temperature has an influence on the ovarian development in *C. interruptus* by accelerating the processes of change generated by the photoperiod, since greater maturation was obtained in the same time interval. According to the results of this study, the photoperiod and temperature should be considered as relevant management tools in the development of cultivation techniques for the species.

In a third stage, the individual growth of *C. interruptus* was treated, which is one of the most relevant aspects for the understanding of the ecology and culture of this species. The main instantaneous growth estimators in different farming systems were calculated from experiments in which the breeding of specimens from a few days until adulthood was carried out in aquariums and ponds. Different mathematical models were evaluated to describe the dynamics of individual growth of the species. In addition, the role of photoperiod and temperature in growth was analysed. Similar growth results were obtained throughout the cultivation period in the systems evaluated. We propose the use of the Logistic model for the description of the growth in *C. interruptus* as a function of time, especially if the first stages of ontogeny are included, because it showed the best fit to the data coming from the culture systems according to the criteria chosen. The selected model indicates that the time required to reach the first sales size is 83 to 100

days depending on the system used, making it possible to obtain 3 or 4 production cycles per year using the same installations. The differential growth by sex in *C. interruptus* was also corroborated, showing a greater final length reached in females and a higher growth rate in males. In the experiments in which the photoperiod and temperature were manipulated, it was observed that the final length reached by the fish in the permanent lighting treatment was maximum. Long artificial photoperiods in addition to the increase in temperature stimulate somatic growth in *C. interruptus*, which is why they should be considered as tools to increase the efficiency of production.

Finally, the use of the species as a model for conducting toxicity bioassays was evaluated. Average lethal fifty (LC50) concentrations were calculated for widely used pesticides in soybean crops (lambda-cyhalothrin, chlorpyrifos and cypermethrin). *C. interruptus* showed a high sensitivity to lambda-cyhalothrin, being in 10% of the species most sensitive to this compound for the tests with medium replacement. For chlorpyrifos and cypermethrin, an average sensitivity was observed. The development of studies with native species allows to understand in a better way the structure and dynamics of the systems. Taking into account the resistance to manipulation, its wide distribution, the representativeness it has in different Pampean environments and the observed sensitivity to lambda-cyhalothrin, is a suitable species to be used as a sentinel organism for environmental risk assessment.

The tolerance to manipulation and the rapid adaptation to different maintenance conditions in addition to the feasibility of their reproduction in different farming systems indicate *C. interruptus* as an adequate candidate to develop large-scale aquaculture ventures in different areas of the Pampas region. In this way it is feasible to offer an alternative to the exploitation of natural populations and have a standardized stock for use in toxicity bioassays.

Capítulo I: Introducción general

I.1. *Cheirodon interruptus*, la mojarra “colita negra”

I.1.1. Antecedentes y ubicación taxonómica

Cheirodon interruptus fue colectada por primera vez por Charles Darwin en Maldonado, Uruguay; probablemente en la laguna el Diario (Calviño, 2007) durante su estadía a partir del 29 de abril al 7 de julio de 1833 y luego descrita por Jenyns en 1842. La etimología del nombre genérico proviene del griego (*Cheir* o *Cheiros*: mano y *odonte*: diente (Girard, 1854) debido a que presentan dientes multicuspidados. En relación al epíteto específico, este proviene de su característica línea lateral interrumpida y curvada hacia abajo (Jenyns, 1842).

Pertenece al orden Characiformes que contiene alrededor de 2091 especies distribuidas en 19 familias exclusivamente neotropicales (Eschmeyer & Fong, 2015), de las cuales la familia Characidae es la más diversa en la región Neotropical, con aproximadamente 1150 especies conocidas (Mirande, 2018).

- Clase Actinopterygii
- Superorden Ostariophysi
- Orden Characiformes
- Familia Characidae
- Subfamilia Cheirodontidae
- Tribu Cheirodontini
- Género *Cheirodon*
- Especie *Cheirodon interruptus* (Jenyns, 1842)



Figura I.1. Imagen de *C. interruptus*.

I.1.2. Descripción morfológica

Cheirodon interruptus, al igual que otras especies de mojarras, posee cuerpo alargado y comprimido (Figura I.1). Hocico corto, aproximadamente la mitad del diámetro del ojo. Boca pequeña y terminal. Pedúnculo caudal más largo que alto. Presenta escamas cicloides, regularmente imbricadas. Línea lateral incompleta, 32-36 (raramente 31 o 37) escamas en la serie longitudinal, 8-14 perforadas. Cuatro o 5 dientes premaxilares con 5-7 cúspides. Maxilar con un diente (raramente 2) con 4-6 cúspides. Dentario con 5-8 dientes (Mantinian, 2011).

I.1.3. Dimorfismo sexual

Las hembras son de mayor tamaño alcanzando los 6,2 cm, mientras que los machos llegan a 4,8 cm de longitud estándar (Sendra & Freyre, 1981). El carácter de importancia en acuicultura, que permite diferenciar fácilmente a los machos de las hembras es la presencia de espinitas óseas desarrolladas en el margen posterior de los radios de las aletas pélvica y anal en los machos (Figura I.2). Las hembras maduras solo poseen espinitas óseas en la aleta pélvica sin alcanzar el desarrollo que presentan en los machos. Además los machos tienen los radios caudales procurentes inferiores engrosados, modificados y expandidos en el plano sagital. Estos son salientes en el perfil ventral del pedúnculo caudal y a veces distinguible a simple vista, mientras que en las hembras se encuentran cubiertos por piel y escamas. El pedúnculo caudal en algunos machos maduros está arqueado ventralmente. La altura del cuerpo es mayor en las hembras y en los momentos previos al desove el engrosamiento del cuerpo es notorio.

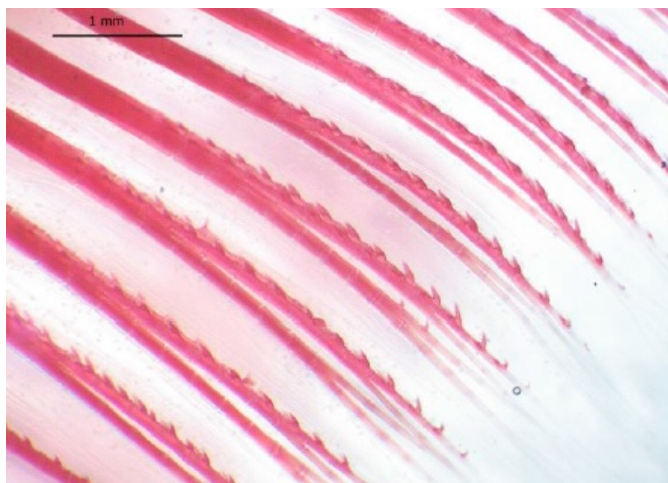


Figura I.2. Detalle de la aleta anal de macho, se observa la presencia de ganchos óseos.
Tomado de Mantinian (2011).

I.1.4. Distribución

Esta especie se localiza en buena parte del territorio argentino, posee la más amplia distribución de la subfamilia y se la encuentra en el noroeste, noreste, oeste, este y centro de nuestro país (Figura I.3). Es una especie compartida con Uruguay y Brasil y ha sido introducida en Chile en varios cursos de agua que desembocan en el Océano Pacífico, como Choapa, Quilimarí, Casablanca, Catapilco entre otras (Malabarba, 2003). El límite meridional de distribución está dado por la presencia en el río Negro, provincia de Río Negro, siendo una de las dos especies de mojarra de distribución más austral (Baigún & Ferriz, 2003). En la actualidad ha sido introducida en el arroyo Valcheta a más de 100 km al sur (Pérez *et al.*, 2015). Habita una gran cantidad de ambientes que incluyen ríos, arroyos, embalses y lagunas siendo una de las especies con mayor representatividad en los cuerpos de agua de la Región Pampeana.



Figura I.3. Distribución de *C. interruptus* en Argentina, modificado de Mantinian (2011).

I.1.5. Rasgos ecológicos

Cheirodon interruptus es una especie eurioica y presenta un régimen alimentario meso y microanimalívoro (Ringuelet, 1975), variando su alimentación en función de las características productivas del ambiente (Rosso, 2007). Su dieta está compuesta principalmente por larvas y adultos de insectos acuáticos (Escalante, 1987). En ambientes lénticos aumenta la importancia de los microcrustáceos del plancton y del bentos siendo la especie de mojarra que presenta el mayor espectro trófico en las lagunas de la región pampeana (Escalante, 1983). Comparativamente el espectro trófico es más amplio en los ambiente lóticos que el observado en las lagunas. Esto probablemente responde a que la oferta del plancton es menor en los cursos de agua y debe complementar su dieta con otros ítems alimentarios (Escalante, 1987).

Cheirodon interruptus es un desovador parcial, con fecundación externa y sin cuidados parentales (Ferriz *et al.*, 2011). Esta especie muestra una actividad reproductiva casi continua a lo largo del ciclo anual, con un periodo más marcado a finales del invierno y primavera (agosto-noviembre), otro de menor intensidad en otoño (marzo-abril) y una breve interrupción desde enero a marzo (Sendra & Freyre, 1981). En este sentido, Ferriz *et al.*, (2011) verificaron estos dos periodos principales de actividad reproductiva y encontraron una correlación significativa entre el índice gonadosomático medio mensual de las hembras con el fotoperíodo y la profundidad. Los huevos fertilizados son más densos que el agua y por lo tanto precipitan, eclosionando en aproximadamente 2 días dependiendo de la temperatura (Freyre & Togo, 1968).

I.2. Contexto actual de la acuicultura, especies apropiadas para el cultivo

La acuicultura en un sentido amplio se define como el conjunto de actividades, técnicas y conocimientos de crianza de animales o plantas acuáticos. Incluye variadas técnicas aplicadas a una amplia cantidad de organismos vegetales y animales (moluscos, artrópodos, peces, etc.) y se realiza en una gran diversidad de ambientes (agua salada, salobre y dulce). Es por esto que la acuicultura involucra un amplio abanico de actores para su funcionamiento y desarrollo. El cultivo de peces se practica desde hace muchos años en países asiáticos, centralizado en pocas especies continentales. Sin embargo, en las últimas décadas su diversificación ha sido intensa debido a la estabilización de las capturas en el medio natural y a la creciente demanda de productos de esta naturaleza. A escala global la acuicultura sigue creciendo a mayor ritmo que otros sectores importantes en la producción de organismos. El crecimiento anual descendió a un moderado 5,8% durante el período 2001-2016, aunque siguió

registrándose un crecimiento de dos dígitos en un pequeño número de países, especialmente en regiones en vías de desarrollo, entre 2006 y 2010 (FAO 2018).

No todas las especies de peces pueden ser cultivadas y dentro de las que se conocen como potenciales para este fin (más de 20.000) tampoco se disponen de todos los conocimientos y herramientas para su cultivo y producción. Para que un cultivo sea exitoso se deben superar ciertos requisitos de carácter biológico, económico, técnico y cultural, algunos de estos son (FAO):

- Obtención de individuos de manera ordinaria y en forma abundante.
- Resistencia al manejo por parte del hombre.
- Conocimiento de los requerimientos nutricionales en todo su ciclo vital y conversión eficiente del alimento.
- Resistencia a enfermedades propias del cultivo, provocadas por el aumento de la densidad y a alimentación artificial.
- Consumo del alimento ofrecido, que éste sea fácil de obtener y a bajo costo.
- Rápido crecimiento y supervivencia adecuada.
- Amplio conocimiento de la biología y dominio del cultivo de la especie.
- Adaptable a condiciones climáticas locales y a la cantidad/calidad de agua disponible.
- Que presente interés económico ya sea culinario, deportivo o ambiental.
- Que justifique los costos de producción y su reproducción en cautiverio.

Al intentar el cultivo de una nueva especie estos requisitos son satisfechos a partir de la investigación que genere el conocimiento biológico y posibilite el desarrollo de técnicas adecuadas de manejo para los organismos en cuestión. En Latinoamérica, existen muchas especies autóctonas con alto potencial para la acuicultura aunque se desconocen o recién comienzan a conocerse los aspectos biológicos y tecnológicos que posibiliten un desarrollo exitoso de sus cultivos. En la actualidad en Argentina de las seis especies cultivadas de mayor producción solo dos son nativas (Panné Huidobro, 2016). Es de destacar la producción en ascenso de especies como pacú (*Piaractus mesopotamicus*), surubí (*Pseudoplatystoma* sp.), pira-pita (*Brycon orbignyanus*), pejerrey (*Odontesthes bonariensis*), cucharón (*Sorubim lima*), entre otras (Dirección Provincial de Pesca, 2018). El desarrollo y conocimiento del cultivo de especies relativamente más pequeñas como *C. interruptus* es incipiente en Latinoamérica e inexistente en Argentina, a pesar de la intensa explotación de la que son objeto sus poblaciones silvestres. Países de la región como Brasil han señalado la importancia del

cultivo de este tipo de especies por sus características biológicas favorables como una alta productividad, un ciclo corto de producción y por la fácil aceptación de alimentación artificial (Vilela & Hayash, 2001; Baldisserotto & de Carvalho Gomes, 2005). Este sector de la acuicultura tiene un mercado demandante y específico por ser una especie muy buscada como cebo para la pesca deportiva aunque también es bien aceptada para consumo en Brasil. La producción en uno de los mayores productores de Brasil asciende a 20 millones de ejemplares al año, destinando 21 hectáreas para su cultivo (Sussel, 2012). En este contexto, el desarrollo del cultivo de especies de menor tamaño, en pequeña y mediana escala, contribuye a la producción acuícola regional. Esta escala de producción favorece el desarrollo de medios de subsistencia a través del suministro de alimentos y posibilidades de generación de ingresos, mejorando así la equidad social y la calidad de vida de las comunidades rurales (FAO, 2018).

I.3. Comercialización de *Cheirodon interruptus* y problemáticas asociadas

Por ser una especie eurioica, de rápida adaptación al cautiverio y muy resistente *C. interruptus* es la especie más utilizada como carnada por la mayoría de los pescadores aficionados a la pesca del pejerrey con caña, que dos décadas atrás ya sumaban más de 2 millones sólo en el Gran Buenos Aires (Grosman, 2000). Si se tiene en cuenta solamente que los pescadores hacen en promedio dos salidas al año, el consumo de *C. interruptus* ascendería a 400 millones de ejemplares que se comercializan a 4 dólares la centena, generando un movimiento económico de 16 millones de dólares. Cifra que podría ser mucho mayor en la actualidad.

La extracción de esta especie para abastecer este vasto mercado se realiza con redes de arrastre de malla fina, produciendo un impacto sobre las comunidades de peces y un deterioro de los ambientes someros de arroyos, bañados o lagunas. Estas áreas constituyen hábitats de cría para muchas especies de peces y otros organismos que no sólo son capturados y descartados durante la extracción de mojarra, sino que también ven reducidas sus posibilidades de supervivencia debido a que su ambiente es perturbado y desestructurado (López *et al.*, 2001).

La comercialización de *C. interruptus* se realiza en puestos de carnada que presentan variación en infraestructura y posibilidades de mantenimiento de los peces (Figura I.4). En plena temporada de pesca de pejerrey se contabilizan hasta 10 puestos sobre Ruta Nacional 2 solo en el tramo de La Plata - Chascomús, siendo la mitad de ellos puestos permanentes.



Figura I.4. Puestos de venta de carnada ubicados sobre Ruta Nacional 2.

La venta se realiza principalmente en dos tamaños, el primero de menor talla $2,21 \pm 0,18$ cm que es el que mayor demanda tiene en la temporada de pesca de pejerrey en lagunas bonaerenses. El segundo tamaño $3,38 \pm 0,41$ cm orientado a la pesca de pejerrey de mayor porte y la pesca de tarariras en primavera-verano.

Los vendedores de carnada en su mayoría compran mojarra provenientes de zonas distantes siendo las más lejanas Tres Arroyos, Buenos Aires y Tanti, Córdoba (López *et al.*, 2016). Las grandes distancias y las pobres condiciones de traslado y mantenimiento representan un riesgo por las tasas de mortalidad que se registran y por la propagación de hongos y parásitos de importancia en acuicultura.

En general los peces extraídos de los ambientes naturales presentan helmintos parásitos debido a que éstos tienen, en su mayoría, ciclos de vida indirectos (utilizan hospedadores intermediarios), de modo que su transmisión se produce a través de relaciones de depredador – presa habituales en naturaleza. En cambio en pisciculturas estos registros son escasos pero sí es más frecuente la presencia de parásitos que se transmiten por ciclo directo como por ejemplo algunos protozoos, monogeneos, copépodos e isópodos; y aquellos que se transmiten por ciclos indirectos en donde no hay participación de la relación depredador - presa (Carvajal & González, 1990).

Se han reportado hasta el momento en *C. interruptus* distintos agentes etiológicos en una mortandad natural que afectó a varias especies en el sur de Córdoba. En este estudio se registró *Ichthyophthirius multifiliis*, *Trichodina* sp., *Dactylogyrus* sp. y *Saprolegnia* sp. La prevalencia para los agentes parasitarios y micóticos fue de 90 y 35 % respectivamente (Mancini *et al.*, 2016). También se registró la presencia del copépodo parásito *Lernaea cyprinacea* en ambientes del Río Negro.

En cautiverio *C. interruptus* no presenta eventos de mortandades masivas mientras la calidad de agua en el cultivo sea adecuada y estable. Debe destacarse que si se pretende iniciar un cultivo con ejemplares obtenidos en los puestos de carnada es conveniente realizar una cuarentena cuidadosa ya que en los mismos se observaron tres agentes etiológicos que son capaces de causar la mortandad de gran parte del plantel si no es tratado a tiempo. Los dos principales son *Saprolegnia* sp. (fungosis) (Figura I.5, Figura I.6.a) y la presencia de una bacteria filamentosa que principalmente ataca la boca impidiendo la ingestión de alimento (Figura I.7). La tercera patología capaz de producir mortandades es *Ichthyophthirius multifiliis* (punto blanco) de menor recurrencia observada en este estudio. Su aparición en el cultivo de *C. interruptus* se asocia a una brusca disminución de la temperatura del agua, por lo que es conveniente igualar las temperaturas cuidadosamente antes de transferir los peces al nuevo recinto (Figura I.6 b).



Figura I.5. *Cheirodon interruptus* con signos de fungosis (*Saprolegnia* sp.)

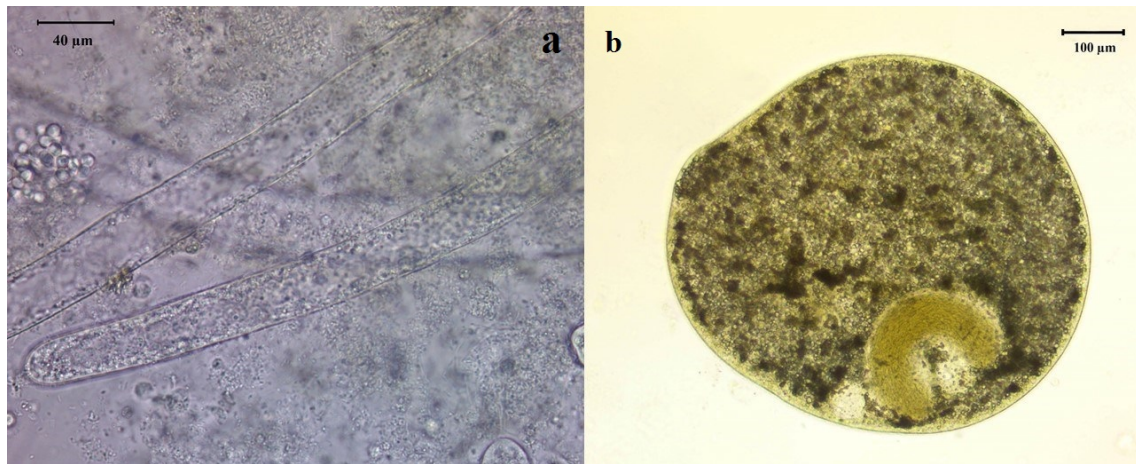


Figura I.6 a. Detalle de *Saprolegnia* sp. hallada en la superficie del cuerpo. **b.** Detalle del protozoo ciliado *Ichthyophthirius multifiliis*.



Figura I.7. *Cheirodon interruptus* con bacteriosis en la región anterior (Bacteria filamentosa).

Durante el transcurso de esta tesis se examinaron ejemplares comprados en los puestos de venta provenientes de la zona de Tres arroyos y Balcarce (provincia de Buenos Aires), en la gran mayoría (N= 20) se encontraron parásitos internos y externos (Figura I.8 a-h).

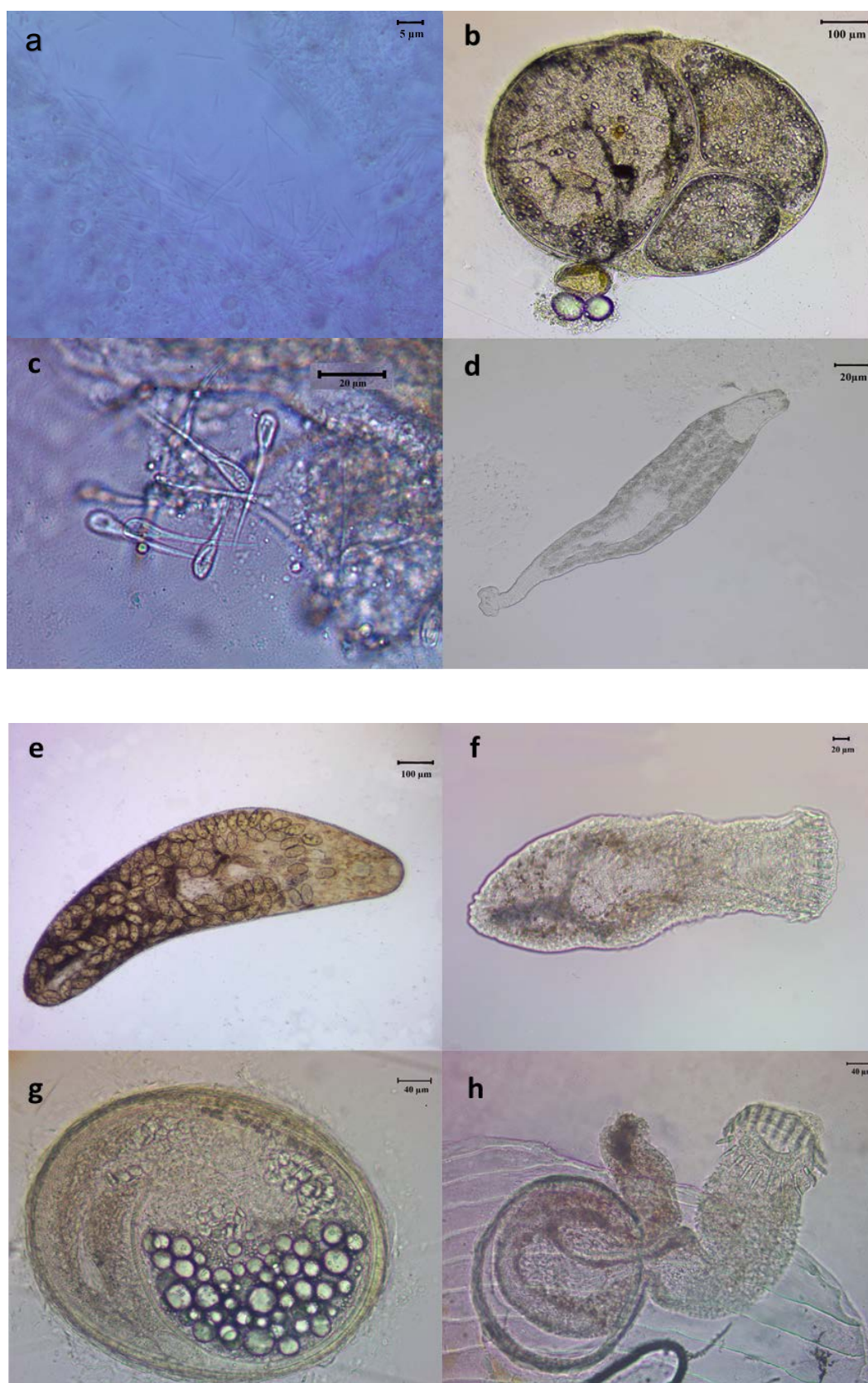


Figura I.8. Parasitismos hallados en *C. interruptus* provenientes de puestos de venta de carnada. **a.** Bacteria filamentosas hallada en la superficie del cuerpo. **b.** Metacestodos hallado en el mesenterio. **c.** Mixosporidio *Hennegoya* sp. **d.** Monogeneo Dactylogyridae. **e.** Digeneo

Saccocoelioides sp. **f.** *Metacercaria* Cryptogonimidae **g.** *Metacercaria* Heterofidae **h.**
Metacercaria Equinostomatidae.

Dos problemáticas deben ser tenidas en cuenta en el cultivo y la comercialización de esta especie. La primera es que las translocaciones son inevitables debido a que está ampliamente extendido entre los pescadores las sueltas de los ejemplares sobrantes luego de la jornada de pesca. Y la segunda es que las invasiones en sitios donde la especie no ocurre son irreversibles. Por lo tanto el impacto de la interacción de especies asociado al extractivismo y posterior liberación tiene entre otros efectos la introducción de parásitos y enfermedades por antropocoria (Arthington & Bülhörn, 1996).

I.4. Utilización de especies autóctonas para bioensayos

La mayor parte de los estudios de sensibilidad de peces a distintos compuestos xenobióticos, entre ellos los plaguicidas, fue estudiada en especies que no son representativas de la fauna de nuestro país o se encuentran en nuestro medio pero son introducidas. En el caso de las especies autóctonas, los estudios de exposición a estos compuestos se incrementaron en los últimos años donde se ha determinado la toxicidad del pesticida cipermetrina para *Rhamdia quelen* (Borges *et al.*, 2007), *Odontesthes bonariensis* (Carriquiriborde *et al.*, 2006) *Cnesterodon decemmaculatus* (Carriquiriborde *et al.*, 2007), para clorpirifos en *Cichlasoma dimerus* (Domitrovic, 2000), *Piaractus brachypomus* (Méndez, 2012) y *Cnesterodon decemmaculatus* (Paracampo *et al.*, 2014). No obstante en nuestro país existen 47 familias, 184 géneros y 461 especies de peces de agua dulce nativas (Cussac *et al.*, 2008) por lo que resulta de interés conocer la sensibilidad de más representantes con diferentes rasgos de vida de nuestra fauna. A pesar de la amplia distribución y representatividad que posee *C. interruptus* solo existen dos antecedentes de su utilización en bioensayos de toxicidad (Campana *et al.*, 1999 y Bonifacio *et al.*, 2017). *C. interruptus* tiene la potencialidad de ser un buen modelo para bioensayos de toxicidad por ser representativo de la fauna autóctona y la factibilidad de ser criado en cautiverio.

I.5. Hipótesis de trabajo

- 1- *Cheirodon interruptus* es una especie que puede ser producida de manera masiva bajo condiciones controladas.
- 2- La producción de *C. interruptus* es una alternativa a la explotación de poblaciones naturales.

3- *Cheirodon interruptus* es una especie de la ictiofauna autóctona apropiada para utilizarse como modelo experimental en evaluaciones de toxicidad.

I.5.1. Objetivo General

Generar el conocimiento biotecnológico necesario que posibilite el desarrollo de un sistema de producción para el carácido autóctono, *Cheirodon interruptus*, a fin de:

- Ofrecer una alternativa a la pesca de poblaciones naturales para su utilización como carnada.
- Disponer de un stock permanente y estandarizado de individuos para realizar evaluaciones de toxicidad.

I.5.2. Objetivos Específicos

- a. Desarrollar y evaluar métodos para producir el desove que permitan maximizar la obtención de huevos embrionados y juveniles, por pareja reproductora y evento reproductivo.
- b. Estudiar el efecto de los factores ambientales vinculados a la estacionalidad sobre el desarrollo gonadal.
- c. Analizar el crecimiento, factores que lo afectan y el tiempo necesario para alcanzar los tamaños de venta.
- d. Evaluar la toxicidad de los plaguicidas lambdacialotrina, clorpirifos y cipermetrina en *C. interruptus* criados bajo condiciones controladas mediante la realización de bioensayos.

Capítulo II: Desarrollo de sistemas de cultivo y experimentación para *Cheirodon interruptus*

II.1. Introducción

Cuando se enfrenta la problemática de desarrollar sistemas de cultivo para una especie nueva para la acuicultura, es de suma importancia efectuar una evaluación de su respuesta a las técnicas de mayor aplicación en especies ampliamente utilizadas. Es necesario considerar las ventajas, desventajas y limitantes de cada método, y una vez evaluadas considerar la factibilidad de realizar pruebas de respuesta de la especie a cada una de ellas teniendo en cuenta las restricciones tecnológicas, técnicas, económicas, sociales y culturales del lugar donde se intentará el desarrollo e implementación del cultivo de la especie seleccionada.

En este sentido, es importante tener en cuenta en primera instancia las maneras en que pueden clasificarse los sistemas de cultivo para peces en base a las tareas que se realizan, la complejidad e infraestructura y los aportes nutricionales que se otorguen al sistema de la siguiente forma (modificado de Tacon & De Silva, 1997, Tacon & Foster, 2003, Mancini & Grossman, 2008):

- 1- Extensivo: En este sistema se trata de minimizar los costos y labores, basando la producción en las posibilidades que el ambiente ofrece. No existen aportes externos para elevar el rendimiento; todos los aportes nutricionales se generan dentro del cuerpo de agua. La intervención humana es sólo para la cosecha de peces y eventualmente para la siembra.
- 2- Semi-extensivo: Este sistema de cultivo supone una intervención más importante traducida en mayores inversiones y rendimiento. Se intenta aumentar la producción mediante el abonado y/o suministro de alimento. La mayoría de los aportes nutricionales son generados por los cuerpos de agua y los aportes externos constan de desechos tanto de procesos de la agricultura como de fertilización.
- 3- Intensivo: Existe un control exhaustivo en cada etapa del cultivo dependiendo totalmente del aporte alimenticio externo. Se persigue obtener la máxima producción posible en relación al espacio utilizado. Se realiza en espacios pequeños con alta densidad de peces. El aporte de nutrientes es tanto producto del sistema de cultivo natural o por fertilización, como por aporte externo de alimento artificial.

También pueden clasificarse los sistemas anteriores de acuerdo a la infraestructura que se aplique (Beveridge, 2004). En este sentido se pueden dividir según el lugar de emplazamiento en:

- 1- Sistemas ubicados en tierra por ejemplo: cavas, acuarios, estanques o piletas.
- 2- Sistemas ubicados en agua como jaulas flotantes, corrales o encierros.

Los sistemas acuícolas terrestres de pequeña y mediana escala con sistemas cerrados de recirculación de agua, que se ubicarían dentro del grupo 1, son ampliamente utilizados en la producción intensiva de peces a nivel mundial pero son los menos extendidos en establecimientos acuícolas de nuestro país (Merino & Sal, 2007). Este tipo de sistemas permite superar algunas limitaciones de los sistemas de cultivo tradicionales, como por ejemplo, utilizan menos del 90% de agua y espacio; limitan las interacciones con el medio ambiente a través de la contención de los desechos generados durante el cultivo (heces, peces muertos, productos químicos, entre otros) y, por su capacidad de mantener aislada la producción, reducen la incidencia de enfermedades y la pérdida de individuos (Naylor *et al.*, 2000, Timmons & Ebeling, 2007).

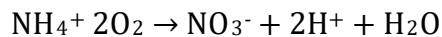
Estos sistemas también poseen algunas desventajas tales como su elevado costo ya que requieren corriente eléctrica, instalaciones adecuadas, tecnología especializada, personal técnico calificado y agua de buena calidad (Timmons & Ebeling, 2007). Los sistemas de recirculación permiten concentrar la biomasa en algunas especies hasta 100 g/L, lo que favorece el incremento en los niveles de compuestos nitrogenados, producto del catabolismo de las proteínas contenidas en los alimentos (Ebeling *et al.*, 2006). Así, un alimento con una mayor concentración de proteínas promoverá una mejor performance de crecimiento alcanzando la talla comercial en un menor tiempo. En contrapartida un alimento de este tipo tiene un costo económico más elevado y aumentan las concentraciones de compuestos nitrogenados en menor tiempo. Este último punto es uno de los principales problemas que presentan los sistemas cerrados de recirculación de agua utilizados en la acuicultura, la acumulación de los metabolitos tóxicos, como el amoníaco y amonio (NH_3 / NH_4^+) y el nitrito (NO_2^-). El nitrógeno es excretado por los peces a través de sus branquias y por la orina, y es producido también por la descomposición microbiana del alimento no consumido y de las excretas. La toxicidad del N-amoniaco se basa principalmente en el amoníaco no ionizado (NH_3) y la proporción de NH_3 y NH_4^+ depende del pH, la fuerza iónica y la temperatura (Anthonisen *et al.*, 1976). Las especies de peces cultivados poseen un estrecho rango de tolerancia a este compuesto que puede variar de acuerdo al tamaño

de los peces y a la temperatura del agua (Abdalla *et al.*, 1996). En los sistemas de cultivo es necesario proveer de mecanismos que aumenten su remoción (Eshchar *et al.*, 2006). Diferentes autores han descrito los niveles de toxicidad (CL 50) de amoníaco no ionizado para distintas especies de importancia en acuicultura como *Oreochromis niloticus* 1,009 mg/l – 7,40 de N-NH₃ (Benli & Köksal, 2005), *Ictalurus punctatus* 4,5 mg/L N-NH₃, *Oncorhynchus mykiss* 0,06 mg/L N-NH₃ (Tomasso, 1994), *Odontesthes argentinensis*, 0,76 - 0,96 mg/L N-NH₃ (Ostrensky & Brugger, 1992) , *Australoheros fascetum*, 2,95 mg/L N-NH₃ (Piedras *et al.*, 2006). Se sugieren tomar como límites superiores 0,1 mg de NH₄-N / L total, 0,1 mg de NO₂-N / L y 20 mg de NO₃-N / L para la realización de experimentos en peces y crustáceos cuando no se conocen los límites de tolerancia específicas (Spotte, 1970, USEPA, 2002).

La eficiencia en el desempeño de los sistemas de cultivo intensivo depende del mantenimiento de la calidad del agua necesarias para que la especie en cultivo tenga tasas de crecimiento adecuadas (Timmons & Ebeling, 2007). En este tipo de cultivos existen varias maneras de reducir o eliminar el N-NH₃. Luccheti & Gray (1988) sugieren tres mecanismos básicos para eliminarlo: a) por arrastre del aire, proporcionando la desnitrificación, b) por intercambio iónico y c) por biofiltración. Este último es el más frecuentemente utilizado en los sistemas cerrados de recirculación de agua, debido a que es eficiente, tiene bajo costo y su operación y mantenimiento resulta relativamente sencilla. Los biofiltros son sistemas diseñados para favorecer el proceso de nitrificación, de esta manera se mantienen niveles aceptables de amoníaco y nitritos para las especies que son cultivadas (Wheaton *et al.*, 1991; Wickins., 1985). Los biofiltros son considerados como el factor más importante en el tratamiento del agua de un sistema de recirculación, ya que tienen por objeto proveer un sustrato para el crecimiento de bacterias nitrificantes.

Durante el proceso de nitrificación el agua rica en nitrógeno pasa a través del biofiltro previamente colonizado por bacterias nitrificantes. Estas bacterias quimioautótrofas emplean el carbono inorgánico como fuente de carbono para la síntesis celular y el nitrógeno inorgánico para obtener energía. Los microorganismos involucrados en este proceso se dividen en dos grupos bien diferenciados, las bacterias amonioxidantes (*Nitrosomonas* sp.) que realizan la conversión del nitrógeno amoniacal a nitrito y las bacterias nitritoxidantes (*Nitrobacter* sp.) que transforman el nitrito en nitrato.

La reacción global de oxidación del amonio para ambos grupos de bacterias se muestra en la siguiente ecuación:



La información sobre el diseño, funcionamiento y eficiencia de los biofiltros en distintas condiciones de cultivo es escasa, sobre todo en los sistemas cerrados de recirculación de agua a pequeña escala. Entre ellos se pueden mencionar los trabajos realizados por Hargrove *et al.*, (1996), Eikebrokk *et al.*, (1995), Westerman *et al.*, (1996), Twarowska *et al.*, (1997) Schuster & Steltz (1998), Ingle de la Mora *et al.*, (2003), Arredondo-Figueroa *et al.*, (2007), Pedreira *et al.*, (2010) y Sanchez *et al.*, (2013).

El principal problema en los procesos de biofiltración es el establecimiento de las colonias de bacterias nitrificantes en el lecho de los biofiltros, las cuales necesitan un período de asentamiento y multiplicación (“ciclado”). También se ha observado que pueden reducir su actividad debido a cambios bruscos en la temperatura del agua o bien a la disminución del pH (Alleman & Preston, 1991). Asimismo, el normal funcionamiento es afectado negativamente por el aumento de materia orgánica soluble, la presencia de algunas sustancias químicas utilizadas en el tratamiento o en el control de enfermedades infecciosas como el formaldehído (Heinen *et al.*, 1995) y la oxitetraciclina (Klaver & Matthews, 1994).

Los sistemas emplazados en agua (grupo 2), como las jaulas flotantes, presentan la ventaja de retener a las especies cultivadas en un ambiente natural confinadas en un volumen determinado. Una característica importante es que las fluctuaciones en los parámetros fisicoquímicos debidos a los cambios que generan las variables de cultivo son menores que en los sistemas terrestres, en especial los riesgos de aumento de la concentración de compuestos nitrogenados. No dependen del suministro eléctrico y aprovechan las condiciones productivas del ambiente. Las jaulas flotantes son los sistemas de base acuática más utilizados (Beveridge, 2004), presentando diferencias estructurales dependiendo del ambiente y de la especie a cultivar y por ello requieren de ajustes en función de dichas características.

Las jaulas flotantes son unidades para cultivo de peces que básicamente constan de una estructura o marco flotante que sirve de sostén y da forma a una bolsa de red que mantiene confinados a los peces. Toda jaula flotante, cuenta además con un sistema de fondeo que la mantiene fija en su sitio y una tapa superior que protege a los peces de eventuales depredadores. Los tamaños, formas, y materiales con que se construyen son muy variados y dependen de los materiales disponibles en la zona, los costos y las posibilidades del acuicultor. Existen desde modelos netamente artesanales

hasta altamente industrializados. No obstante, hay ciertas características que toda jaula de cría debe satisfacer: bajo costo y peso, fácil manejo y reparación, durabilidad y resistencia acordes a las condiciones de uso, facilitar una alta tasa de intercambio de agua (jaula/ambiente) y que no produzca lesiones a los peces (Solimano, 2013).

En la actualidad se utilizan dos tipos de jaulas flotantes que básicamente definen dos modalidades de cultivo (Colautti, 2005). Estas son las jaulas de pequeño volumen y alta densidad de cultivo (PVAD) cuya capacidad es de 4 m³ o menor y las jaulas de gran volumen y baja densidad de cultivo (GVBD) con más de 16 m³. Las capacidades productivas, el manejo y los costos de ambos tipos por unidad de volumen, presentan diferencias relevantes que resultan decisivas al momento de elegir la metodología a implementar.

Las jaulas PVAD soportan altas densidades de cultivo debido a que la relación entre su superficie lateral y el volumen contenido es alta y, por ello, el recambio de agua entre la jaula y el ambiente también es alto asegurando de este modo el ingreso de oxígeno y la evacuación de desechos a una tasa elevada; en consecuencia soportan altas cargas de peces. A medida que el volumen de las jaulas aumenta, la relación referida disminuye y con ello también la tasa de intercambio ambiente/jaula y la capacidad de carga de peces por unidad de volumen. Por estas cuestiones las GVBD funcionan con densidades menores.

El manejo rutinario, el mantenimiento y la cosecha de las PVAD son sencillos y puede ser realizado por una persona mientras que las GVBD son estructuras de mayor envergadura que normalmente requieren de equipos de trabajo, embarcaciones de mayor porte, e incluso maquinarias sofisticadas para su manejo y mantenimiento.

Los materiales que se utilizan para la construcción de las PVAD son diversos, habitualmente predominan aquellos que abundan en la región, y su resistencia y vida útil son limitadas excepto en el caso de PVAD industrializadas. En las GVBD los materiales son más específicos y tanto su resistencia como su vida útil están concebidas para asegurar su uso por varios ciclos productivos.

Las PVAD presentan diseños relativamente sencillos aunque muchas veces ingeniosos. Su construcción por lo común no requiere del uso de herramientas complicadas y no insume demasiado tiempo ni energía. En contraposición los cálculos y diseños de las GVBD son complejos, su construcción demanda el uso de herramientas específicas, gastos importantes de energía, tiempo y personal especializado. Con

relación a la cantidad de materiales y costos por unidad de volumen la PVAD superan a las GVBD.

El uso de ambos tipos están bastante difundidos en el mundo y la elección de uno u otro depende de los ambientes, el sector social que lo implemente y las especies que se cultiven.

Otro factor importante a considerar es el sitio de instalación de las jaulas que deben reunir ciertas condiciones que garanticen no solo la integridad de las instalaciones y la calidad de agua para el cultivo, sino que también resulten accesibles y faciliten las tareas de manejo. Por ello, en lo referente a calidad de agua es conveniente elegir ambientes poco o nada contaminados, con profundidades que excedan en al menos una mitad de la jaula y con corrientes moderadas que garanticen un cambio total del agua contenida en la jaula entre 1 – 5 veces por minuto. Estas tasas de recambio aseguran la eliminación de compuestos nitrogenados y la provisión de oxígeno necesaria, sin comprometer ni a la estructura de la jaula ni a los peces. Además, el sitio de instalación de las jaulas debe ser accesible, seguro y cómodo para posibilitar un buen manejo. Finalmente la cercanía a vías de transporte desde el lugar de cría hasta los centros proveedores de insumos también son factores de relevancia en este aspecto.

El cultivo en jaulas flotantes en ambientes dulceacuícolas se ha extendido en muchos países y es aplicado a un gran número de especies, principalmente mediante la utilización de las jaulas PVAD que son las más extendidas a este tipo de ambiente. Se ha implementado con éxito en países de Asia en cultivos semi-extensivos e intensivos (Masser & Bridger, 2007), en Australia (Rowland *et al.*, 2006) y en Sudamérica con salmónidos y tilapia (Rojas & Wadsworth, 2007) y con pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) en las lagunas pampeanas (Colautti *et al.*, 2010; Garcia de Souza *et al.*, 2015; Solimano *et al.*, 2015; Garcia de Souza *et al.*, 2017).

Como ya se ha señalado, para el desarrollo de sistemas de cultivo se debe tener en cuenta las características de la especie. *C. interruptus* al ser un pez de pequeño tamaño acepta ser mantenido a escalas reducidas y con bajos requerimientos lo cual permite la realización de ensayos a nivel experimental. No obstante, la producción a escala comercial requiere el desarrollo de sistemas capaces de producir ejemplares en cantidades acordes a la demanda. En función de lo comentado, en este capítulo se describen diferentes tipos de sistemas de cultivo ensayados para la especie con el fin de satisfacer ambos objetivos.

II.2. Sistemas de cultivo

II.2.1. Acuarios

Se utilizaron tres acuarios de 100 litros de capacidad de 90 x 30 x 40 cm. colocados sobre una estantería metálica (Figura II.1) ubicados en el bioterio del Instituto de Limnología “Dr. Raúl Ringuelet” (ILPLA). Cada acuario se equipó con filtros de esponja dependientes de aireación que posibilitan la absorción de desechos y toda su superficie es colonizada por colonias bacterianas nitrificantes. Además, se instalaron filtros de tipo cascada Rs-3000 con capacidad de 1200 L/h. Estos filtros posibilitan la retención de partículas (filtración mecánica), el asiento de bacterias nitrificantes (filtración biológica) y la retención de compuestos orgánicos a partir del agregado de carbón activado (filtración química) el cual debe ser reemplazado regularmente antes de la saturación.



Figura II.1. Sistema de cultivo en acuarios ubicado en el bioterio de Instituto de Limnología “Dr. Raúl Ringuelet”.

Las densidades de cultivo máximas utilizadas para este sistema fueron de un pez adulto por litro (longitud: 3,82 cm \pm 0,32; peso: 1,21 g \pm 0,32. Se realizaron cambios con frecuencia semanal del 30% del total del volumen de agua y limpieza de los filtros con agua del acuario a fin de preservar la colonia de bacterias. Los peces fueron alimentados manualmente, tres veces al día *ad-libitum*. Se utilizó alimento comercial

(Shuleet®, Argentina) que contiene $\geq 44\%$ de proteína cruda, $\geq 5\%$ de fibra cruda, $\geq 10\%$ de grasa total, minerales totales $\geq 12\%$ y $\leq 6\%$ de humedad. La temperatura del agua se mantuvo a 20 °C utilizando un equipo de aire acondicionado que conservó constante la temperatura del ambiente.

II.2.2. Estanques

Se utilizaron tres piletas de lona de 4000 litros cada una de 3 x 0,65 x 2,5 metros a modo de estanques. Se ubicaron a la intemperie y reparados de la luz solar directa. Se utilizó una cubierta de red a modo de protección contra la depredación por parte de los pájaros.

Se diseñó un sistema de filtración con materiales asequibles con la finalidad de mantener bajas las concentraciones de compuestos nitrogenados (Figura II.2). Se utilizó un barril de polietileno de 200 litros de capacidad al que se le realizaron dos perforaciones. La primera, en la parte inferior frontal para el caño de salida cuya toma de agua en el interior del tanque está cubierta por un recipiente plástico para evitar la salida de sólidos sedimentados (Figura II.2.a y II.2.b). La segunda, de posición lateral con el extremo del caño anterior cercano al fondo del recipiente para realizar la limpieza periódica del sedimento acumulado. Se colocaron distintos materiales filtrantes dispuestos en capas separados por una malla fina. La capa inferior está compuesta por arcilla expandida la segunda de mayor espesor, en sentido ascendente compuesta por “biobolas” (Figura II.2.c), y una capa superior de vellón siliconado. La función de las dos primeras capas es la de permitir el asiento y desarrollo de bacterias nitrificantes. La capa superficial se añadió para retener partículas en suspensión. El sistema está conectado a una bomba Rs con capacidad de 6700 L/h revestida con malla antiáfido de trama 0,5 x 0,5 mm para evitar la succión de peces.



Figura II.2. Biofiltro utilizado en el sistema de estanques.

II.2.3. Jaulas Flotantes

Se utilizó como base un diseño de jaula superador al publicado por Colautti *et al.*, (2010) que consta de un volumen de 12 m³ dividido en dos. Por lo que se generan dos compartimientos separados de 6 m³, con un marco de madera de 4 X 3 m con bidones de flotación, al cual se le añade alrededor de su perímetro interno una bolsa de red que deja una profundidad efectiva de 1 m.

La laguna en la cual se instaló la jaula flotante (Figura II.3) fue la Salada de Monasterio (35° 47' S, 57° 52' O), que pertenece al grupo de lagunas arreicas de la cuenca del Salado. El cuerpo de agua tiene una superficie aproximada de 600 ha, 3.400 m de longitud máxima, 1.900 m de ancho máximo y un perímetro de aproximadamente 9,2 km. Se trata de un ambiente con bajo impacto antrópico, con moderada actividad agrícola-ganadera en campos linderos.



Figura II.3. Jaula Flotante instalada preparada para su instalación en la laguna Salada de Monasterio.

II.3. Sistema de experimentación

Se desarrolló un sistema de acuarios con el objetivo de realizar experimentos que posibiliten estudiar la influencia de las variables ambientales vinculados a la estacionalidad (fotoperíodo y temperatura) sobre el desarrollo gonadal en *C. interruptus* (ver capítulo IV). Este sistema está compuesto por un total de 12 acuarios de 50 L (50 x 30 x 33,3 cm.) con capacidad de realizar diseños experimentales con 4 tratamientos de tres réplicas cada uno (Figura II.4).



Figura II.4. Sistema de experimentación desarrollado en el cual se llevó a cabo los experimentos en laboratorio

El sistema tiene capacidad de recirculación de agua. Cada acuario drena independientemente a un reservorio de agua inferior donde está emplazado un filtro de tipo seco-húmedo que contiene una carga filtrante de 35 L de “biobolas” y canutillos cerámicos (Dophin®). Este tipo de sustratos cumple la función de asiento de bacterias nitrificantes. El agua se eleva por bombas dependiente de nivel hacia tanques reservorios superiores y luego hacia los acuarios individuales. Previamente a la llegada a los tanques superiores el agua pasa por una segunda etapa de filtros que contiene 500 cm³ de polímero sintético de macroporo (Purigen®) y carbón activado que cumplen la función de retención selectiva de moléculas orgánicas. El flujo de agua de los tanques superiores a cada acuario se controló por una canilla reguladora en los tubos de entrada y el nivel se fijó por una salida de drenaje superior con una tubería conectada a los depósitos inferiores. La tasa de recirculación fue de 20 L/h. Cada acuario está recubierto independiente con una membrana aislante para la temperatura y vinilo opaco de color negro para evitar la entrada de luz externa.

El sistema cuenta con la posibilidad de regular la temperatura individualmente mediante calefactores (ATMAN 50w) en un rango de 17 a 30 °C. La temperatura mínima se establece mediante un equipo de aire acondicionado. Para los experimentos en el que se utilizaron tratamientos con diferentes temperaturas se aislaron los acuarios y las tuberías con aislante térmico aluminizado (Figura II.5).



Figura II.5. Sistema de experimentación aislado térmicamente.

Las peceras cuentan con iluminación individual provista por una tira de led de alta potencia (luz cálida) y pueden ofrecer un máximo de potencia de 150 lux. El fotoperíodo que se desee establecer en cada tratamiento de tres réplicas es controlado por un módulo individual. Cada módulo cuenta con un procesador programable que permite administrar la potencia entregada a los LED's (este conjunto es conocido como driver de potencia). Por lo general los drivers de potencia que se encuentran en el mercado solo permiten programar un ciclo de 24 horas que se repite continuamente, lo que impide la programación de fotoperíodos complejos como los observados en la naturaleza. El driver desarrollado permite manejar cuatro periodos: sin potencia, rampa ascendente, plena potencia, rampa descendente. Esto permite la simulación del

amanecer y del atardecer evitando el estrés que se puede producir en los peces debido a cambios bruscos en la iluminación ambiental. Adicionalmente permite precargar fotoperíodos diarios diferentes lo cual hace factible la simulación de fotoperíodos incrementales como los observados en el ambiente natural en primavera. Cada módulo está compuesto por un procesador ATmega328P (Arduino) que controla un transistor MOSFET aplicando una tensión de 0 a 5 volts que regula el pasaje de corriente a los LED's en el rango de 0 a 12 volts. Además, cuentan con un circuito RTC (Real Time Clock) encargado de mantener sincronizado el experimento durante el transcurso del mismo. Mediante una Tablet conectada a cada uno de los módulos es posible observar *in-situ* el desarrollo de los tratamientos lumínicos, en donde se indica el día, fecha y hora, la potencia de voltaje aplicada y el status de conexión a internet (Figura II.6).

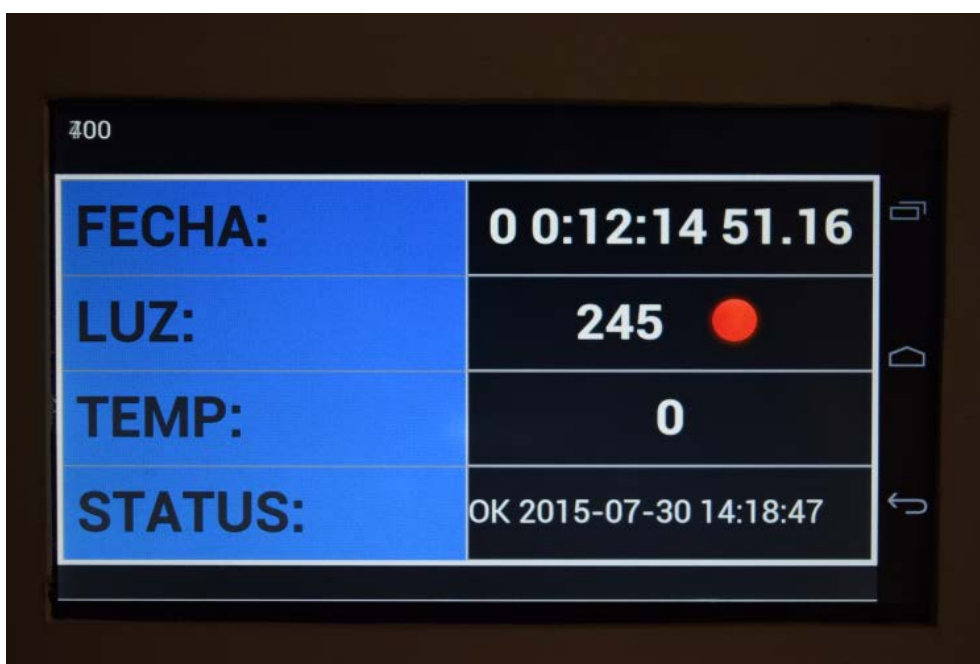


Figura II.6. Display donde se observa in situ el desarrollo de los tratamientos de cada módulo.

Se desarrolló una aplicación Android nativa (Figura II.7) que toma la información cada uno de los tratamientos (mediante conexión usb).



Figura II.7. Datos en tiempo real alojado en el servidor web mostrando el voltaje (línea roja) aplicado a los LED's en cada tratamiento. Se observa la rampa ascendente y descendente de voltaje simulando el amanecer y el atardecer respectivamente en base diaria.

Esta aplicación genera gráficos y los sube a un servidor Web para ser visualizada desde Internet, lo cual permite la observación en tiempo real y de manera remota el transcurso de los experimentos.

Capítulo III: Reproducción en cautiverio

III.1. Introducción

Desde una perspectiva de la acuicultura moderna la obtención de gametas de alta calidad permite alcanzar tanto la cantidad requerida de larvas para el cultivo como la planificación de la producción. También desde un punto de vista económico es uno de los problemas más importantes a resolver y se aplica no solo a los peces criados para el consumo sino también a especies que son utilizadas como carnada u ornamentales. El desarrollo de técnicas de reproducción de peces ha sido impulsado por las necesidades de acuicultura (De Silva *et al.*, 2008). El desarrollo de estas tecnologías estandarizadas y adaptadas a la biología de la especie de interés, posibilita la producción de huevos embrionados mediante la reproducción en cautiverio (Kucharczyk *et al.*, 2008). Lograr el control de la reproducción de peces de importancia acuícola es un paso importante en el desarrollo de cualquier emprendimiento. Esta situación elimina la necesidad de recolectar adultos maduros y proporciona una producción más predecible y confiable.

Cheirodon interruptus, como la mayoría de los pequeños carácidos, es un desovador parcial con fecundación externa que dispersa sus huevos (Cole & Haring, 1999). La depredación por parte de los progenitores es un aspecto relevante que influye directamente en el número final de larvas obtenidas. Para lograr la reproducción en peces con esta estrategia reproductiva es necesario desarrollar metodologías adecuadas para aislar los huevos embrionados de los progenitores.

Aunque *C. interruptus* puede ser mantenido en cautiverio y ha sido criado en estanques por Maiztegui *et al.*, (2009), no se conoce que tipo de sistema se adecua mejor a la especie. Por este motivo se hace necesaria la realización de experimentos tendientes a evaluar el rendimiento de diferentes tipos de sistemas para la obtención de desove de la especie, a diferentes escalas de volumen y condiciones ambientales. Esto reviste especial interés, para el desarrollo de la acuicultura en *C. interruptus*, ya que es una manera de evaluar las posibilidades y limitaciones de diferentes sistemas de obtención de huevos embrionados y juveniles.

III.2. Materiales y métodos

Se realizaron ensayos en tres sistemas de cría diferentes utilizando peces silvestres provenientes de arroyos pertenecientes a la cuenca del río Salado. Los peces se aclimataron a las nuevas condiciones en acuarios con capacidad 150 - 200 litros en densidades de 0,5 pez/L separados por sexo. Estos acuarios fueron equipados con filtros de esponja, filtros eléctricos y abundante aireación proveniente de una turbina. Se realizaron cambios de agua con frecuencia semanal del 30% del volumen total. Durante este periodo los peces fueron alimentados manualmente con un alimento comercial (Shulet®, Argentina) que contiene $\geq 44\%$ de proteína cruda, $\geq 5\%$ de fibra cruda, $\geq 10\%$ de grasa total, minerales totales $\geq 12\%$ y $\leq 6\%$ de humedad. La comida se ofreció dos veces al día (*ad-libitum*). Los valores medios y las desviaciones estándar de las variables referidas a este periodo fueron; temperatura ambiente (15 -19 °C), oxígeno disuelto ($7 \pm 0,8$ mg/L), pH ($7 \pm 0,2$) y conductividad (712 ± 60 μ S/cm). Los niveles de N-NH₄⁺ y N-NO₂⁻ se midieron regularmente con los métodos de indofenol azul y sulfanilamida, respectivamente. Los valores permanecieron entre 0,1 y 0,2 mg/L de N-NH₄⁺ y debajo de 0,5 mg/L de N-NO₂⁻. Los peces se mantuvieron en estas condiciones al menos 60 días antes de ser transferidos a los distintos sistemas acondicionados para la obtención de desoves.

Los tres tipos de sistemas evaluados fueron los siguientes:

- Acuarios de 35 litros
- Estanques de 4000 litros
- Jaulas flotantes de 6 m³ en una laguna pampeana.

Acuarios

En las experiencias de reproducción se utilizaron tres acuarios de 35 litros de capacidad de medidas 50 x 35 x 20 cm. Se utilizó un doble fondo ajustado a los bordes del acuario construido con una malla plástica de 0,5 cm de trama para aislar los huevos de los progenitores. Se agregaron fibras sintéticas para ofrecer refugio y disminuir las interacciones agresivas (Figura III.1). Una única pareja adulta fue trasladada a cada acuario de cría al atardecer. Se seleccionaron hembras con vientres ensanchados, lo cual puede ser interpretado como signo de desarrollo gonadal. Los parámetros del agua al momento de la introducción de los peces fueron temperatura: 20-22 °C; pH: 7-7,2; conductividad: 400-650 μ S/cm. Los peces no se alimentaron durante este periodo.

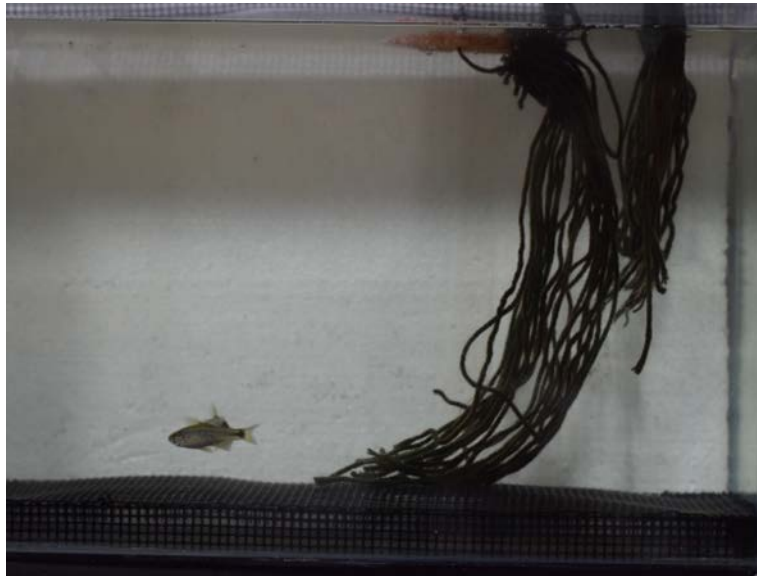


Figura III.1. Configuración de los acuarios donde se colocó un doble fondo que posibilita la separación por decantación de los huevos embrionados.

Los peces fueron retirados 48 hs después de la introducción, luego se contaron y midieron los huevos obtenidos. Una vez aislado el desove, en el acuario de reproducción, los huevos embrionados fueron incubados bajo las mismas condiciones. Después del nacimiento las larvas se alimentaron con *Artemia salina* y alimento comercial en polvo. Se hizo un seguimiento de los huevos obtenidos hasta el mes de vida, luego de este periodo se calculó el porcentaje de supervivencia desde huevos hasta juveniles mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Supervivencia (\%)} = (\text{N}^\circ \text{ de huevos obtenidos} / \text{Numero de juveniles final}) * 100$$

Esta experiencia se repitió durante las primaveras de 2015 y 2016 utilizando tres réplicas en cada año.

Estanques

Se utilizaron dos estanques de 4000 litros cada uno de 3 x 0,65 x 1,5 m donde se instaló un sistema de recirculación de agua (ver capítulo II). Se le añadió un revestimiento a la bomba de recirculación con malla antiáfido de trama 0,5 x 0,5 mm para evitar la succión de huevos embrionados y juveniles. Se diseñaron compartimentos flotantes de red para evitar la depredación de huevos por parte de los progenitores. Estos compartimentos se construyeron con redes plásticas rígidas de 0,5 cm de trama sujetos a goma espuma flotante en todo el perímetro superficial (Figura III.2). Se

colocaron dos compartimientos flotantes en cada estanque de dimensiones 1,5 x 0,5 x 0,9 m con 25 parejas adultas en cada uno. Se introdujeron los reproductores el día 16/4/2016 en los compartimientos flotantes, 60 días después de haber sido capturados. La experiencia se repitió el día 17/9/2016 utilizando los mismos peces luego de mantenerlos separados por sexo durante el invierno. Los parámetros del agua al momento de la siembra fueron en el primer experimento temperatura: 18,3°C; pH: 7; conductividad: 548 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y para el segundo temperatura: 20°C; pH: 7,1; conductividad: 450 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Los peces adultos permanecieron en estos recintos por un período de 60 días o hasta el momento en que se detectaron juveniles de *C. interruptus*.



Figura III.2. Estanque de 4000 litros donde se instalaron compartimientos flotantes para los individuos reproductores.

Jaulas flotantes

Se utilizó como base un diseño de jaula superador al publicado por Colautti *et al.* (2010) que consta de un volumen de 12 m³ dividido en dos (ver capítulo II). Las jaulas se ubicaron a escasos metros de la costa en una zona rodeada de juncos. Se colocaron 25 parejas adultas en cada compartimiento de la jaula (Figura III.3) el día 23/12/ 2017, se le añadió un fondo de hojarasca para ofrecer refugio a las crías. Los peces se alimentaron con los recursos disponibles en el cuerpo de agua sin agregado de alimento artificial. Los parámetros del agua al momento de la siembra fueron temperatura: 27,6°C;

pH: 9,06; conductividad: 1481 $\mu\text{S}/\text{cm}$. La experiencia se extendió por 28 días, momento en el que se detectaron juveniles.



Figura III.3. Siembra de progenitores de *C. interruptus* en jaulas flotantes instaladas en la laguna Salada de Monasterio.

III.3. Resultados

Acuarios

En acuarios es posible observar directamente el momento de la reproducción que generalmente se produjo en horas del atardecer al día siguiente de transferidos los progenitores a los acuarios acondicionados para tal fin. Se observaron desoves en el 66,6 % de los casos dentro de las 48 hs. El cortejo es complejo y consiste en interacciones agresivas por parte de los machos hacia las hembras, particularmente seguimientos prolongados y golpes en la zona ventral. Se observaron hasta 20 puestas en un periodo de dos horas. En cada desove la hembra libera unos pocos ovocitos, generalmente menos de una decena por evento. También se observó la incidencia negativa de la luz y el movimiento desde el exterior. Se observó una alta variabilidad en la cantidad de huevos obtenidos con un promedio de 58,3 y desvío estándar (DE) $\pm 56,7$ por pareja reproductiva.

El tamaño de los huevos obtenidos fue de 1,02 (DE \pm 0,18) mm. Los huevos son de forma ligeramente lenticular, totalmente transparentes y de un color verde ambarino carentes de glóbulos lipídicos diferenciados del vitelo (Figura III.4).



Figura III.4. Detalle de un huevo donde se aprecia el vitelo uniforme de color verdoso.

Los huevos obtenidos mediante el sistema de acuarios se criaron hasta el mes de vida (Figura III.5), el porcentaje de supervivencia del total de huevos embrionados, en promedio, hasta este momento fue del 56,9% (DE \pm 7,82), contabilizándose un promedio de 33,17 (DE \pm 27,59) individuos juveniles por pareja.



Figura III.5. Juvenil de *C. interruptus* obtenido a partir del desove en acuarios. Longitud estándar 1,15 cm.

Estanques

Se observó éxito reproductivo en ambos estanques en la experiencia de primavera. El desove se evidenció a partir de la observación directa de juveniles tempranos a los 30 días después de la transferencia de los progenitores. El promedio del total de crías obtenidas fue de 570 ($DE \pm 94,7$) por estanque y 22,8 ($DE \pm 3,79$) crías por pareja reproductora. Las experiencias realizadas a comienzos del otoño con ejemplares capturados en la naturaleza y colocados en los estanques, previa aclimatación, no tuvieron éxito. Los mismos individuos se reprodujeron satisfactoriamente en primavera luego de haber sido mantenidos separados por sexo durante el invierno.

Jaulas flotantes

En las jaulas flotantes ubicadas en la laguna Salada de Monasterio se detectaron crías en los dos compartimientos aproximadamente al mes de transcurrida la siembra. El número de crías obtenidas en ambos compartimientos resultó disímil entre sí, siendo la primera tres veces superior a la segunda. En promedio se obtuvieron 123 ($DE \pm 83,4$) juveniles por compartimento y 4,92 ($DE \pm 3,33$) crías por pareja reproductora. Luego del desove los individuos adultos decayeron en su estado de condición, registrándose una mortalidad del 50 % durante los 30 días posteriores al desove.

III.4. Discusión y conclusiones

El sistema de acuarios fue el que mostró mejores resultados en cuanto a la cantidad de huevos embrionados y juveniles de un mes de vida obtenidos por pareja reproductora. Sin embargo, si se tiene en cuenta el porcentaje de supervivencia observado la cantidad de juveniles obtenidos en acuarios por pareja reproductora es levemente superior al observado en estanques. En términos netos de cantidad de juveniles obtenidos el sistema de acuarios queda relegado en comparación con los demás. Otro aspecto a considerar es que el mantenimiento de los huevos embrionados y juveniles en espacios reducidos es dificultoso lo que conlleva a un incremento en el tiempo invertido en el acondicionamiento y una mayor probabilidad de ocurrencia de mortalidades. Su principal ventaja es que este sistema es el único que brinda la posibilidad de observación directa del cortejo y extracción de huevos recién embrionados, posibilitando estudios de desarrollo embrionario, obtención de larvas para realizar experiencias en ecotoxicología en las primeras fases del desarrollo, estudios etológicos, etc.

El sistema de desove en estanques es el que permitió obtener la mayor cantidad de juveniles en esta tesis. En el único antecedente de cría para la especie en estanques de similares características (Maiztegui *et al.*, 2009) se obtuvo un número máximo de 122 juveniles a partir de 193 parejas (0,63 juveniles por pareja) y en un segundo estanque donde se introdujeron 92 parejas se obtuvieron 101 juveniles (1,09 juveniles por pareja). El número de crías obtenidas en el presente estudio, resultó ser 20 veces superior en cuanto a la cantidad de juveniles por pareja reproductora y aproximadamente cuatro veces superior en relación al número total de individuos obtenidos. La diferencia observada con este trabajo puede deberse a distintos factores, probablemente el que tenga mayor incidencia en los resultados fue la metodología utilizada en la separación de huevos de los progenitores. En el antecedente previo se utilizó un sistema de recolección de huevos propiciado por bombas que colectaron los huevos por succión y los enviaron a otro estanque sin presencia de adultos, es probable que en este proceso se perdieran parte de los huevos obtenidos (Maiztegui, *com pers*). Otro factor importante a tener en cuenta es la temperatura, debido a que la utilizada en las experiencias en estanques de esta tesis fueron 4 °C superior en promedio al reportado por Maiztegui *et al.*, 2009. El rol de la temperatura en la reproducción se discute en profundidad en el Capítulo IV. Sección .2.2 mediante el diseño de experiencias que relacionan el efecto de la temperatura y el desarrollo gonadal.

Este sistema tiene la ventaja de tener dimensiones medianas y con bajo mantenimiento en comparación con los acuarios, aunque también es dependiente de la electricidad y del correcto funcionamiento del biofiltro. Este sistema es el que permitió obtener una cantidad suficiente de juveniles de una misma cohorte para la realización de las experiencias en laboratorio. La implementación y el perfeccionamiento de este tipo de sistemas de desove tienen la potencialidad de ser utilizados en emprendimientos acuícolas para la obtención de juveniles y su posterior cultivo.

El cultivo en jaulas flotantes emplazado en una laguna natural ofrece ventajas con respecto a los dos sistemas anteriores en cuanto a que necesitan bajo mantenimiento, son independientes de la electricidad y tampoco requiere la utilización de alimentos artificiales ya que los peces se nutren del zooplancton producido por el propio cuerpo de agua. Este último punto es importante ya que reduce drásticamente los costos de producción y la necesidad de alimentar diariamente a los individuos. El cultivo en jaulas flotantes, cuando se realiza en cuerpos de agua productivos utilizando especies de peces que se alimentan de los primeros eslabones de la cadena trófica tiene el mayor potencial para la producción a bajo costo (Little & Muir, 1987). Esta

técnica se ha implementado con éxito en especies de países de Asia en cultivos semi-extensivos e intensivos (Masser & Bridger, 2007) y en Sudamérica con salmónidos y tilapia (Rojas & Wadsworth, 2007) y con pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) en las lagunas pampeanas (Colautti *et al.*, 2010; Garcia de Souza *et al.*, 2015; Solimano *et al.*, 2015; Garcia de Souza *et al.*, 2017). Cabe destacar que los progenitores de *C. interruptus* de este sistema se trasladaron en verano, la época menos favorable para la reproducción, sin embargo el desove ocurrió a los pocos días. Este periodo de tiempo coincide con la interrupción de la actividad reproductiva en los meses de verano reportado por Sendra & Freyre 1981 y Ferriz *et al.* 2011. Las altas temperaturas registradas, cercanas a los 28°C en el momento de la siembra de los progenitores, podrían estar relacionadas a la baja cantidad de juveniles obtenidos. Este sistema en comparación con los dos anteriores tiene el potencial de producir peces a gran escala en términos de relación producción/costo. El desarrollo de este sistema para la obtención de juveniles debe estar enfocado a mejorar el diseño de la jaula flotante en función de los requerimientos de la especie, investigar el momento del año adecuado para la reproducción, la ubicación espacial de las jaulas en el ambiente en relación a la disponibilidad de alimento natural, entre otros.

El número de huevos obtenidos por pareja reproductiva en los tres sistemas estudiados fue bajo si se compara con la fecundidad potencial que presenta la especie en su hábitat natural. Ferriz *et al.* (2011) señalan que *C. interruptus* presenta una fecundidad absoluta media de 448 ovocitos. También otros autores han obtenido rendimientos superiores para especies de similares características. En estos trabajos superan la problemática del número bajo de descendencia lograda introduciendo en los tanques de reproducción tres o cuatro hembras por macho (Cole & Haring, 1999) y en Cypriniformes de talla pequeña con estrategias reproductivas similares a *C. interruptus*, hasta 6 parejas (Kucharczyk, 2008) en el mismo volumen de agua que el utilizado en el presente trabajo. Modificar la proporción sexual o el número de parejas reproductoras en los acuarios de reproducción podría asegurar mayor disponibilidad de hembras preparadas para el desove.

Una de las claves para maximizar la cantidad obtenida de huevos embrionados puede radicar en la mayor sincronización del desove a partir de señales ambientales que pueden actuar como disparadores de la reproducción. Por ejemplo, se ha observado en el ambiente la ocurrencia de lluvias en el período reproductivo que podría simularse a través de producir un descenso marcado en la conductividad del agua de los sistemas controlados de cultivo. Otra alternativa factible para aumentar la masividad del desove

en los sistemas artificiales es la inducción mediante la aplicación de extracto bruto de hipófisis de carpa (EBHC). Esta técnica implica trabajar con individuos con avanzado desarrollo gonadal y ha demostrado ser eficaz en algunas especies de Characiformes (Woynarovich & Horváth, 1980; Sato et al., 2000; Reynalte-Tataje, 2001; Faustino et al., 2011; Andrade et al., 2014) y podría representar una herramienta factible que posibilite el aumento de crías obtenidas.

Como conclusión puede resaltarse que *C. interruptus* produjo desoves efectivos bajo las condiciones de los distintos sistemas ensayados. Esto significa que el evento reproductivo ocurrió en un amplio rango de parámetros fisicoquímicos (pH, conductividad y temperatura) lo que evidencia la potencialidad de la especie para la acuicultura ya que uno de los requerimientos básicos para evaluar las posibilidades de éxito en el desarrollo de su cultivo, son las restricciones que impone para la reproducción en cautiverio.

Capítulo IV: Biología reproductiva: efecto del fotoperíodo y la temperatura en el desarrollo gonadal de *Cheirodon interruptus*

IV.1. Introducción

Los rasgos de vida de los peces están influenciados por la estacionalidad, particularmente en climas templados y fríos donde los cambios de fotoperíodo y temperatura a lo largo del año son mayores (Pankhurst & Porter, 2003). Según Ginés *et al.*, (2004) y Biswas *et al.*, (2010) el fotoperíodo es un factor ambiental importante que afecta de manera directa o indirecta al crecimiento, alimentación, actividad locomotora, tasa metabólica, pigmentación del cuerpo, maduración sexual y reproducción. A pesar de que una serie de factores ambientales han sido señalados como posibles disparadores de la reproducción en la mayoría de los peces, el patrón estacional de cambio de la cantidad de horas de luz es probablemente el factor más importante en la regulación del proceso de maduración gonadal (Bromage *et al.*, 2001).

La temperatura del agua también tiene un rol importante en la estimulación o inhibición de la gametogénesis. Este factor puede afectar la pubertad modulando la tasa de gametogénesis de forma directa o indirectamente por sus efectos sobre el crecimiento somático y el almacenamiento de energía (Taranger *et al.*, 2010). Existen pruebas considerables que sugieren que la maduración gonadal de muchas especies de Cyprinodontiformes, Siluriformes y otras especies de peces tropicales y subtropicales se ve afectada por la temperatura (Vlamming, 1972; Munro, 1990; Kong & Ghil, 2016). Sin embargo, existe controversia si los efectos de la temperatura en la reproducción son directos o complementarios debido a la dificultad de diferenciar experimentalmente los efectos del fotoperíodo de los efectos de la temperatura (Bromage *et al.*, 2001).

El efecto del fotoperíodo y la temperatura en el desarrollo gonadal y en la reproducción de los peces está mediado por ritmos endógenos y por la secreción y síntesis de hormonas sexuales (Elisio *et al.*, 2014, 2015). En la mayoría de los teleósteos, el eje endócrino hipotálamo-hipofisario es la principal vía para el desencadenamiento de la maduración gonadal y el desove y es activado por los cambios estacionales que se producen en el ambiente. Las señales ambientales son recibidas por el cerebro a través de receptores (exteroceptores y fotorreceptores, entre otros), cuya respuesta es la liberación de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). Las hormonas hipotalámicas incluyen tanto la hormona liberadora de GnRH como la inhibidora de gonadotropinas (GRIH) que tienen acciones antagónicas sobre la síntesis y liberación de hormonas gonadotróficas (GTH I y GTH II) por las células gonadotropas

situadas en la adenohipófisis. Las hormonas gonadotróficas son responsables de inducir la síntesis y liberación de estradiol (E2) y en consecuencia el crecimiento de las células germinales y la maduración ovárica.

Existen pocos estudios sobre la relación entre las señales ambientales (fotoperíodo y temperatura) y la maduración gonadal en especies de peces cohabitantes de *C. interruptus* en climas templados. Por ejemplo, en *Odontesthes bonariensis* el incremento de temperatura y el fotoperíodo activa la maduración ovárica de las hembras luego del periodo de descanso gonadal invernal (Miranda *et al.*, 2009). En el pez exótico *Cyprinus carpio* se observó que la maduración gonadal requiere de un fotoperíodo y temperatura creciente (Kucharczyk *et al.*, 2008). Mientras tanto, el efecto del fotoperíodo en la maduración ovárica en Characiformes es menos conocida, aunque existen varios trabajos en poblaciones silvestres de distintas especies que mostraron correlaciones significativas entre el incremento del fotoperíodo y/o la temperatura y el desarrollo gonadal (Azevedo *et al.*, 2000; Lampert *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2010).

Para la mayoría de los peces con una actividad reproductiva estacional, el tiempo y la duración del fotoperíodo son críticos para la manipulación del proceso de maduración sexual (Zhu *et al.*, 2014) y en consecuencia, puede ser modificado comprimiendo o extendiendo el ciclo de fotoperíodo anual (Bromage *et al.*, 2001). Estos cambios en la manipulación del fotoperíodo complementado con variaciones en la temperatura pueden mostrar efectos sinérgicos en la maduración gonadal.

Varios estudios han demostrado que, bajo condiciones controladas, la regulación del fotoperíodo puede ser utilizada como una herramienta factible para manipular la reproducción de varias especies de peces. De hecho, el uso de fotoperíodos artificiales tiene un rol crítico en el desarrollo de técnicas de cría para numerosas especies en laboratorio o bajo diferentes condiciones de cultivo. Puede mencionarse el retraso en la maduración gonadal a través de estudios del índice gonadosomático en tilapia (Rad *et al.*, 2006) y en perca (Migaud *et al.*, 2004) mediante iluminación permanente o la estimulación de la ovogénesis en tilapia bajo una exposición con régimen de iluminación de 12 horas diarias (El-Sayed & Kawwana, 2007). También se describió en pequeños ciprínidos, como *Pseudorasbora parva*, el retraso de la maduración ovárica utilizando fotoperíodos cortos u oscuridad absoluta y su estimulación cuando fue expuesta a fotoperíodos largos (18 a 24 horas de luz diarias) (Zhu *et al.*, 2014). De igual modo en algunas especies como *Gadus morhua* la compresión del fotoperíodo natural produce una aceleración en el ritmo de desarrollo ovárico (Norberg *et al.*, 2004). Estos pocos ejemplos muestran que la manipulación de variables ambientales claves pueden tener

los mismos o diferentes efectos en la biología reproductiva de los peces, dependiendo de la especie a la cual pertenecen. Cualquiera sea la respuesta al tratamiento del fotoperíodo y de la temperatura, el conocimiento de su efecto en el desarrollo gonadal es un prerequisite para desarrollar lineamientos de manejo para especies en cautiverio.

Debido a la importancia de *C. interruptus* como carnada, su uso potencial como pez experimental sumado a la necesidad de proteger a las especies y su ambiente de la amenaza de extracción intensiva, es importante entender la biología reproductiva de esta especie. Por lo tanto, en este estudio se analiza la influencia de diferentes regímenes de fotoperíodo artificial sobre los ovarios de *C. interruptus* para evaluar el potencial del fotoperíodo como herramienta para manipular el ciclo reproductivo de esta especie. Adicionalmente, en una segunda etapa, se analiza el rol de la temperatura como potenciador de los efectos observados bajo distintos tratamientos fotoperiódicos.

IV.2. Materiales métodos

IV.2.1. Experimento 1: Influencia del fotoperíodo

El día 20 de Junio de 2015 un total de 600 adultos de *C. interruptus* (longitud estándar $3,68 \pm 0,24$ cm; peso corporal $1,24 \pm 0,37$ g) se colectaron de cavas artificiales localizados en la localidad de Chascomús, provincia de Buenos Aires ($35^{\circ} 54'S$, $58^{\circ} 11'W$). El fotoperíodo se estableció en un ciclo de 12 horas de luz durante las tres semanas previas al experimento. Durante la aclimatación y la totalidad del experimento se mantuvieron controlados los valores de temperatura ($20^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$), pH ($7 \pm 0,1$), oxígeno disuelto ($7,5 \pm 0,5$ mg/L) y conductividad (1048 ± 60 $\mu S/cm$). Las mediciones se realizaron 5 veces a la semana. Los niveles de amonio (N-NH₄⁺) y nitrito (N-NO₂⁻) se determinaron semanalmente mediante los métodos de indofenol azul y sulfanilamida, respectivamente (APHA, 2012). Los valores de N- NH₄⁺ se mantuvieron <0,1 mg/L y debajo de 0,4 mg/L para N-NO₂⁻. Los peces se alimentaron de manera manual con alimento comercial (Shulet®, Argentina) ofrecido tres veces al día, seis días a la semana (*ad-libitum*) a las 09:00, 13:00 y 17:00 hs. El experimento se llevó a cabo en el sistema de experimentación que se explica en detalle en el Capítulo II.

Para evaluar y comparar los cambios gonadales inducidos en *C. interruptus* bajo diferentes fotoperíodos, se establecieron cuatro regímenes de luz con tres réplicas para cada tratamiento (Horas/luz: oscuridad, L: D): 24L: 0D, 12L: 12D (como control), 0L: 24D y un fotoperíodo progresivo. Este último respondió a la función del incremento de horas de luz diaria observado en la transición invierno-primavera en la latitud del sitio geográfico donde los peces fueron capturados, comenzando con el fotoperíodo del solsticio de invierno, y aplicando incrementos diarios correspondientes a la suma de lo observado en tres días sucesivos en el ambiente hasta alcanzar las horas luz observadas en el equinoccio de primavera (Fotoperíodo inicial 9,8L: fotoperíodo final 14,2L) (Figura IV.1).

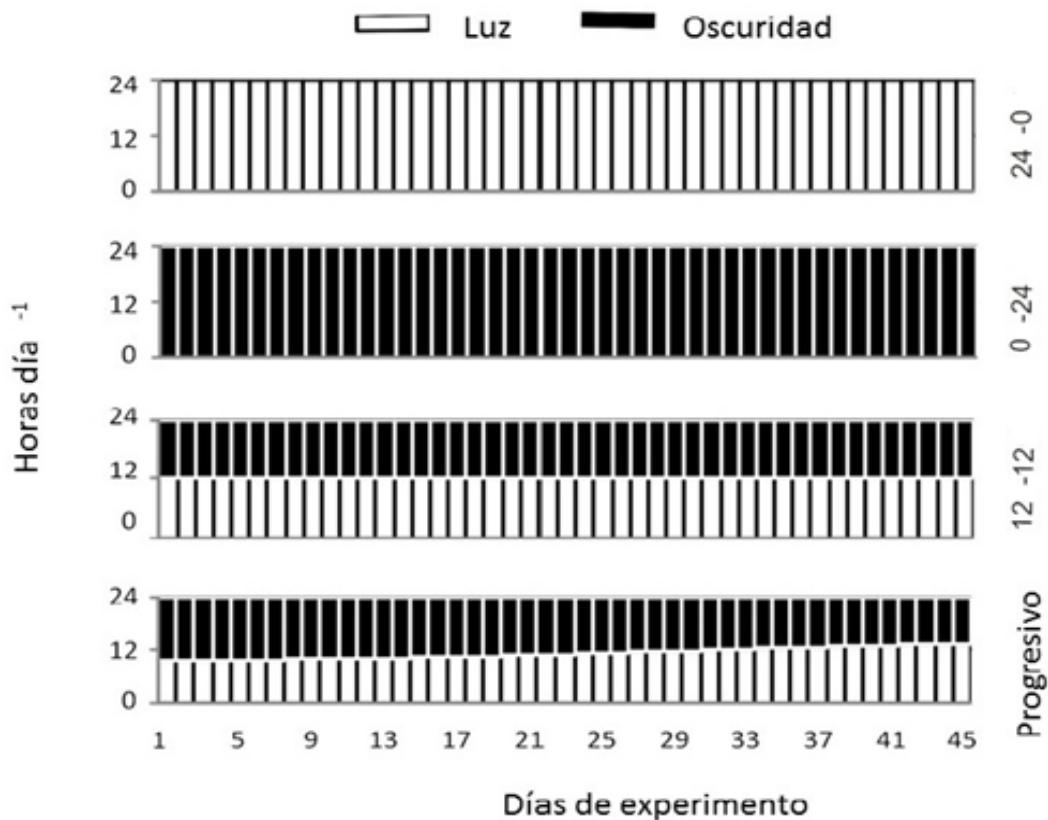


Figura IV.1. Regímenes diarios de luz oscuridad en cada tratamiento durante 45 días de experimento.

En las transiciones de oscuridad - luz y de luz - oscuridad, la intensidad se modificó gradualmente simulando el atardecer y el amanecer respectivamente durante una hora. La intensidad de la luz se mantuvo en 105 lx en la superficie de agua durante la fase lumínica y 0 lx durante la fase oscura.

Inicialmente se sacrificaron 30 hembras con una solución de benzocaína en exceso y luego se seccionó la medula espinal. De esta forma se tomaron muestras para examinar la condición histológica de las gónadas e índice gonadosomático inicial de los individuos de la manera que se describe más adelante. Se colocaron 30 hembras y 10 machos en cada acuario. El experimento se llevó a cabo durante 45 días. Al final del experimento, todos los peces se sacrificaron siguiendo el protocolo mencionado anteriormente, se contabilizaron para la estimación del porcentaje de supervivencia, se registró la longitud estándar y peso de cada individuo.

Se tomaron muestras de sangre para la cuantificación de estradiol (E2). La sangre provino de la arteria caudal y fue colectada con jeringas en tubos Eppendorf de plástico de 2 ml de capacidad. Para obtener la cantidad necesaria de plasma para los análisis se unificó el contenido (pool de muestras) obtenido de 15 - 20 hembras por réplica, obteniendo un total de tres muestras por tratamiento. El plasma se separó por centrifugación a 3000 rpm por 5 minutos y almacenado en frío a -80°C hasta el momento de la medición de hormonas sexuales. Los ovarios fueron removidos y pesados con una balanza analítica (precisión: 0,0001 g) y se fijaron por inmersión en formol al 5%. Se calculó el índice gonadosomático (IGS) por hembra como:

$$\text{IGS} = (\text{peso gonadal} \times 100) / \text{peso corporal}.$$

Para los análisis histológicos se utilizaron las gónadas de hembras seleccionadas al azar, 24 (8 por réplica) del fotoperíodo progresivo, 5 de la condición inicial y 15 (5 por réplica) del resto de los tratamientos. Las muestras se deshidrataron con soluciones crecientes de etanol y se incrustaron en parafina. Las secciones histológicas se obtuvieron utilizando micrótopo preparado acorde al protocolo estándar, y luego se colorearon con la técnica de hematoxilina y eosina (H&E). Cada preparado fue examinado bajo microscopio (Olympus CX 33) conectado a una cámara de video (Tucsen ISH 500). Se contabilizó el total de los ovocitos de dos preparados por pez y se estableció la proporción de ovocitos vitelogénicos y previtelogénicos.

Posteriormente los ovocitos se fotografiaron (30 previtelogénicos y 30 vitelogénicos) y se midieron utilizando el programa ISCapture 3.7.5 según la fórmula:

$$\text{Diámetro del ovocito (mm)} = (\text{longitud del eje mayor} + \text{longitud del eje menor}) / 2$$

Los niveles de estradiol en plasma (E2) se determinaron mediante el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas o ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) basado en el principio de unión competitiva, utilizando kits comerciales y siguiendo el protocolo del fabricante (DRG International Inc., Mountainside, NJ, USA; E2: EIA-2693), previamente validado por Chalde *et al.*, (2016). Se corrió una curva estándar para cada placa de ELISA. El límite de detección más bajo fue 32,41 pg/ml para E2. La densidad óptica fue leída a 450 nm. El coeficiente de variación intraensayo fue <10%.

Además se calculó el índice de condición (Kn) de Le Cren (1951) $Kn = W/(W')$. El Kn, IGS y el diámetro de los ovocitos fueron testeados para evaluar el ajuste a una distribución normal y si presentaron homocedasticidad de las varianzas. Los resultados del IGS, diámetro medio del ovocito así como el índice de condición, analizados mediante métodos no paramétricos utilizando el test de Kruskal– Wallis seguido del procedimiento de múltiples comparaciones entre pares (método de Dunn). Se consideró un nivel de significancia de $p < 0,05$ para todos los procedimientos estadísticos.

IV.2.2. Experimento 2: Influencia del fotoperíodo y la temperatura

Se realizó un segundo experimento con el objetivo de evaluar los efectos de la temperatura y el fotoperíodo sobre el desarrollo gonadal. La experiencia se diseñó a partir de los resultados obtenidos en la primera etapa por lo cual se utilizaron los fotoperíodos que mostraron efectos sobre el desarrollo gonadal.

Se utilizaron tres tratamientos con tres réplicas cada uno: 12L: 12D y una temperatura fija de 20 °C (como control), fotoperíodo progresivo y temperatura progresiva, y el último tratamiento 24L: 0D y temperatura progresiva. El fotoperíodo progresivo fue de idénticas características al utilizado en el Experimento 1 y el régimen incremental de temperatura se estableció aumentando un grado centígrado cada 7 días partiendo de los 20°C hasta una temperatura final de 25°C. El experimento se llevó a cabo durante 45 días en el sistema de experimentación al cual se le añadió una cobertura aislante en los acuarios y en las cañerías con la finalidad de controlar adecuadamente la temperatura (ver Capítulo II). Los peces se alimentaron de manera manual con alimento comercial (Shulet®, Argentina) como se describe para el Experimento 1.

Esta experiencia se efectuó a partir de individuos colectados en arroyos naturales pertenecientes a la cuenca del río Salado cercanos a la localidad de Chascomús, provincia de Buenos Aires el 1° de abril de 2018. Se colectaron un total de

400 ejemplares adultos de *C. interruptus* (longitud estándar 3,96 +/- 0,12 cm; peso corporal (1,69 +/- 0,2 g). Del mismo modo que en el experimento anterior los peces se aclimataron durante tres semanas con un fotoperíodo de 12 horas diarias y los valores medios y la desviación estándar de los parámetros fisicoquímicos fueron para temperatura (20 °C ±1°C), oxígeno disuelto (7,6 ± 0,4 mg/L), conductividad (980 ± 81 µS/cm), pH (7,1 ±0,2). Los niveles de amonio (N–NH₄⁺) y nitrito (N–NO₂⁻) se mantuvieron < 0,1 mg/L y 0,1 - 0,4 mg/L, respectivamente.

Se estableció la condición gonadal al inicio del experimento a partir de 30 hembras del stock inicial. Al final del experimento, todos los peces se sacrificaron siguiendo el protocolo mencionado anteriormente, se contabilizaron para la estimación del porcentaje de supervivencia, se registró la longitud estándar y peso de todos los individuos, Kn e IGS. Para los análisis histológicos se utilizaron 5 hembras de cada tratamiento y de la condición inicial. De esta manera se estableció el total de los ovocitos, se midieron, y se determinó la proporción de ovocitos vitelogénicos y previtelogénicos. Se tomaron muestras de sangre para la cuantificación de estradiol (E₂). Para obtener la cantidad necesaria de plasma para los análisis se unificó el contenido obtenido de 15 - 20 hembras por réplica al igual que el experimento anterior.

Los resultados de Kn, IGS y diámetro medio de los ovocitos fueron evaluados en cuanto al ajuste a una distribución normal y homocedasticidad de varianzas. Luego se compararon por métodos no paramétricos utilizando el test de Kruskal– Wallis seguido del procedimiento de múltiples comparaciones entre pares (método de Dunn). Se consideró un nivel de significancia de p<0,05 para todos los procedimientos estadísticos.

IV.3. Resultados

En la Tabla IV.1 se presentan los resultados del primer experimento. El mayor valor medio de IGS (5,04) fue obtenido en el tratamiento de fotoperíodo progresivo seguido por el tratamiento 0L: 24D (3,27), mientras que el valor medio más bajo de IGS fue observado en 24L: 0D. El valor final de IGS observado en el tratamiento 12L: 12D resultó similar a la condición inicial.

Tabla IV.1. Promedio del Índice gonadosomático (IGS), desviación estándar. (DE), valores mínimos (Min) y máximos (Máx) de IGS de *C. interruptus*, antes y después de la exposición durante 45 días de experimento a diferentes tratamientos fotoperiódicos

Fotoperíodo (Luz: Oscuridad)	IGS	DE	Min.	Máx.
Inicial	2,15	0,9	0,46	4,2
Progresivo	5,04	2,8	1,89	16,4
12L: 12D	2,71	1,3	0,76	5,64
24L: 0D	1,61	0,5	0,71	3,46
0L: 24D	3,27	2,3	0,21	12,5

Se observaron diferencias significativas en el IGS de las hembras entre los tratamientos ($H = 136,244$, $p < 0,001$ y 3 grados de libertad). Los resultados de las comparaciones de a pares establecieron que todos los tratamientos difirieron significativamente ($p < 0,05$) excepto en el caso de 12L: 12D y 0L: 24D (Tabla IV.2).

Tabla IV. 2. Comparación múltiple de pares del IGS por el método de Dunn. (*): diferencias significativas ($p < 0,05$).

Comparación	Diferencia de rangos	Q	$P < 0,05$
Progresivo vs 24L-0D	171,557	11,65	*
Progresivo vs 12L-12D	81,639	5,478	*
Progresivo vs 0L-24D	80,121	5,409	*
0L: 24D vs 24L:0D	91,435	6,268	*
0L: 24D vs 12L: 12D	1,518	0,103	-
12L: 12D vs 24L: 0D	89,917	6,126	*

Los análisis histológicos (Tabla IV.3) mostraron diferencias significativas entre los tratamientos en el tamaño de los ovocitos ($H = 944,535$, $p < 0,001$ con 3 grados de libertad (Tabla IV.4) y la proporción de ovocitos previtelogénicos y vitelogénicos ($H = 36,55$, $p < 0,001$ con 3 grados de libertad (Tabla IV.5)

Tabla IV.3. Tamaño medio de los ovocitos (\bar{X}), desvío estándar (DE) y proporción de ovocitos previtelogénicos y vitelogénicos (%), antes y después de la exposición durante 45 días de experimento a diferentes fotoperíodos

	Previtelogénicos				Vitelogénicos			
	\bar{X} (mm)	DE	N	%	\bar{X} (mm)	DE	N	%
Inicial	0,07	0,01	1587	98,3	0,25	0,09	28	1,7
Progresivo	0,11	0,035	6014	74,6	0,44	0,09	2047	25,4
12:12	0,097	0,02	8386	97,9	0,41	0,09	180	2,1
24:0	0,078	0,02	10782	99,7	0,23	0,07	36	0,3
0:24	0,107	0,038	5495	86,4	0,41	0,09	862	13,6

Tabla IV.4. Comparación múltiple de pares del tamaño de los ovocitos por el método de Dunn.
(*): diferencias significativas ($p < 0,05$)

Comparación	Diferencia de rangos	Q	P<0,05
Progresivo vs 24L-0D	1315,606	26,179	*
Progresivo vs 12L-12D	508,263	10,667	*
Progresivo vs 0L-24D	99,312	2,289	-
0L: 24D vs 24L:0D	1216,293	22,68	*
0L: 24D vs 12L: 12D	408,951	7,988	*
12L: 12D vs 24L: 0D	807,342	14,131	*

Tabla IV.5. Comparación múltiple de pares de la proporción de ovocitos vitelogénicos/previtelogénicos por el método de Dunn. (*): diferencias significativas ($p < 0,05$)

Comparación	Diferencia de rangos	Q	P<0,05
Progresivo vs 24L-0D	29,46	5,328	*
Progresivo vs 12L-12D	25,124	4,412	*
Progresivo vs 0L-24D	9,278	1,678	-
0L: 24D vs 24L:0D	20,182	3,312	*
0L: 24D vs 12L: 12D	15,845	2,538	-
12L: 12D vs 24L: 0D	4,336	0,695	-

El fotoperíodo 24L: 0D presentó gónadas inmaduras en su totalidad con el menor tamaño de ovocitos y la mayor proporción de ovocitos previtelogénicos (Figura IV.2a). Bajo un fotoperíodo 12L: 12D, las hembras presentaron, en general, ovarios con poco desarrollo, predominando en los cortes histológicos ovocitos primarios (Figura IV.2b). El fotoperíodo 0L: 24D presentó un avance en el desarrollo gonadal de las hembras (Figura IV.2c) y presentaron una proporción intermedia de ovocitos vitelogénicos pero este tratamiento registró el mayor desvío estándar. En el fotoperíodo progresivo se observó el mayor desarrollo ovárico con predominancia de ovocitos secundarios, también se registró la mayor proporción de ovocitos vitelogénicos y el mayor tamaño de los mismos (Figura IV. 2d y 2e). Se debe señalar que la condición inicial de la gónada (Figura IV.2f) fue similar al registrado en el fotoperíodo 12L: 12D pero fue significativamente diferente de fotoperíodos 24L: 0D y el fotoperíodo progresivo.

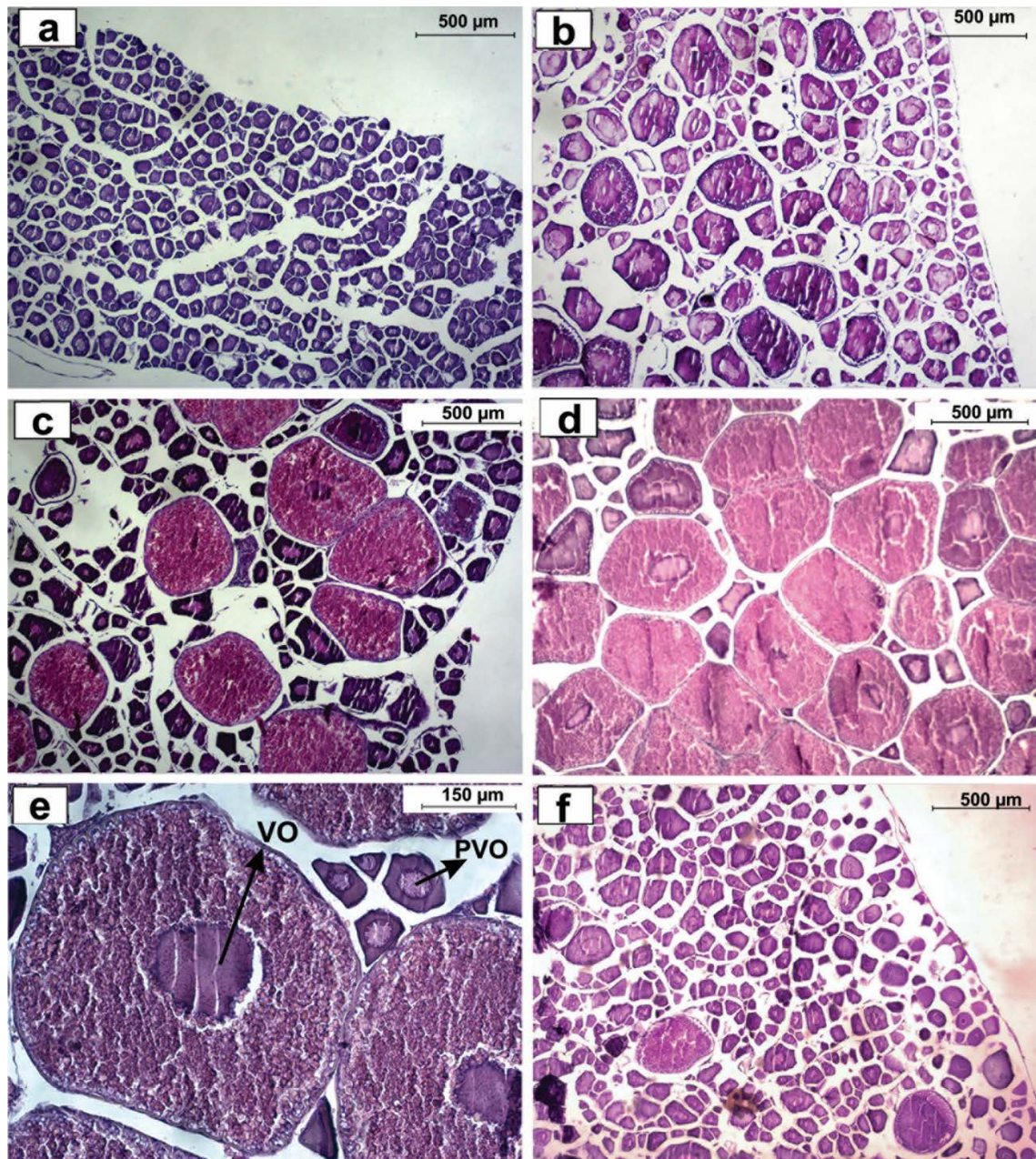


Figura IV.2. Histología del tejido ovárico de *C. interruptus* expuesto a diferentes fotoperíodos.

a. 24L: 0D. b. 12L: 12D. c. 0L: 24D. d. fotoperíodo progresivo. e. Mayor aumento del fotoperíodo progresivo mostrando ovocitos previtelogénicos (PVO) y ovocitos vitelogénicos (OV). f. condición inicial

Las concentraciones plasmáticas de E2 mostraron concordancia con la maduración ovárica registradas en los tratamientos. Por lo tanto, los valores más altos fueron observados en el fotoperíodo progresivo ($221 \pm 1,8$ pg/ml) seguido de 0L: 24D

(216,9 ± 13,5 pg/ml) y 12L: 12D (208,8 ± 7,5 pg/ml). El valor mínimo fue registrado en el tratamiento 24L: 0D (204,7 ± 6,9 pg/ml). Las diferencias en los valores medios entre los tratamientos no presentaron diferencias significativas (P = 0,155).

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en términos de índice de condición ($p < 0,001$) observándose los mayores valores en los tratamientos 24L: 0D y progresivo. También se observaron diferencias significativas ($p < 0,001$) en la longitud estándar (este último punto se discute en el capítulo V crecimiento). No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de supervivencia de peces expuestos a diferentes tratamientos (Tabla IV.4).

Tabla IV.6. Valores medios y desvío estándar de longitud estándar, peso, factor de condición (Kn) y supervivencia porcentual de *C. interruptus*, antes y después de la exposición durante 45 días de experimento a diferentes fotoperíodos.

	Longitud (cm)	Peso (g)	Kn	%
Inicial	3,68± 0,24	1,24± 0,37	0,96± 0,13	
Progresivo	3,86± 0,22	1,6± 0,34	1,06± 0,12	97±3,33
12L:12D	3,77± 0,22	1,28± 0,28	0,92± 0,07	99±1,92
24L:0D	3,95± 0,16	1,72± 0,22	1,07± 0,12	93±0
0L:24D	3,84± 0,26	1,43± 0,33	0,97± 0,1	97±3,33

En el experimento 2 se registró el mayor valor medio de IGS (6,07) en el tratamiento de fotoperíodo y temperatura progresiva seguido por el tratamiento 12L: 12D (3,3), mientras que el valor medio más bajo fue observado en 24L: 0D y temperatura progresiva (2,65). Este último valor resultó inferior que el registrado en el inicio del experimento (3,44). En la tabla IV.5 se presentan los resultados de la segunda experiencia.

Tabla IV.7. IGS promedio, desviación estándar (DE), valores mínimos (Min) y máximos (Máx) de IGS de *C. interruptus*, antes y después de la exposición durante 45 días de experimento a diferentes fotoperíodos y temperaturas (T).

Fotoperíodo (Luz: Oscuridad)	IGS	DE	Min.	Máx.
Inicial	3,44	1,3	1,12	7,6
Fotoperíodo y temperatura Progresiva	6,07	2,63	1,93	13,68
12L:12D - T20°C	3,3	1,7	1,16	8,35
24L: 0D - T progresiva	2,65	1,34	0,99	6,6

Al igual que en el primer experimento se observaron diferencias significativas en el IGS entre tratamientos ($p<0,001$). El test a posteriori de Dunn mostró diferencias significativas ($p<0,05$) entre todas las combinaciones pares posibles (Tabla IV.6).

Tabla IV.8. Comparación múltiple de pares por el método de Dunn. (*): diferencias significativas ($p<0,05$) en el IGS.

Comparación pares	Diferencias en rangos	Q	P<0,05
Progresivo vs 24L: 0D	113,338	9,745	*
progresivo vs 12L: 12D	83,694	7,196	*
12L: 12D vs 24L: 12D	29,644	2,556	*

Se registraron diferencias significativas entre los tratamientos en el tamaño de ovocitos y la proporción de ovocitos previtelogénicos y vitelogénicos ($p<0,001$) (Tabla IV.7).

Tabla IV.9. Tamaño medio de los ovocitos (\bar{X}), desvío estándar (DE) y proporción de ovocitos vitelogénicos y previtelogénicos (%), antes y después de la exposición a diferentes fotoperíodos y temperaturas, durante 45 días de experimento

	Previtelogénicos				Vitelogénicos			
	\bar{X} (mm)	DE	N	%	\bar{X} (mm)	DE	N	%
Inicial	0,101	0,024	2211	96,13	0,372	0,11	89	3,86
Fotoperíodo y temperatura	0,112	0,033	1133	70,98	0,474	0,074	463	29,02
Progresiva								
12L:12D – T 20°C	0,099	0,02	1581	93,82	0,31	0,1	104	6,18
24L: 0D -T progresiva	0,087	0,019	2940	99,02	0,215	0,034	29	0,98

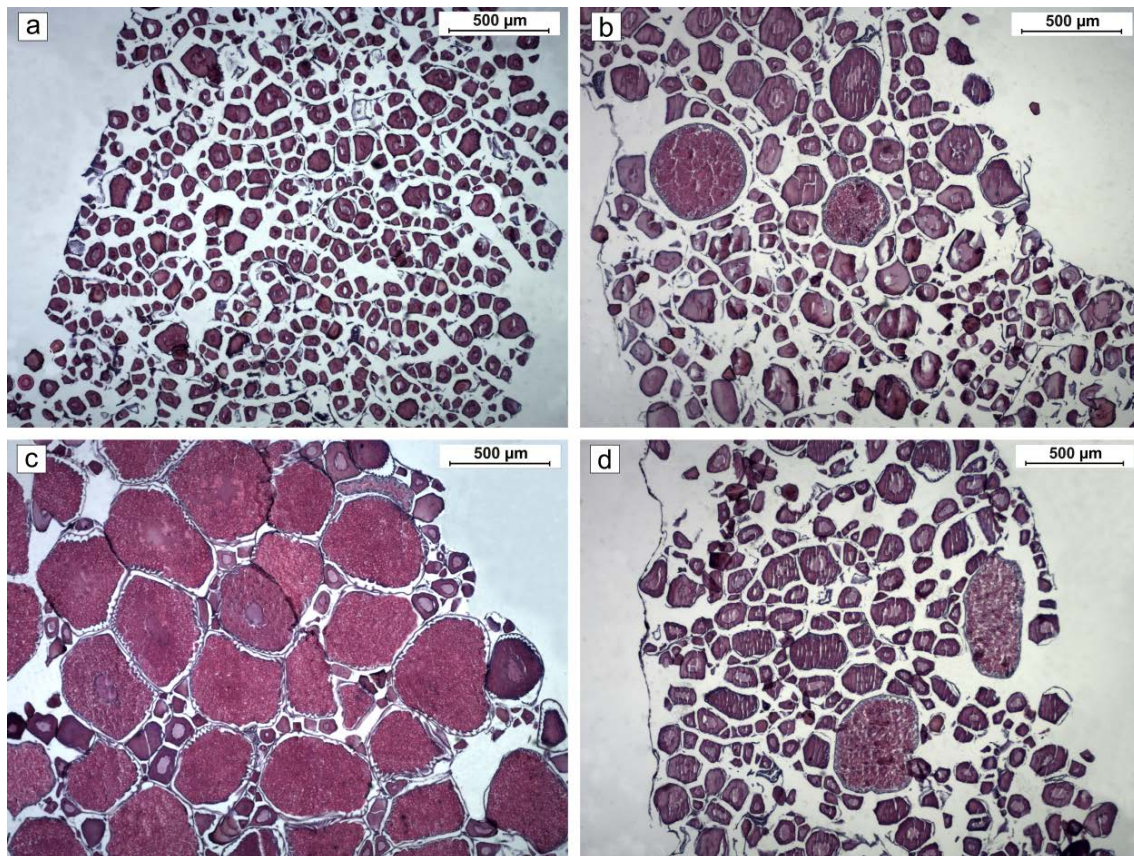


Figura IV.3. Histología del tejido ovárico de *C. interruptus* expuesto a diferentes tratamientos.

a. 24L: 0D y temperatura progresiva. b. 12L: 12D y 20°C. c. fotoperíodo y temperatura progresiva. d. condición inicial

Con respecto a los niveles de E2 en plasma sanguíneo medidos se obtuvieron los valores más altos en el tratamiento de temperatura y fotoperíodo progresivos ($296,9 \pm 21,8$ pg/ml) seguido del tratamiento 12L: 12D ($220,5 \pm 9,7$ pg/ml). El valor mínimo fue

registrado en el tratamiento 24L: 0D y temperatura progresiva ($201,9 \pm 3,68$ pg/ml). Los valores medios entre los tratamiento presentaron diferencias significativas ($P = 0,001$).

Tabla xxx. Comparación múltiple de a pares (Holm-Sidak) diferencias significativas ($p < 0,05$) en la concentración plasmática de estradiol (E2)

Comparación	Diferencia de medias	t	P	P<0,050
Progresivo vs. 24-0 T° prog	95	8,546	<0,001	si
Progresivo vs. 12-12	76,367	6,87	<0,001	si
12-12 vs. 24-0 T° progresiva	18,633	1,676	0,145	No

Se observaron diferencias significativas entre los tratamientos en el índice de condición ($p < 0,001$). El mayor valor se obtuvo en el tratamiento progresivo seguido por 24L: 0D y el valor más bajo se observó en el tratamiento 12L: 12D. También se observaron diferencias significativas ($p < 0,001$) en la longitud estándar final (discutido en el capítulo V crecimiento). No hubo diferencias significativas en el porcentaje de supervivencia de peces expuestos a diferentes tratamientos (Tabla IV.8).

Tabla IV.10. Valores medios y desvío estándar de longitud estándar, peso, factor de condición (Kn) y supervivencia porcentual de *C. interruptus*, antes y después de la exposición durante 45 días de experimento a diferentes fotoperíodos y temperatura.

	Longitud (cm)	Peso (g)	Kn	(%)
Inicial	$3,96 \pm 0,12$	$1,69 \pm 0,15$	$1,02 \pm 0,05$	
Fotoperíodo y temperatura Progresiva	$3,42 \pm 0,15$	$2,39 \pm 0,18$	$1,08 \pm 0,06$	100 ± 0
12L:12D - T° 20°C	$4,18 \pm 0,13$	$1,86 \pm 0,17$	$1,01 \pm 0,06$	100 ± 0
24L: 0D - T° progresiva	$4,5 \pm 0,13$	$2,38 \pm 0,23$	$1,07 \pm 0,12$	$97 \pm 3,35$

IV.4. Discusión

Este estudio representa el primer intento de evaluación de la respuesta a la manipulación gonadal en *C. interruptus* por exposición a diferentes regímenes de fotoperíodos y temperatura y también es uno de los pocos estudios que se han llevado a cabo en Characiformes.

Los resultados en el primer experimento no sólo indicaron que los tratamientos fotoperiódicos pueden afectar el desarrollo de los ovarios sino también diferentes respuestas en los parámetros reproductivos evaluados, de acuerdo al tratamiento. La exposición de *C. interruptus* a iluminación permanente (24L: 0D), evidenció una disminución generalizada de los valores de IGS y de la proporción de ovocitos vitelogénicos, alcanzando los valores más bajos con la menor dispersión de todo el experimento. Ambos resultados indican que los ovarios experimentaron una regresión al compararlos con los valores iniciales. En este tratamiento fotoperiódico se determinaron los menores valores de estradiol plasmático, indicando que la iluminación permanente afecta la segregación de hormonas sexuales generando efectos inhibitorios en la vitelogénesis.

Estos resultados son consistentes con lo observado en otras especies (Jourdan *et al.*, 2000, Hansen *et al.*, 2001, Rad *et al.*, 2006, Taranger *et al.*, 2006), donde la ausencia de oscuridad presentó un efecto inhibitorio generalizado en las funciones reproductivas. En cambio, el tratamiento 12L: 12D no indujo ningún cambio en el IGS, diámetro medio de los ovocitos ni la proporción de ovocitos vitelogénico/ previtelogénico en comparación con el estado inicial, y el nivel de E2 fue intermedio. Los resultados obtenidos son opuestos a los documentados para el cíclido *Oreochromis niloticus* (L.), donde bajo un fotoperíodo 12L: 12D la especie presentó una actividad reproductiva permanente (Biswas *et al.*, 2005).

En el caso de la oscuridad total (0L: 24D) se observó una respuesta difusa en términos de cambio de IGS. El tratamiento mostró el mayor rango de variación de los valores, desde valores cercanos al mínimo hasta cercanos a los máximos registrados en todo el experimento. Los resultados histológicos y los niveles de estradiol fueron acordes a los resultados de IGS mostrando mayores variaciones en las proporciones de ovocitos vitelogénicos/previtelogénicos entre los individuos. La respuesta errática individual a la oscuridad total en *C. interruptus* puede ser interpretada como un indicador de que el régimen lumínico asume un rol importante en la regulación de la fisiología reproductiva de la especie. Estas observaciones pueden ser consideradas un rasgo particular de la biología reproductiva de *C. interruptus* ya que se ha probado que, en otras especies, la oscuridad total produce efectos de retraso en la maduración ovárica (Zhu *et al.*, 2014).

Los resultados del tratamiento progresivo afirman la idea de que el control del fotoperíodo puede promover cambios en relación a la maduración ovárica en *C. interruptus* debido a que en esta situación se registraron los valores más altos de IGS

en comparación con el resto de los tratamientos. Se suma a lo expuesto que los análisis histológicos en las hembras revelaron que el diámetro medio de los ovocitos y la proporción vitelogénicos/previtelogénicos fueron mayores en peces criados bajo este tratamiento. Los valores observados en el tratamiento de fotoperíodo progresivo muestran coincidencia con los resultados reportados para otras especies de peces de climas templados donde la compresión de la transición natural del fotoperíodo de invierno a primavera fue utilizado para modificar el desarrollo gonadal en *Gadus morhua* (Norberg *et al.*, 1995), *Oncorhynchus mykiss* (Bon *et al.*, 1999) y *Latris lineata* (Morehead *et al.*, 2000). Estos resultados sugieren y refuerzan la idea de que incrementos progresivos diarios en la longitud del día son necesarios para inducir un incremento significativo del peso gonadal en *C. interruptus* por el proceso de vitelogénesis. De acuerdo a lo precedente, los niveles de hormona esteroidea fueron máximos en este tratamiento, reflejando que los valores de E2 estuvieron relacionados a la respuesta gonadal en cada tratamiento. De hecho, el tratamiento progresivo estimula la maduración gonadal, por el incremento en la masa ovárica debido al ingreso de vitelogenina a los ovocitos en respuesta al incremento de niveles plasmáticos de E2 (Lubzens *et al.*, 2010; Elisio *et al.*, 2014). Así, la compresión de los incrementos progresivos diarios observados en el ambiente desde el invierno a la primavera tuvieron una influencia relevante en la maduración ovárica y, por lo tanto, el régimen lumínico es un direccionador ambiental de la maduración gonadal y la reproducción de *C. interruptus*.

En el segundo experimento donde se combinó el fotoperíodo y la temperatura se observaron resultados consistentes con el experimento anterior. El tratamiento de fotoperíodo 12L: 12D y temperatura de 20°C al igual que en el primer experimento no mostró cambios en los tejidos gonadales, esto es indicativo que el mismo tuvo un efecto neutral en las funciones reproductivas para la especie, o al menos este régimen de iluminación no es apropiado para inhibir o activar la maduración ovárica.

El tratamiento 24L: 0D y temperatura progresiva mostró el menor desarrollo en el ovario entre todos los tratamientos. El valor medio de IGS alcanzado por este tratamiento con respecto al mismo fotoperíodo, sin la manipulación de la temperatura del experimento anterior, fue más alto pero se advierte un retroceso en los valores de IGS con respecto a la condición inicial. Por lo tanto se reafirma que la luz continua es un inhibidor del desarrollo ovárico en *C. interruptus*.

El tratamiento de fotoperíodo y temperatura progresiva alcanzó el valor máximo de IGS representando un avance en el desarrollo gonadal cercano al 20% con respecto

al alcanzado en el tratamiento de fotoperíodo progresivo sin incremento de temperatura del experimento anterior. Esto sugiere que la temperatura tiene una influencia en el desarrollo ovárico en *C. interruptus* acelerando los procesos de cambio generados por el fotoperíodo, ya que se obtuvo una mayor maduración en el mismo intervalo de tiempo. Lo observado está en concordancia con lo expresado por otros autores que sostienen que la temperatura es un factor de control de la velocidad, mientras que el fotoperíodo es considerado como un factor directivo (Brett, 1979) y un modulador primario de la maduración al momento de jerarquizar las variables evaluadas en función de los resultados.

Aunque el tratamiento progresivo promovió la maduración ovárica, es importante notar que los valores alcanzados de IGS fueron alrededor del 50 % (en el primer experimento) y del 60% en el segundo con respecto a los observados en *C. interruptus* silvestres justo antes del desove por Ferriz *et al.* (2011). Esto sugiere que, probablemente, la compresión de la transición fotoperiódica e incremento de temperatura observada en invierno-primavera en 45 días de experimento no fue suficiente tiempo para completar la maduración de los ovarios, pero permitió confirmar que este tratamiento es adecuado para activar y sostener esta maduración.

Si los resultados de los tratamientos progresivos y 24L: 0D son analizados en términos del direccionamiento de la energía, toman sentido debido a que ambos tratamientos mostraron los mayores valores medios en el índice de condición, sugiriendo un uso eficiente y direccionado del alimento ofrecido. En términos simples, la iluminación progresiva promovió el desarrollo gonadal, mientras que la iluminación permanente estimuló el crecimiento somático. Estas respuestas de *C. interruptus* aparentan ser características específicas de sus rasgos de vida.

De acuerdo a los resultados de este estudio, el régimen fotoperiódico y la temperatura deberían ser considerados como herramientas de manejo relevante en el desarrollo de técnicas de cultivo para la especie. En este sentido, el tratamiento progresivo puede ser utilizado para inducir cambios celulares en los ovarios hacia el desarrollo gonadal para acelerar ciclos reproductivos o sincronizar la producción de gametas. La iluminación permanente tiene el potencial de ser utilizada no sólo para inhibir la reproducción sino para estimular un uso eficiente de la energía provista por el alimento. Finalmente, el tratamiento 12L: 12D puede ser considerado como un fotoperíodo adecuado para aclimatar o mantener peces minimizando los cambios en sus condiciones reproductivas.

Estas aplicaciones potenciales de los resultados de este trabajo representan la primera contribución para entender la biología de la especie enfocada en el desarrollo de alternativas de manejo, para reducir el impacto ambiental actualmente causado por la colecta en las poblaciones naturales.

Capítulo V: Crecimiento

V.1. Introducción

El crecimiento de un organismo implica un cambio de tamaño en el tiempo debido al aumento en número y tamaño celular. El crecimiento individual en peces está enraizado en procesos fisiológicos y es el resultado neto de dos procedimientos opuestos, el catabolismo y el anabolismo (von Bertalanffy, 1938).

Los peces presentan características propias de crecimiento de las cuales se destaca su extrema plasticidad ya que son capaces de modificar sus tasas de crecimiento, respondiendo a cambios de diversas variables como la provisión de alimento, la densidad poblacional o cambios en el ambiente (Weatherley & Gill, 1987). En consecuencia, a diferencia de aves y mamíferos, el tamaño corporal no tiene una relación estricta con la edad ni tampoco posee un máximo definido. El crecimiento en peces varía en las distintas etapas de su vida, debido a crisis o discontinuidad en desarrollo, madurez, cambios en el comportamiento o cambios en el hábitat (Ricker, 1975). Es así que se pueden observar gradientes en las tasas de crecimiento entre poblaciones en función de las condiciones ambientales (Conover *et al.*, 1990). Muchas especies crecen a distintos ritmos en función del fotoperíodo (Huh *et al.*, 1976) modificando indirectamente el crecimiento al aumentar la ingesta de alimentos o la masa muscular por el incremento de actividad. La temperatura tiene un rol importante en el crecimiento y muchos autores han observado en varias especies un aumento del crecimiento a temperaturas mayores (Handeland *et al.*, 2008; Sun & Chen, 2014; Kumar *et al.*, 2016). En el ambiente natural generalmente el fotoperíodo y la temperatura cambian concomitantemente lo que puede producir efectos sinérgicos en el crecimiento (Boeuf & Le Bail, 1999).

El conocimiento y manipulación de estos factores tiene la potencialidad de generar herramientas en acuicultura para maximizar el crecimiento individual como se observa en la producción de muchas especies de importancia económica (Hart *et al.*, 1996, Jonassen *et al.*, 2001; Døskeland *et al.*, 2016). Este es un tema ampliamente tratado por ecólogos, biólogos pesqueros y acuicultores debido a que tiene implicancia en la dinámica de las poblaciones por estar estrechamente vinculado a rasgos como la fecundidad, edad de primera madurez, producción de biomasa, competencia intraespecífica, entre otros.

Las variables utilizadas para medir crecimiento pueden ser la cantidad de células, el contenido proteico, la longitud y el peso, siendo las últimas dos las más frecuentes. En emprendimientos acuícolas, manejo de pesquerías, estudios poblacionales e incluso ecotoxicología es valioso conocer cómo cambia el tamaño de los peces desde su nacimiento en función del tiempo y de ser posible obtener una expresión matemática del crecimiento corporal individual medio, relacionando el tamaño de la especie con su edad. En pesquerías se utilizan las predicciones de crecimiento individual para evaluar stocks pesqueros (Methot & Wetzel, 2013) e identificar diferencias entre poblaciones de peces silvestres (Sánchez-Hernández *et al.*, 2015). Por lo tanto, estos estudios resultan necesarios para describir el desarrollo de una o varias poblaciones y la interacción con el medio ambiente (Gamito, 1998). En ecotoxicología se analiza el crecimiento en experiencias o experimentos de exposición prolongada a concentraciones no letales de diferentes compuestos xenobióticos, debido a que puede ser indicador de un redireccionamiento de la energía desde el crecimiento hacia la homeostasis (Hashemi *et al.*, 2008a). En acuicultura la utilización de modelos de crecimiento individual proporciona información de fondo confiable y como base para la toma de decisiones de gestión en los sistemas de producción (Lugert *et al.*, 2016). Dichos modelos matemáticos han demostrado una gran idoneidad para los datos recopilados y son señalados como indispensables para estimar el crecimiento el cual representa uno de los principales intereses en la producción animal (Dumas *et al.*, 2010).

Para realizar estudios de crecimiento es necesario poner a prueba más de un modelo de crecimiento y evidenciar el que mejor describe los datos observados (Burnham & Anderson, 2002). Si el objetivo es expresar las características de crecimiento de una especie en términos cuantitativos, es imprudente y puede ser contraproducente basarse un único modelo (Cailliet *et al.*, 2006). Estas herramientas posibilitan al acuicultor el acceso a información precisa sobre el momento óptimo para cosechar y vender los peces con respecto a la maximización de los beneficios sin desperdiciar recursos (por ejemplo espacio y alimento). Para fines de cría, es crucial conocer el tiempo que se necesita para llegar a la talla de venta y los límites del mismo en distintos sistemas de cultivo.

En otros países de Sudamérica se ha reportado un buen desempeño zootécnico en especies de pequeños carácidos tales como *Astyanax bimaculatus*, *Astyanax scabripinnis* (Antunes, 2013), *Astyanax altiparanae* (Costa, 2011) comúnmente apreciados, al igual que *C. interruptus*, como carnada viva. El tiempo de crecimiento

estimado para que *A. altiparanae* alcance la talla de venta se calcula entre 90 y 120 días con la posibilidad de realizar 3 o 4 ciclos reproductivos al año (Porto-Foresti, 2005).

Hasta el momento existe un solo antecedente que trata el crecimiento individual de *C. interruptus* en el ambiente natural (Sendra & Freyre, 1981a). Estos autores comprobaron que las hembras tienen un crecimiento absoluto mayor que los machos, sin embargo los coeficientes instantáneos de crecimiento son mayores en los machos.

En este capítulo trata acerca del crecimiento individual de *C. interruptus* que es uno de los aspectos más relevantes para la comprensión de la ecología y el cultivo de esta especie. Se calculan los principales estimadores de crecimiento instantáneos en diferentes sistemas de cultivo. Se evalúan diferentes modelos matemáticos para definir cuál es el que describe mejor la dinámica del crecimiento individual de la especie bajo distintas condiciones de cultivo. Se analiza el rol del fotoperíodo y la temperatura en el crecimiento. Se comparan los resultados alcanzados entre sistemas de cultivo y con los datos de poblaciones naturales disponibles en la literatura. Finalmente, se discuten las implicancias de los resultados obtenidos en el desarrollo acuícola de la especie.

V.2. Materiales y métodos

Se estudió el crecimiento individual en dos sistemas de cultivo con diferentes niveles de control de las condiciones ambientales y densidades de peces: acuarios y estanques (Ver capítulo II).

Acuarios

En este experimento se utilizaron juveniles tempranos de *C. interruptus* capturados en lagunas de desborde el 5 de Noviembre de 2015 en la zona de Punta Indio (39°19'58'' S; 57°11'45'' W). Se aclimataron durante una semana en dos tanques de 200 L. Pasado el tiempo de aclimatación se sacrificaron 30 peces con una solución de benzocaína en exceso, que se midieron y pesaron estableciendo las condiciones iniciales de la experiencia. Los peces tenían una longitud estándar promedio de 1,35 cm ($\pm 0,09$) y un peso medio de 0,04 g ($\pm 0,01$). Se utilizaron tres acuarios de 100 L de capacidad donde se colocaron 100 juveniles en cada uno. La experiencia se extendió por 274 días.

Los peces se alimentaron manualmente con alimento comercial triturado (Shulet®, Argentina). El alimento ingerido por los peces se modificó en el transcurso del experimento desde un 5% del peso corporal promedio por individuo al comienzo hasta

el 1% en los dos últimos meses de cultivo. La cantidad de alimento ofrecido fue cuantificado. Los parámetros del agua se midieron semanalmente y se mantuvieron en los siguientes valores: temperatura: 20 ± 1 °C; pH: $7 \pm 0,2$; conductividad: 738 ± 56 $\mu\text{S/cm}$. O₂ disuelto= $7,2 \pm 0,9$ mg/L) y fotoperíodo natural.

Se muestrearon los peces con una periodicidad mensual. Al azar se tomaron 30 peces de cada acuario a los cuales se los anestesió individualmente con benzocaína previamente disuelta en etanol 96% y en una concentración de 50 ppm. Para cada ejemplar se registró el peso con una balanza analítica de precisión 0,0001 g y la longitud estándar con una presión de 0,02 mm. La medición de la talla se realizó a partir de fotografías de los peces tomadas junto a una escala y procesadas mediante el programa IMAGE J. Los individuos se sexaron a partir del momento en que expresaron los caracteres sexuales secundarios.

Estanques

En esta experiencia se utilizaron juveniles obtenidos en cautiverio el 15/10/2016 mediante el sistema de desove en estanques (ver Capítulo III) descendientes de una población silvestre y proveniente de un único evento reproductivo. Se colocaron 500 peces en cada uno de los dos estanques de 4000 L. de capacidad. Las medidas iniciales de los peces utilizados se tomaron igual que en la experiencia en acuarios. La longitud estándar y el peso promedio fueron 1,077 cm ($\pm 0,05$) y 0,0228 g ($\pm 0,003$), respectivamente. La experiencia se extendió durante 246 días.

De igual manera que en la experiencia en acuarios se midieron los parámetros físico-químicos una vez por semana (pH= $6,9 \pm 0,9$; conductividad = $400 \mu\text{S/cm} \pm 150$; O₂ disuelto= $8,3 \text{ mg/L} \pm 1,42$). El fotoperíodo y la temperatura fueron los ambientales. Los peces se alimentaron una vez por día *ad-libitum*, siete días a la semana con alimento comercial triturado (Shulet®, Argentina). Se los protegió de eventos de depredación por parte de las aves con una red. Se realizaron muestreos de los peces con una periodicidad aproximada de 30 días. Las mediciones de talla y peso se realizaron mediante el mismo procedimiento que en las experiencias en acuarios.

V.2.1. Estimadores de crecimiento instantáneo y prácticas de cultivo

Con los datos obtenidos en cada experiencia de cultivo se calcularon los estimadores de crecimiento que se especifican a continuación utilizando las siguientes expresiones:

Tasa específica de crecimiento en longitud (SgrL)

$$SgrL = 100 \left[\frac{(\ln LstF - \ln LstI)}{T} \right]$$

Donde, LstI es el promedio de longitud estándar inicial y LstF es el promedio de longitud estándar final ambas expresadas en cm y T es el tiempo expresado en días de experiencia.

Tasa específica de crecimiento en peso (SgrW)

$$SgrW = 100 \left[\frac{(\ln WF - \ln WI)}{T} \right]$$

Donde, WI es el promedio de longitud estándar inicial y WF es el promedio de longitud estándar final expresados en g y T es el tiempo expresado en días.

Peso ganado porcentual

$$Peso\ ganado\ (\%) = 100 \left[\frac{(FW - IW)}{IW} \right]$$

Donde: IW= peso inicial y FW= peso final ambos expresados en g.

Eficiencia de conversión de alimento (FCE)

$$FCE\ (\%) = 100 \left(\frac{peso\ ganado}{peso\ seco\ suministrado} \right)$$

Índice de condición relativo (Kn) de Le Cren (1951)

$$Kn = \frac{W}{W'}$$

Donde W es el peso observado de cada individuo y W' es el peso medio esperado de acuerdo a la relación longitud estándar – peso de la población involucrada en la experiencia.

Tasa de supervivencia (%)

$$Tasa\ de\ supervivencia\ (\%) = - \left(\frac{(NF - NI) * 100}{NI} \right)$$

Donde NF es el número final y NI es el número inicial de peces en la experiencia.

V.2.2. Evaluación de modelos y ajuste de curvas de crecimiento

Las curvas de crecimiento se estimaron a partir de los modelos matemáticos de mayor aplicación en acuicultura y pesquerías. Para cada modelo se calcularon los intervalos de confianza del 95% (límites dentro de los cuales se ubicarían el 95% de las curvas ajustadas si se efectuasen sucesivos muestreos iguales) y sus intervalos de predicción del 95% (límites dentro de los cuales se ubicarían el 95% de los datos si se efectuasen sucesivos muestreos iguales).

Modelo de von Bertalanffy MCVB (1938)

Conociendo las tallas individuales correspondientes a cada fecha de muestreo se procedió a ajustar un MCVB. Este modelo es el más usado en pesquerías (Arkhipkin & Roa-Ureta, 2005) y asume que las condiciones ambientales son constantes (Araya & Cubillos, 2006). La curva del modelo presenta una forma exponencial inversa, es de tipo asintótica y tiene tres parámetros en su ecuación:

$$L_t = L_{\infty} [1 - e^{-k(T-T_0)}]$$

Donde L_t es la talla a un determinado tiempo (t), L_{∞} es la longitud máxima asintótica, k es la constante de crecimiento, T_0 es la edad de los peces cuando, hipotéticamente, tienen “longitud cero”.

Modelo de crecimiento de Gompertz (1825)

El modelo de Gompertz ha demostrado que describe mejor el crecimiento absoluto de muchas especies acuáticas (Katsanevakis, 2006) y es utilizado muy menudo (Ricker, 1975). En pesquerías este modelo ha sido utilizado para referir el crecimiento tanto en longitud como en peso particularmente en larvas, ya que describe mejor que otros modelos las primeras etapas de crecimiento. Presenta una curva asintótica y asimétrica asumiendo un decremento exponencial de la tasa de crecimiento con relación a la edad (Katsanevakis & Maravelias, 2008). La curva generada por este modelo no es simétrica. El modelo es de tipo asintótico y presenta tres parámetros en su ecuación:

$$L_t = L_{\infty} e^{-e^{-k(T-T_0)}}$$

Donde L_t es la talla a un determinado tiempo (t), L_{∞} es la longitud máxima asintótica, k es la tasa de crecimiento instantáneo y T_0 es el tiempo teórico en que la tasa de crecimiento absoluta comienza a disminuir.

Modelo crecimiento Logístico (Ricker, 1975)

El modelo Logístico, al igual que el de Gompertz, es representado por una curva sigmoidea de tipo asintótica y cuenta con un punto de inflexión. Presenta una curva simétrica y tres parámetros en su ecuación:

$$L_t = \frac{L_{\infty}}{1 + e^{-k(T-T_0)}}$$

Donde L_t es la talla a un determinado tiempo (t), L_{∞} es la longitud máxima asintótica, k es la constante de crecimiento y T_0 es el tiempo en que la tasa absoluta de crecimiento comienza a disminuir.

Modelo crecimiento de Schnute (1981)

Presenta una curva versátil de forma sigmoidea y asimétrica que permite hacer comparaciones de funciones de crecimiento, en las que se puede mostrar un crecimiento de tipo asintótico y no asintótico dependiendo del valor de los parámetros (Montgomery *et al.*, 2010). La ecuación se describe de la siguiente manera:

$$L_t = [Y_1^b + (Y_2^b - Y_1^b) \frac{1 - e^{-a(t-T_1)}}{1 - e^{-a(T_2-T_1)}}]^{1/b}$$

Donde L_t es la talla a un determinado tiempo (t), T_1 es la edad más pequeña en los datos, T_2 es la edad más grande en los datos, a es la tasa relativa de crecimiento (equivalente a k en los modelos Bertalanffy, Gompertz y Logístico), b es un incremento relativo en la tasa de crecimiento (incremento constante en tiempo); Y_1 es la talla a la edad T_1 , Y_2 es la talla a la edad T_2 . Los parámetros a estimar en el modelo son a , b , Y_1 e Y_2 .

Los parámetros de cada uno de los cuatro modelos utilizados fueron estimados a través de la minimización del estimador Suma de Residuales Cuadrados (Src), asumiendo un error de tipo aditivo y siguiendo el algoritmo de Newton (Neter *et al.*, 1996). El procedimiento hace un nuevo cálculo de valores, tanto del criterio de ajuste como de parámetros en los modelos. Esto se realiza por medio de interacciones y aproximaciones sucesivas entre los valores observados y teóricos hasta encontrar el mejor ajuste (solver; Excel-Microsoft Office ®). El valor del criterio de ajuste Src fue obtenido con la suma de las diferencias cuadráticas de los valores observados y los valores teóricos de cada modelo con el uso de la siguiente ecuación:

$$Src = \sum_{i=1}^n (Lti_{obs} - Lti_{cal})^2$$

Donde Src es la suma de residuales cuadrados; Lti_{obs} es la longitud estándar al tiempo i ; Lti_{calc} es la longitud estándar al tiempo i calculada.

Para la evaluación del crecimiento individual de *C. interruptus* se realizó una inferencia multimodelo a partir de los valores de tiempo y tallas observadas en los diferentes sistemas de cultivo.

La fecha de nacimiento de los peces utilizados en las experiencias se estimó sobre la base del modelo MCVB cuya fórmula contempla un valor en el tiempo en el cual los peces hipotéticamente miden 0 cm. Se calculó el tiempo transcurrido entre el momento de la primera talla medida y la talla de nacimiento, corriendo el MCVB ajustado. Las medidas del crecimiento deben referirse a un intervalo definido de tiempo que puede expresarse en días, meses o años según la biología de la especie estudiada.

Cheirodon interruptus tiene un crecimiento rápido por lo cual la medida de tiempo elegida fue en días.

Criterio de selección de Modelos:

Para determinar el modelo que mejor se ajusta a los datos, se utilizaron tres criterios diferentes (Urban, 2002):

(1) suma de los residuos al cuadrado (Src), considerándose más adecuado aquel cuya suma resulta menor.

$$Src = \sum_{i=1}^n (Longitud\ observada - Longitud\ esperada)^2$$

(2) Desviación diaria promedio (DD) entre el peso final estimado (WF) y el peso final observado (WO) considerándose más adecuado aquel cuya suma resulta menor.

$$DD = \sum_{i=1}^n \left| \frac{WO - WF}{Días} \right|$$

(3) criterio del índice Akaike (AIC) (1973). Este criterio contempla los valores de la sumatoria de residuos cuadrados (Src), el número de parámetros de cada modelo (k), y el número de muestras (n). Penaliza la cantidad de parámetros de cada modelo, basándose en el principio de parsimonia. En consecuencia, se esperaría un mejor ajuste del modelo a los datos, en la medida que aumenta el número de parámetros. El AIC equilibra adecuadamente estos dos componentes, y su resultado final es un criterio cuantitativo para la selección de modelos.

$$AIC = n \left(\log \left(2\pi \frac{Src}{n} \right) + 1 \right) + 2k$$

$$\Delta i = AIC - AIC_{min}$$

Donde AIC_{min} es el menor valor AIC dentro del conjunto de modelos candidatos.

Si el valor de Δi en el modelo es superior a 10, éste no está apoyado por los datos y no se debe considerar para la selección del mejor modelo. Si el valor de Δi está

entre 4 y 7, se sostiene que el modelo está apoyado moderadamente por los datos, mientras que si Δi presenta valores menores de 2, el modelo está fuertemente respaldado por los datos (Burnham & Anderson, 2002).

V.2.3. Comparación entre sistemas de cultivo

Se realizaron comparaciones entre los sistemas de cultivo de acuarios y estanques a partir de los resultados obtenidos de los estimadores de crecimiento instantáneo (SgrL y SgrW) mediante un test de t (Student) para todo el periodo de estudio. Adicionalmente se testeó el efecto del tiempo (días de vida) de los sistemas de cultivo, y de la interacción entre ambos, sobre el crecimiento en longitud de los individuos cultivados mediante RM ANOVA (ANOVA de una vía, para medidas repetidas) seguido del test “post hoc” de Bonferroni, para evaluar las diferencias del crecimiento por edad entre sistemas.

Asimismo se compararon los modelos de crecimiento individual en talla de von Bertalanffy generados para ambos sistemas de cultivo mediante el método desarrollado por Aubone & Wöhler (2000) basado en la teoría de estimación de parámetros por el método de máxima verosimilitud.

V.2.4. Efecto del fotoperíodo sobre el crecimiento

Se analizó el crecimiento en longitud de los peces involucrados en los experimentos descritos en el capítulo IV. En el primer experimento se utilizaron cuatro fotoperíodos (Luz: oscuridad, L: D): 24L: 0D; 12L: 12D; 0L: 24D y un fotoperíodo progresivo. En la segunda experiencia se utilizaron los siguientes tratamientos: 12L: 12D y una temperatura fija de 20 °C (como control), fotoperíodo progresivo y temperatura progresiva, y el último tratamiento 24L: 0D y temperatura progresiva.

Al finalizar el experimento se registró la longitud estándar de cada ejemplar y se analizó la longitud estándar final entre tratamientos mediante métodos no paramétricos usando una prueba de Kruskal-Wallis seguida por el procedimiento de comparación múltiple de pares (método de Dunn). Se consideró un nivel de significancia de $p < 0,05$ en todos los procedimientos.

V.3. Resultados

Estimadores de crecimiento e indicadores de prácticas de cultivo.

Acuarios

La tasa específica de crecimiento en longitud (SgrL) registrada en acuarios para el periodo crecimiento comprendido en el rango de tallas 1,7 - 3,7 cm resultó de 0,339 y la tasa específica de crecimiento en peso (SgrW) para el rango 0,107-1,08 g fue de 0,967.

En los primeros 60 días de cultivo se evidencian las tasas más altas de crecimiento presentadas por la especie con valores de 0,659-0,745 para SgrL y 2,392-1,748 para SgrW disminuyendo a medida que los peces crecen (Tabla V.1). En consecuencia el peso ganado y la eficiencia de conversión de alimento (FCE) mostraron la misma tendencia alcanzando los valores máximos de 131- 71,9 y 74,84- 46,4 respectivamente.

Tabla V.1. Tasa de crecimiento específica en longitud (SgrL), tasa de crecimiento en peso (SgrW), Peso ganado , eficiencia de conversión alimentaria (FCE) de *C. interruptus* durante 274 días de cultivo en acuarios.

Días	Peso			
	SgrL %	SgrW %	ganado %	FCE %
0 (Inicio)	-	-	-	-
35	0,659	2,392	131,0	74,86
66	0,745	1,748	71,9	46,40
102	0,536	1,778	89,7	49,81
135	0,424	1,456	61,7	62,33
171	0,378	1,022	44,4	41,54
204	0,108	0,513	18,5	18,70
238	0,121	0,355	12,8	12,59
274	0,082	0,294	11,2	15,50

A lo largo de toda la experiencia el índice de condición se mantuvo en valores cercanos a 1 y la mortalidad observada fue baja, lográndose un 82 % de supervivencia al final de la experiencia (Tabla V.2). En la misma tabla se consigna la supervivencia porcentual observada de acuerdo con los días de experimento.

Tabla V.2. Longitud estándar media (Lst) en cm, peso medio (w) en g, índice de condición (Kn), Supervivencia %, SD: desvío estándar de *C. interruptus* durante 274 días de cultivo en acuarios

Días	Lst	SD	W	SD	Kn	SD	Supervivencia %
0 (Inicio)	1,35	0,09	0,05	0,01	0,99	0,10	-
35	1,71	0,19	0,11	0,36	1,1	0,15	87,7
66	2,15	0,23	0,18	0,59	0,924	0,07	98,5
102	2,61	0,28	0,35	0,11	0,966	0,09	100
135	3,00	0,24	0,56	0,15	1,024	0,09	100
171	3,43	0,24	0,82	0,18	0,97	0,08	98,1
204	3,56	0,27	0,97	0,26	1,028	0,09	98,0
238	3,71	0,29	1,09	0,3	1,021	0,10	99,6
274	3,82	0,32	1,21	0,32	1,03	0,11	100

Estanques

La SgrL registrada en estanques para el intervalo de tallas 1,66- 3,69 cm resultó 0,33 y SgrW para el rango de pesos 0,09-1,11 g fue de 1,014. En los primeros 56 días de la experiencia se registraron los valores más altos (1,49-0,81 para SgrL y 3,94-2,53 para SgrW) (Tabla V.3).

Tabla V.3. Tasa de crecimiento específica en longitud (SgrL), tasa de crecimiento en peso (SgrW), Peso ganado de *C. interruptus* durante 275 días de cultivo en estanques.

Días	Peso		
	SgrL %	SgrW %	ganado %
0 (Inicio)	-	-	-
29	1,49	3,94	297,51
56	0,81	2,53	118,85
87	0,69	1,80	91,39
120	0,45	1,34	55,44
149	0,38	0,93	39,91
183	0,15	0,45	15,97
214	0,05	0,11	3,79
245	0,05	0,17	5,37
275	0,07	0,20	6,23

La condición general de los peces a lo largo de la experiencia se mantuvo, lo cual se ve reflejado en el índice de condición que se conservó en valores cercanos a 1. La supervivencia al final del experimento fue del 69%, menor que la registrada en acuarios (Tabla V.4).

Tabla V.4. Longitud estándar media (Lst), peso medio (w), índice de condición (Kn) Tasa de supervivencia (%), SD: desvío estándar de *C. interruptus* durante 275 días de cultivo en estanques

Días	Lst (cm)	SD	w (gr)	SD	Kn	SD
0 (Inicio)	1,08	0,06	0,02	0,003	0,98	0,05
29	1,66	0,14	0,09	0,02	1,01	0,10
56	2,12	0,20	0,20	0,06	1,03	0,08
87	2,63	0,27	0,38	0,11	1,02	0,06
120	3,05	0,25	0,59	0,15	1,01	0,05
149	3,40	0,23	0,83	0,17	1,02	0,04
183	3,58	0,25	0,96	0,22	1,01	0,05
214	3,63	0,29	1,00	0,24	0,99	0,05
245	3,70	0,27	1,05	0,30	0,99	0,09
275	3,77	0,31	1,11	0,37	0,97	0,10

Modelos de crecimiento en longitud en acuarios

Se analizaron en total 813 datos de edad-talla de *C. interruptus* para las estimaciones de crecimiento individual (Figuras V.1- V.4). Las longitudes registradas se encontraron en el intervalo e 1,147-4,83 mm de longitud estándar (Lst). Los parámetros de cada modelo resultaron significativos a excepción del parámetro b de Schnute (Tablas V.5-V.8).

Modelo de Von Bertalanffy

Tabla V.5. Parámetros de ajuste de la curva del modelo de crecimiento de von Bertalanffy a los datos de crecimiento de *C. interruptus* en acuarios. Con sus respectivos errores estándar, estadísticos t y p y límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS). Se señalan con asterisco (*) los parámetros significativos.

Parámetros	Estimado	Error estándar	t-valor	p-valor	LCI	LCS
L_{∞}	4,979*	0,1359	36,63	0,001	4,712	5,245
K	0,005*	0,0003	15,63	0,001	0,004	0,005
T0	-33,543*	3,2509	-10,32	0,001	-39,924	-27,162

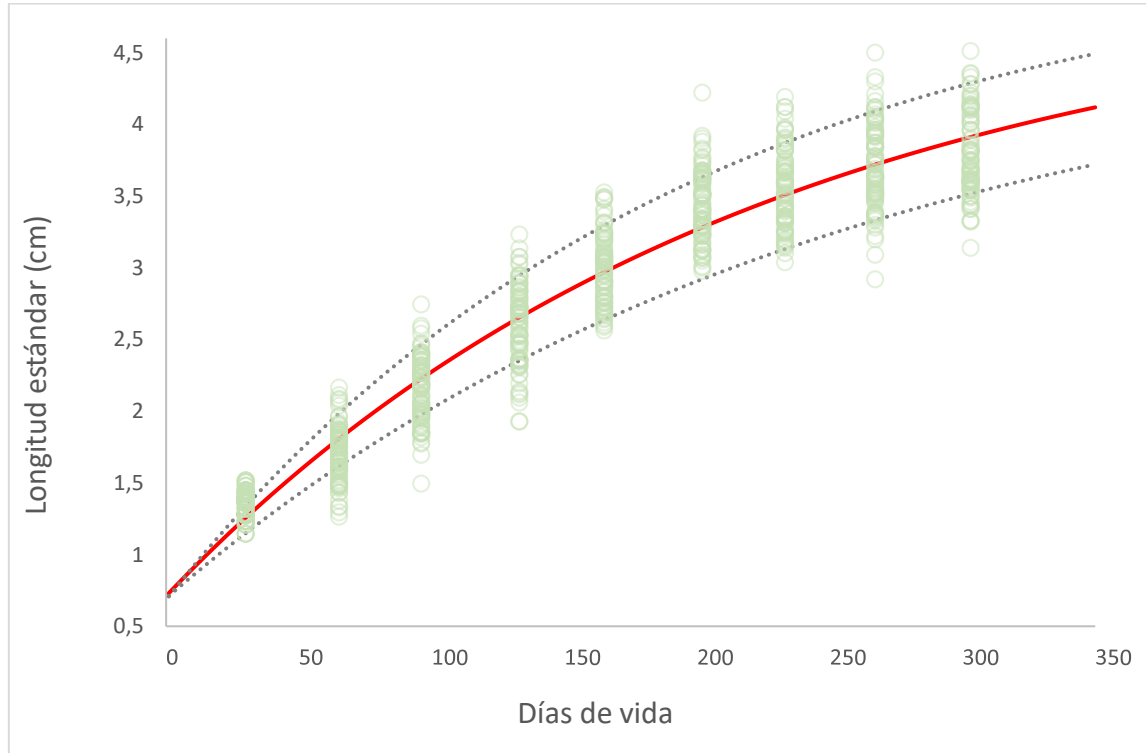


Figura V. 1. Modelo de von Bertalanffy aplicado a los datos de longitud a diferentes edades obtenidos en la experiencia en acuarios. Se presenta la curva generada por el modelo (línea continua), límites de confianza (línea punteada) y los datos empíricos de longitud estándar (círculos).

Modelo de Gompertz

Tabla V.6. Parámetros de ajuste de la curva del modelo de crecimiento de Gompertz ajustado a los datos de crecimiento de *C. interruptus* en acuarios. Con sus respectivos errores estándar, estadísticos t y p y límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS). Se señalan con asterisco (*) los parámetros significativos.

	Estimado	Error estándar	t-valor	p-valor	LCI f	LCS.
L_{∞}	4,055*	0,037	107,12	< 0,001	3,981	4,13
k	0,013*	0,0003	35,78	< 0,001	0,012	0,014
T0	3,164*	0,08	39,35	< 0,001	3,006	3,322

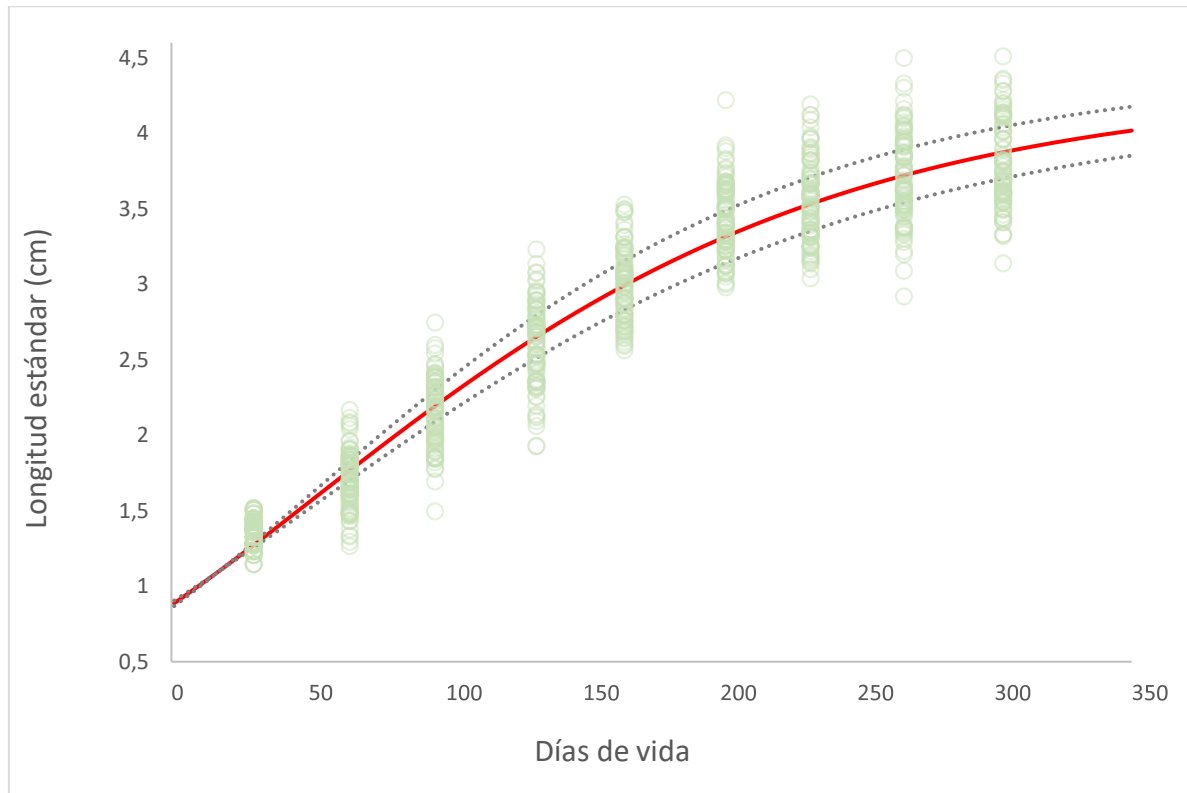


Figura V. 2. Modelo de Gompertz aplicado a los datos de longitud a diferentes edades obtenidos en la experiencia en acuarios. Se presenta la curva generada por el modelo (línea continua), límites de confianza (línea punteada) y los datos empíricos de longitud estándar (círculos).

Modelo Logístico

Tabla V.7. Parámetros de ajuste de la curva del modelo de crecimiento Logístico a los datos de crecimiento de *C. interruptus* en acuarios. Con sus respectivos errores estándar, estadísticos t y p y límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS). Se señalan con asterisco (*) los parámetros significativos.

	Estimado	Error estándar	t-valor	p-valor	LCI	LCS.
L^∞	4,055*	0,037	107,12	< 0,001	3,981	4,13
k	0,013*	0,0003	35,78	< 0,001	0,012	0,014
T0	3,164*	0,080	39,35	< 0,001	3,006	3,32

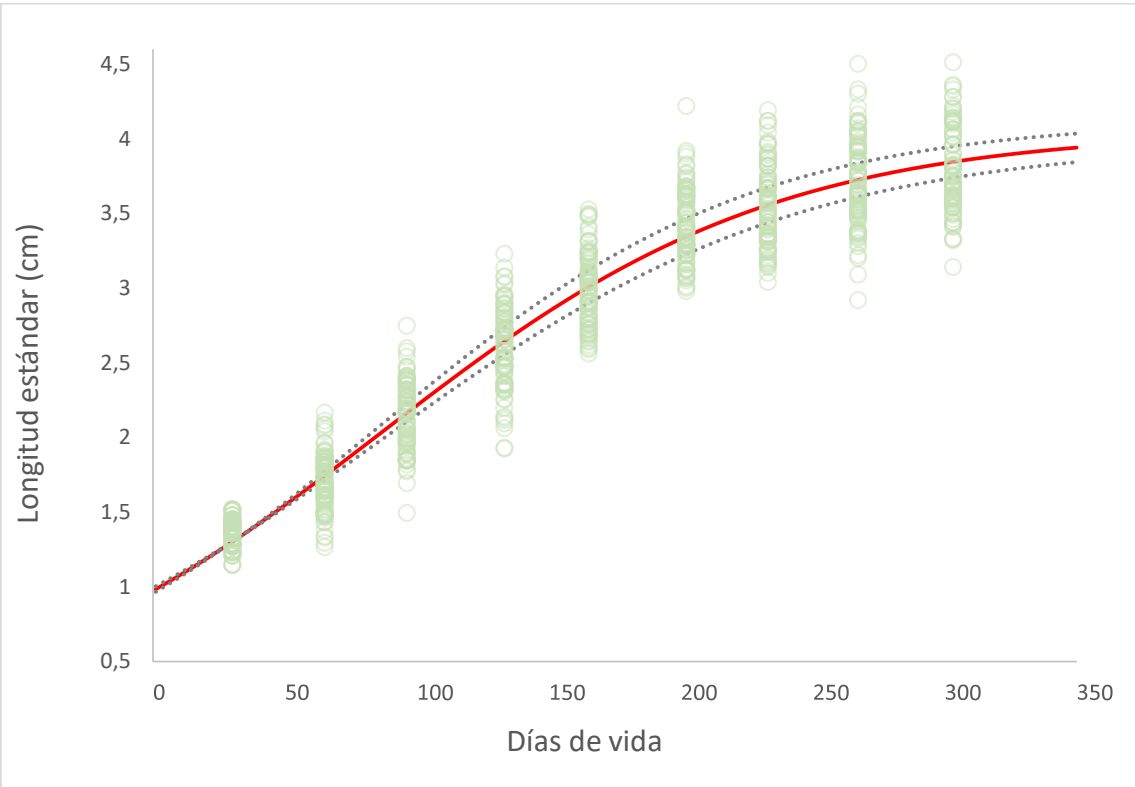


Figura V. 3. Modelo Logístico aplicado a los datos de longitud a diferentes edades obtenidos en la experiencia en acuarios. Se presenta la curva generada por el modelo (línea continua), límites de confianza (línea punteada) y los datos empíricos de longitud estándar (círculos).

Modelo de Schnute

Tabla V.8. Parámetros de ajuste de la curva del modelo de crecimiento de Schnute a los datos de crecimiento de *C. interruptus* en acuarios. Con sus respectivos errores estándar, estadísticos t y p y límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS). Se señalan con asterisco (*) los parámetros significativos.

Parámetro	Estimado	Error estándar	t-valor	p-valor	LCI	LCS
A	0,0136*	0,0057	2,3671	0,0182	0,0023	0,0248
B	0,00002	0,01024	0,00193	0,998	-0,02013	0,02009
Y1	1,347*	0,323	4,175	0,001	0,714	1,980
Y2	3,723*	0,250	14,887	0,001	3,232	4,213

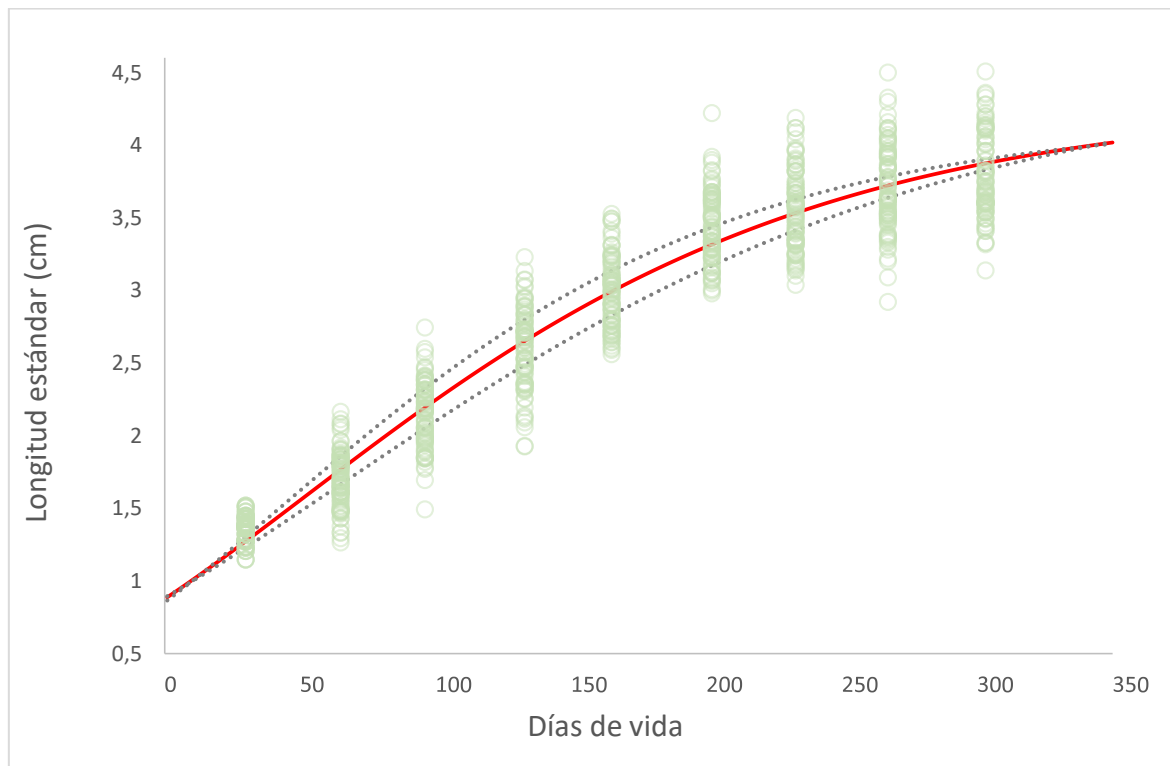


Figura V. 4. Modelo de Schnute aplicado a los datos de longitud a diferentes edades obtenidos en la experiencia en acuarios. Se presenta la curva generada por el modelo (línea continua), límites de confianza (línea punteada) y los datos empíricos de longitud estándar (círculos).

Criterio de selección de Modelos

Después de seguir el enfoque multimodelo en *C. interruptus*, resultó que el modelo Logístico es el que mejor ajuste presentó entre todos los modelos candidatos para describir el crecimiento en longitud. Presentó los valores más bajos de Δi , Src y desviación diaria. (Tabla V.9). El modelo de Gompertz también fue apoyado por los datos con un valor de Δi de 3,08. El modelo de Schnute fue moderadamente apoyado por los datos (Δi 5,08) mientras que el MCVB fue el menos compatible entre el conjunto de modelos candidatos (Δi 8,37).

Tabla V.9 Criterio de selección de modelos de crecimiento en longitud en acuarios. Donde K es el número de parámetro de cada modelo. Se muestran los valores de los tres criterios de selección: sumatoria de residuos al cuadrado (Src) desviación diaria (DD) y el criterio de selección de Akaike (AICc y Δi). En negrita se resaltan los valores del modelo logístico que mostraron el mejor ajuste.

	K	AICc	Δi	Src	DD
MCVB	3	131,2	8,37	55,10	1,361
Logístico	3	122,8	0	50,77	1,254
Gompertz	3	125,9	3,08	52,35	1,299
Schnute	4	127,9	5,08	52,35	1,299

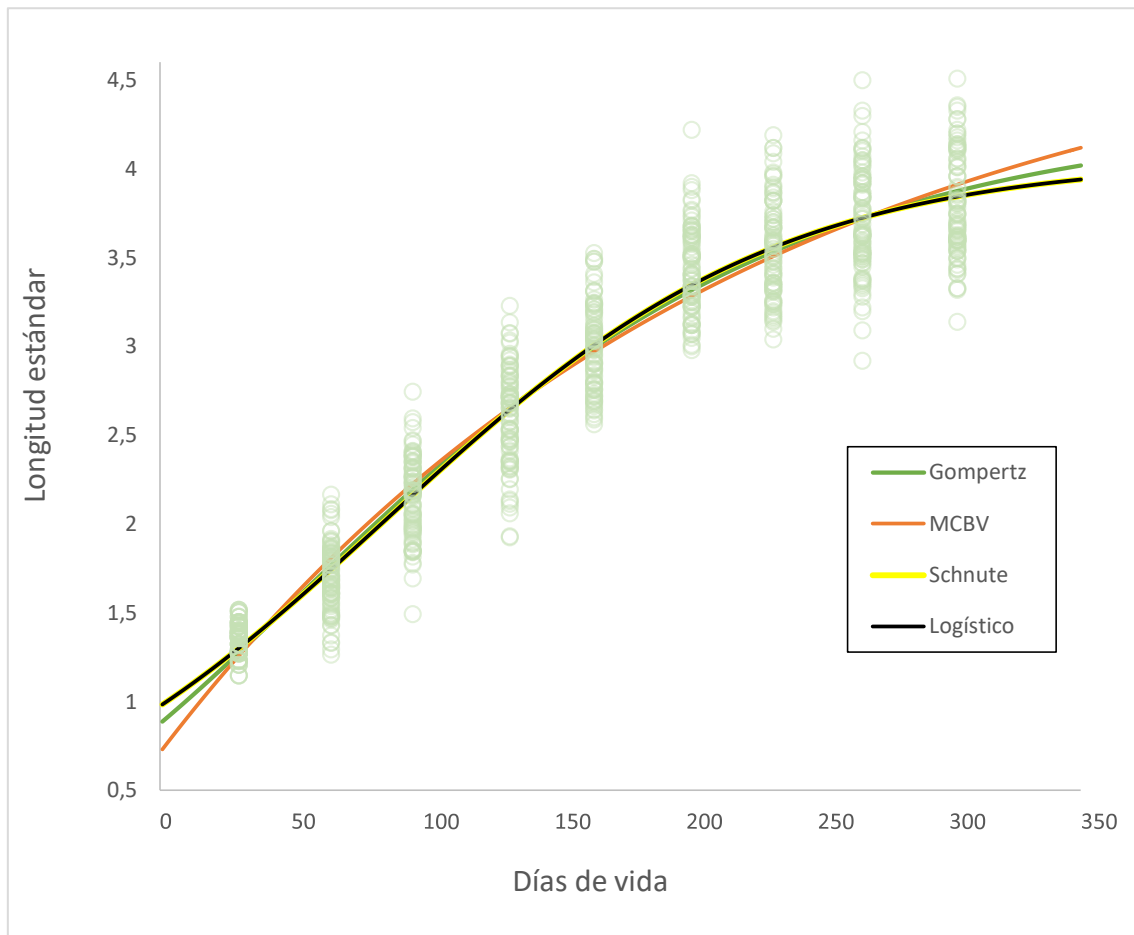


Figura V. 5. Representación gráfica de los cuatro modelos generados para la experiencia de cultivo en acuario.

En la experiencia en acuarios, donde fue posible el sexado, se ve reflejado una longitud asintótica (L_{∞}) mayor en hembras y una tasa de crecimiento (k) mayor en machos. Los valores del MCVB resultaron $L_{\infty} = 4,19$ cm Lst, $k = 0,011$ y $T_0 = 10$ para hembras y $L_{\infty} = 3,62$ cm Lst, $k = 0,018$ y $T_0 = 10$ para machos.

Modelos de crecimiento en longitud en estanques

Se analizaron en total 594 datos de edad-talla de individuos de *C. interruptus* para las estimaciones de crecimiento individual. Las longitudes registradas se encontraron en el intervalo 0,941- 4,5 mm de longitud estándar (Lst). Al igual que en el sistema de cultivo en acuarios todos los modelos de crecimiento en longitud en estanques mostraron un buen ajuste (Figuras V.6- V.9) y todos los parámetros resultaron significativos a excepción del parámetro b de Schnute (Tablas V.10- V.13).

Modelo de Bertalanffy

Tabla V.10. Parámetros de ajuste de la curva del modelo de crecimiento de von Bertalanffy a los datos de crecimiento de *C. interruptus* en estanques. Con sus respectivos errores estándar, estadísticos t y p y límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS). Se señalan con asterisco (*) los parámetros significativos.

Parámetros	Estimado	Error estándar	t-valor	p-valor	LCI	LCS
L_{∞}	4,12*	0,04	99,20	0,001	4,04	4,21
k	0,0085*	0,0003	30,35	0,001	0,01	0,01
T0	-16,27*	1,18	-13,78	0,001	-18,58	-13,95

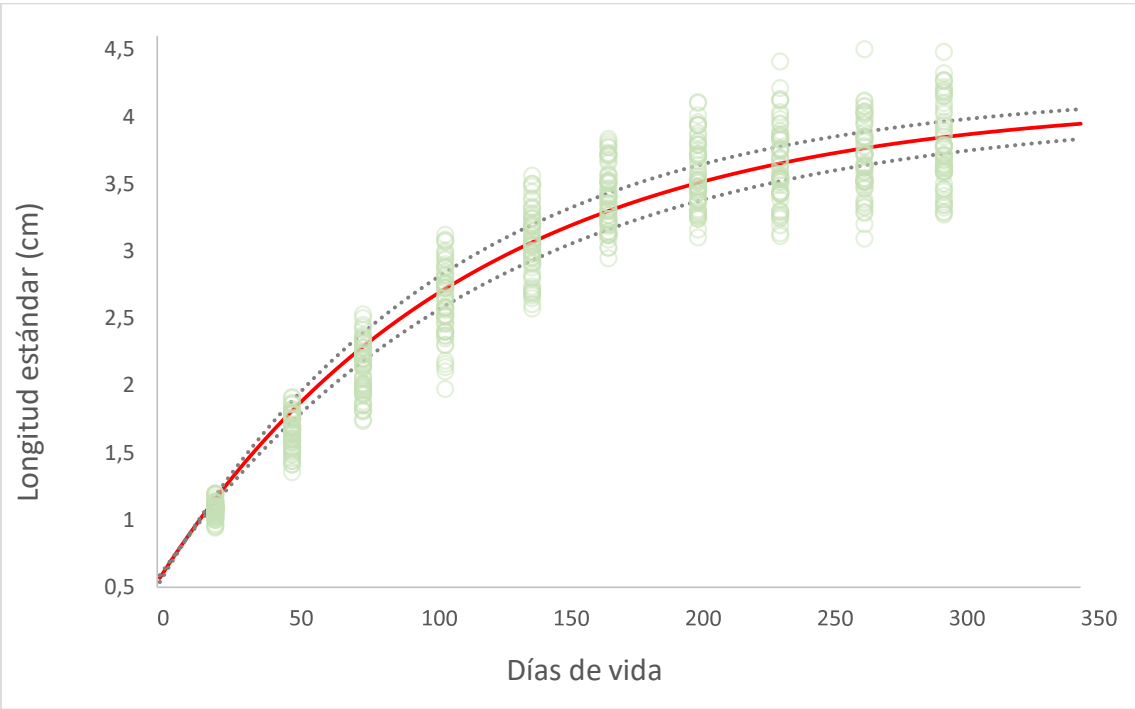


Figura V. 6., Modelo de von Bertalanffy aplicado a los datos de longitud a diferentes edades obtenidos en la experiencia en estanques. Se presenta la curva generada por el modelo (línea continua), límites de confianza (línea punteada) y los datos empíricos de longitud estándar (círculos).

Modelo de Gompertz

Tabla V.11. Parámetros de ajuste de la curva del modelo de crecimiento de Gompertz a los datos de crecimiento de *C. interruptus* en estanques. Con sus respectivos errores estándar, estadísticos t y p y límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS). Se señalan con asterisco (*) los parámetros significativos.

	Estimado	Error estándar	t-valor	p-valor	LCI	LCS
L_{∞}	3,884*	0,028	138,361	0,001	3,828	3,939
k	0,014*	0,000	34,241	0,001	0,013	0,015
T0	0,574*	0,022	25,556	0,001	0,530	0,618

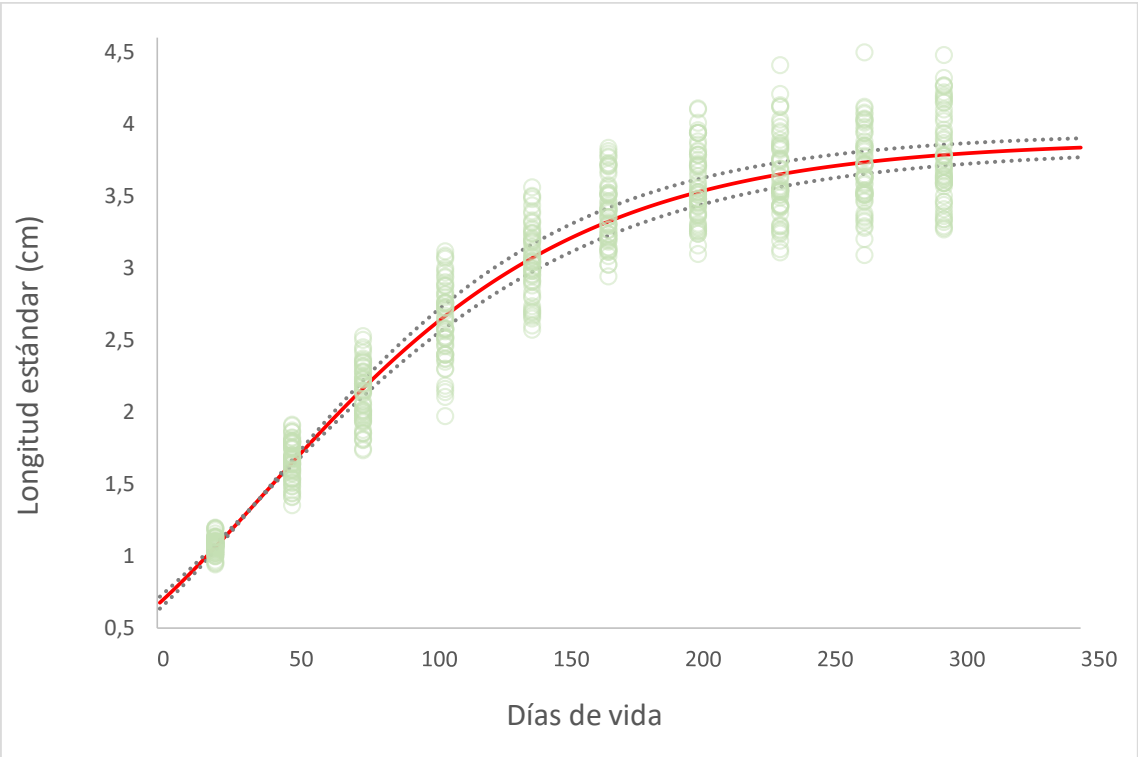


Figura V. 7., Modelo de Gompertz aplicado a los datos de longitud a diferentes edades obtenidos en la experiencia en estanques. Se presenta la curva generada por el modelo (línea continua), límites de confianza (línea punteada) y los datos empíricos de longitud estándar (círculos).

Modelo Logístico

Tabla V.12. Parámetros de ajuste de la curva del modelo de crecimiento Logístico a los datos de crecimiento de *C. interruptus* en estanques. Con sus respectivos errores estándar, estadísticos t y p y límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS). Se señalan con asterisco (*) los parámetros significativos.

	Estimado	Error estándar	t-valor	p-valor	LCI.	LCS
L_{∞}	3,788*	0,022	171,868	0,001	3,745	3,831
k	0,020*	0,001	38,330	0,001	0,019	0,021
T0	3,678*	0,128	28,729	0,001	3,427	3,929

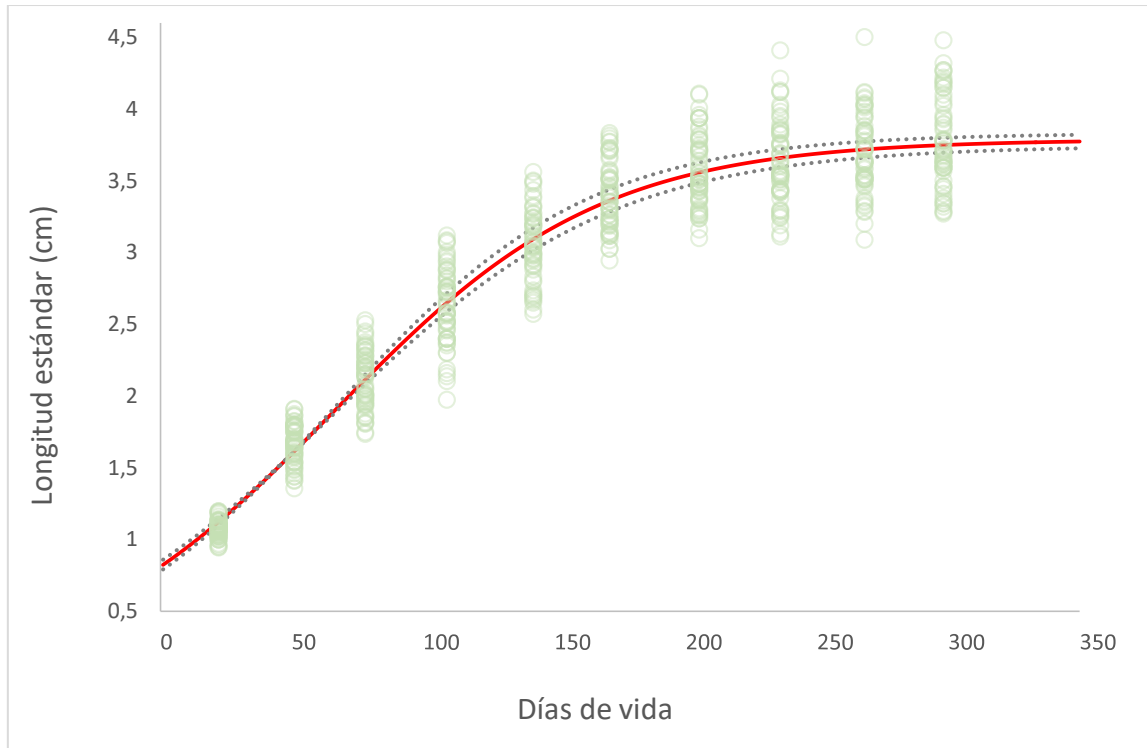


Figura V. 8., Modelo Logístico aplicado a los datos de longitud a diferentes edades obtenidos en la experiencia en estanques. Se presenta la curva generada por el modelo (línea continua), límites de confianza (línea punteada) y los datos empíricos de longitud estándar (círculos).

Modelo de Schnute

Tabla V.13. Parámetros de ajuste de la curva del modelo de crecimiento de Schnute a los datos de crecimiento de *C. interruptus* en estanques. Con sus respectivos errores estándar, estadísticos t y p y límites de confianza inferior (LCI) y superior (LCS). Se señalan con asterisco (*) los parámetros significativos.

Parámetro	Estimado	Error estándar	t-valor	p-valor	LCI	LCS.
a	0,0142*	0,0102	0,0019	0,018	0,0154	0,0131
b	0,0001	0,0057	2,3671	0,4120	0,001	-0,0012
Y1	1,061*	0,323	4,175	< 0,001	1,091	1,025
Y2	3,785*	0,250	14,887	< 0,001	3,821	3,732

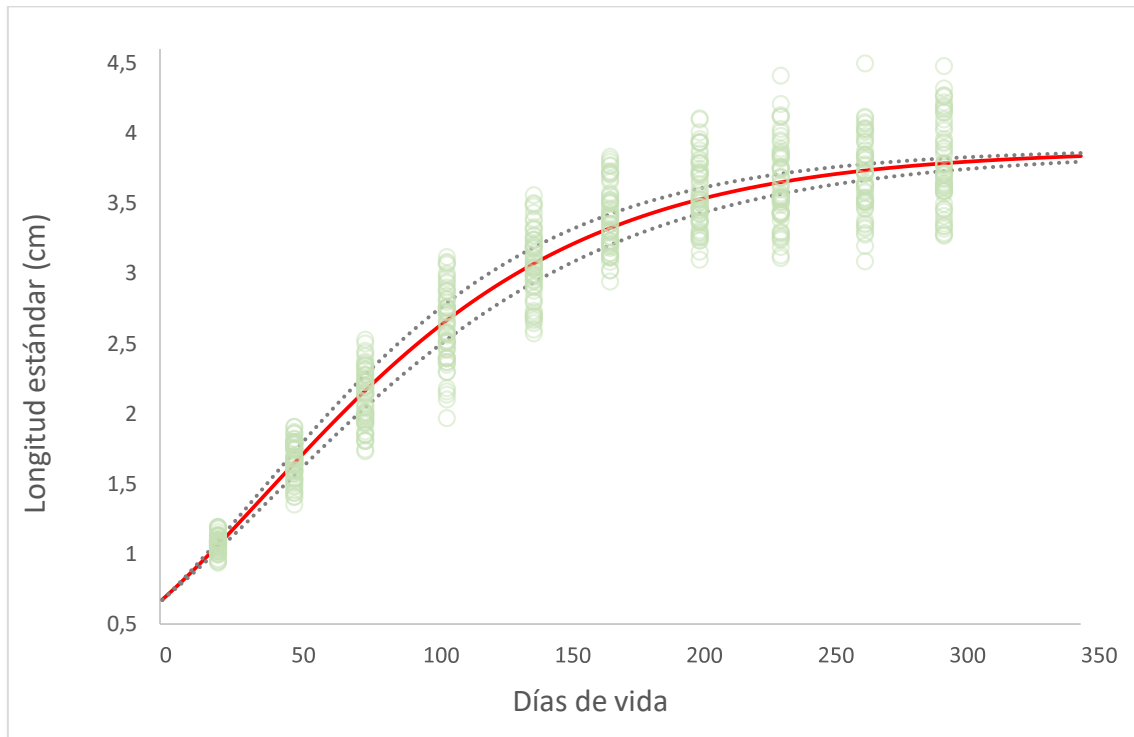


Figura V. 9. Modelo de Schnute aplicado a los datos de longitud a diferentes edades obtenidos en la experiencia en estanques. Se presenta la curva generada por el modelo (línea continua), límites de confianza (línea punteada) y los datos empíricos de longitud estándar (círculos).

Criterio de selección de Modelos

De la misma manera que en acuarios el modelo Logístico es el que mejor ajuste presentó en estanques. Presentó los valores más bajos de Δi , Src y desviación diaria (Tabla V.14). El modelo de Gompertz y el de Schnute también fueron apoyados por los datos con un valor de Δi de 0.45 y 2 respectivamente. El modelo de Schnute fue moderadamente apoyado por los datos (Δi 2) mientras que el MCVB fue el menos compatible entre el conjunto de modelos candidatos (Δi 5,61).

Tabla V.14. Criterio de selección de modelos de crecimiento en longitud en estanques. Donde K es el número de parámetro de cada modelo. Se consignan los valores de los tres criterios de selección: sumatoria de residuos al cuadrado (Src) desviación diaria (DD) y el criterio de selección de Akaike (AICc y Δi). En negrita se resaltan los valores del modelo Logístico que mostraron el mejor ajuste.

	K	AICc	Δi	Src	DD
MCVB	3	89,5	5,61	36,16	1.193
Logístico	3	83,9	0	33,35	0,867
Gompertz	3	84,4	0,45	33,57	0,876
Schnute	4	86,4	2,00	33,57	0,876

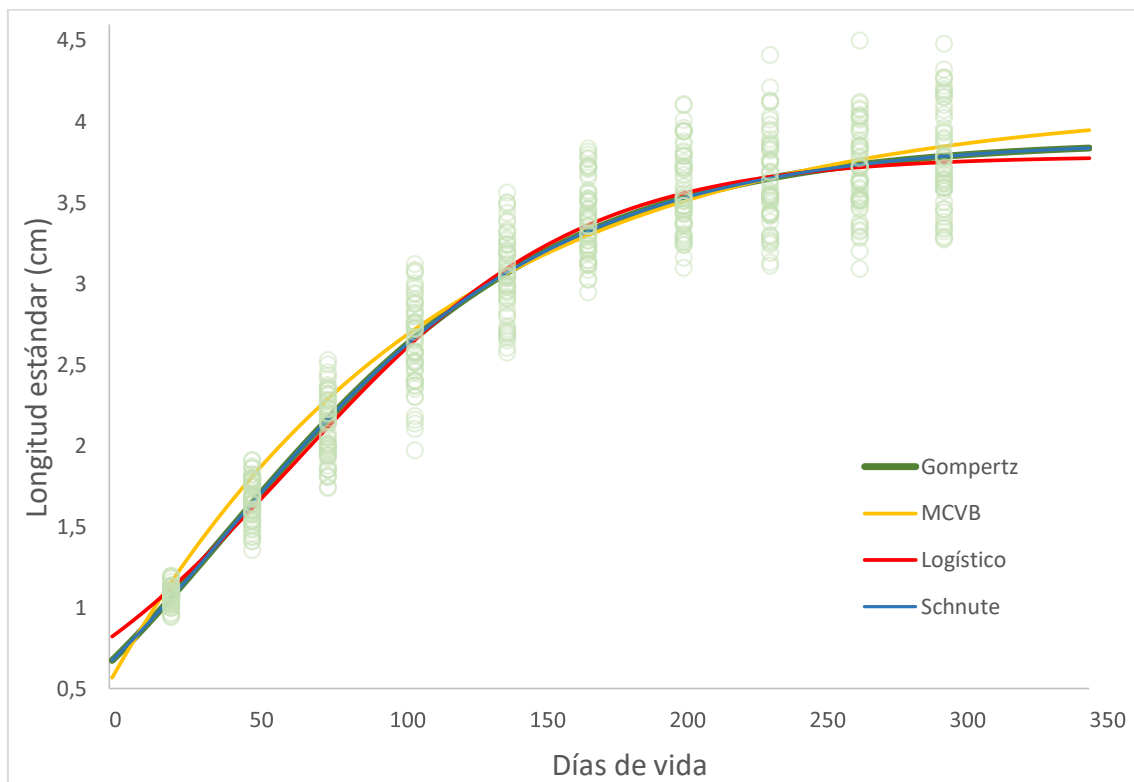


Figura V. 10. Representación gráfica de los cuatro modelos generados para la experiencia de cultivo en estanques.

Comparaciones entre sistemas de cultivo

No se registraron diferencias significativas en las SgrL (Figura V.11) y SgrW entre sistemas ($p < 0,05$) a lo largo de todo el periodo de cultivo.

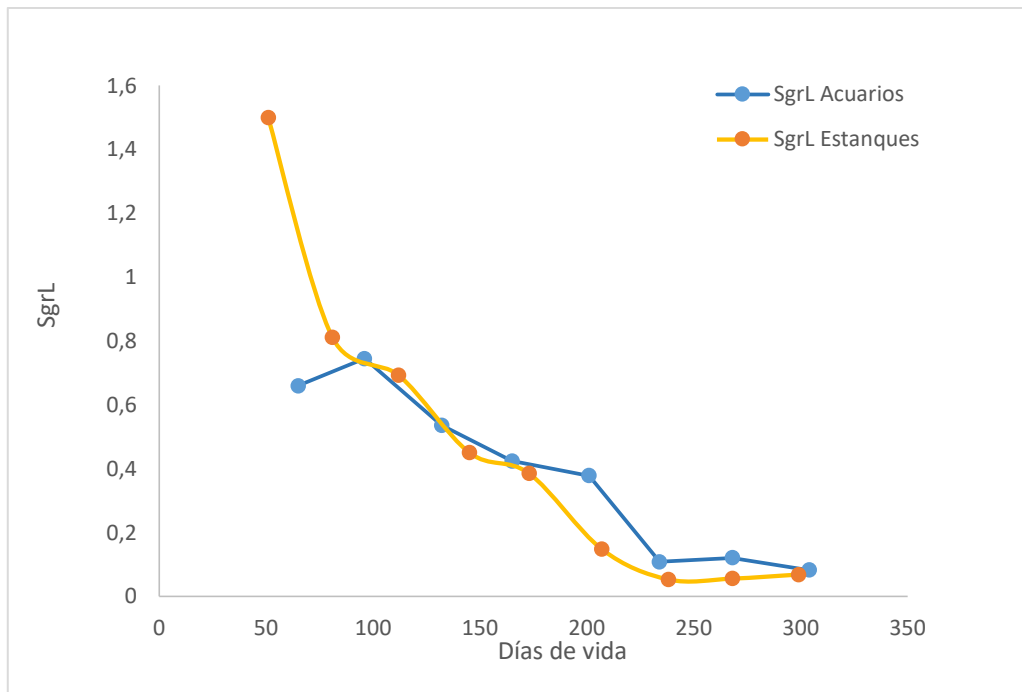


Figura V.11. Tasa específica de crecimiento en longitud para *C. interruptus* en sistemas de cultivo acuarios y estanques.

Al comparar el crecimiento entre sistemas de cultivo mediante RM ANOVA de medidas repetidas, se observó que la interacción entre el factor “tiempo” y el factor “sistema de cultivo” fue significativa para los valores de longitud (RM ANOVA, $F(1,4) = 50,5$; $p < 0,001$) (Tabla V.15). Se observaron diferencias significativas entre sistemas (RM ANOVA, $F(1,4) = 218,8$; $p = 0,0012$). El test a posteriori de Bonferroni reveló diferencias ($p < 0,05$) en el intervalo de edades de 58-169 días, alcanzando mayores tallas en el sistema de estanques, luego de este periodo las tallas se equiparan (Tabla V.16). El periodo de mayor crecimiento en estanques coincide con los meses de mayor temperatura ambiental y mayor amplitud de fotoperíodo (noviembre a marzo) y la disminución del crecimiento con los meses de temperatura más bajas (abril-julio).

Tabla V.15. Tabla resumen RM ANOVA de medidas repetidas. Resultados significativos se indican mediante asterisco (*). Se informa el tamaño del efecto mediante el valor de eta cuadrada parcial (ECP). gl: grados de libertad; SM: suma de cuadrados.

	gl	SM	F	p	ECP
Intercepción	1	457,5059	252937,3*	<0,001	
Sistemas	1	0,3948	218,3*	<0,001	0,984
Edad-días	7	3,2955	2152,8*	<0,001	0,999
Edad*sistemas	7	0,0773	50,5*	<0,001	0,964

Tabla V.16. Comparación por pares de Bonferroni, la corrección para comparaciones múltiples, criterio de significancia ajustado a un valor de 0,05. Se indica con asterisco (*) las diferencias significativas.

Edad en días	Tratamiento	Tratamiento	Significancia
58	Acuarios	Estanques	0,396
103	Acuarios	Estanques	0,002*
137	Acuarios	Estanques	0,002*
169	Acuarios	Estanques	0,004*
204	Acuarios	Estanques	0,54
236	Acuarios	Estanques	0,226
268	Acuarios	Estanques	0,798
302	Acuarios	Estanques	0,347

Por otro lado al comparar modelos de crecimiento en talla de von Bertalanffy entre sistemas de cultivo no se encontraron diferencias significativas utilizando el método desarrollado por Aubone & Wöhler, (2000). Todos los parámetros del MCVB (L_{∞} , k y T_0) no presentaron diferencias significativas entre sí.

Efecto del fotoperíodo sobre el crecimiento.

Como se describe en el Capítulo IV, se observaron diferencias significativas entre tratamientos en términos de longitud estándar. La mayor longitud final alcanzada se observó con el fotoperíodo 24L: 0D registrándose diferencias significativas con el resto de los tratamientos ($P < 0,05$) (Tabla V.17). Le siguieron el tratamiento progresivo, luego el 0L: 24D y finalmente el tratamiento 12L: 12D que mostró los valores con mayor semejanza a los valores iniciales. (Figura V.12, Tabla V.18).

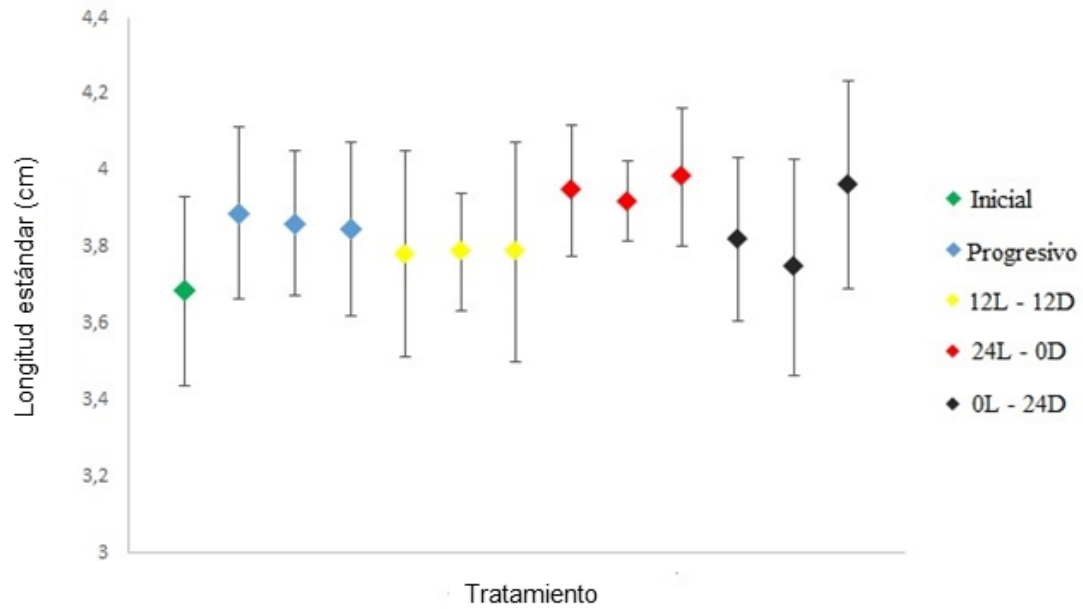


Figura V.12. Longitud estándar final promedio por réplica del primer experimento de manipulación del fotoperíodo. Se muestran los valores iniciales y desvío estándar.

Tabla V.17. Comparación múltiple de pares por el método de Dunn.

Comparación pares	Diferencias en rangos	Q	P<0,05
24L-0D vs 12L-12D	72,204	4,919	Si
24L-0D vs 0L-24 D	43,426	2,977	Si
24L-0D vs Progresivo	40,13	2,746	Si
Progresivo vs 12L-12D	42,074	2,823	Si
Progresivo vs 0L-24 D	13,296	0,898	No
0L-24 D vs 12L-12D	28,778	1,949	No

Tabla V.18. Longitud (media \pm SD) y supervivencia (%) de *C. interruptus* antes y después de la exposición a diferentes fotoperíodos, durante los 45 días de experimento.

	Longitud (cm)	(%)
Inicial	3,68 \pm 0,24	
Progresivo	3,85 \pm 0,22	96
12L:12D	3,77 \pm 0,22	99
24L:0D	3,95 \pm 0,16	93
0L:24D	3,84 \pm 0,26	97

En el segundo experimento en el cual se combinaron los fotoperíodos con temperatura se observaron diferencias significativas en la longitud estándar final observada $H = 136,513$ con dos grados de libertad ($P < 0,001$). La mayor longitud final alcanzada resultó nuevamente la observada en el tratamiento de iluminación permanente con el agregado de un régimen incremental de temperatura, registrándose diferencias significativas con los demás tratamientos (Tabla V.17). Le siguieron el tratamiento de fotoperíodo y temperatura progresivo y finalmente el tratamiento 12L: 12D que mostró los valores con mayor semejanza a los valores iniciales (Tabla V.18).

Tabla V.17. Comparación múltiple de pares por el método de Dunn

Comparación pares	Diferencias en rangos	Q	$p < 0,05$
24L: 0D vs 12L: 12D	132,5	11,47	Si
Progresivo vs 12L: 12D	89,64	7,74	Si
Progresivo vs 24L: 0D	42,9	3,75	Si

Tabla V.18. Longitud media \pm desvío estándar y supervivencia (%) de *C. interruptus* antes y después de la exposición a diferentes fotoperíodos y temperatura, durante los 45 días de experimento.

	Longitud (cm)	Supervivencia (%)
Inicial	$3,96 \pm 0,12$	
12L:12D - T°20°C	$4,18 \pm 0,13$	100
24L: 0D - T° progresiva	$4,5 \pm 0,13$	97
Fotoperíodo y temperatura	$4,42 \pm 0,15$	100
Progresiva		

V.4. Discusión y conclusiones

En este capítulo se describió y analizó por primera vez el crecimiento de *C. interruptus* en cautiverio a partir de ejemplares colectados tempranamente en la naturaleza (experiencia en acuarios) y descendientes obtenidos en cautiverio de ejemplares salvajes (experiencia en estanques).

Las tasas de crecimiento específicas (SgrL y SgrW) no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre sistemas, en rangos de tallas comparables, a lo largo de todo el período de cultivo. Se registraron tasas más altas al inicio del cultivo en estanques que en acuarios. Esta diferencia se debe en parte a que en los primeros, el cultivo, comenzó con individuos de menor tamaño. Conforme los peces crecen estos valores disminuyen en ambos sistemas de cultivo (Figura V. 11). Tasas de crecimiento decrecientes en función de la edad están ampliamente sustentadas en la literatura, donde se describe una disminución de la tasa metabólica conforme los organismos crecen (Brett & Groves, 1979; Jobling, 1995).

La información obtenida señala que *C. interruptus* crece con tasas de crecimiento específicas en longitud y peso (para todo el periodo de cultivo) semejantes tanto en sistemas reducidos con un amplio control sobre las variables ambientales (acuarios) como en sistemas de mayor volumen y ubicados a la intemperie (estanques) evidenciando una satisfactoria adaptabilidad a diferentes sistemas de cultivo. Esto indica que el acuicultor tiene la posibilidad de obtener resultados de crecimiento finales similares utilizando recintos de cría de distintos tamaños y diferentes densidades en periodos de cultivo extensos.

Cuando se analizó en profundidad las interacciones entre el tiempo de cultivo y las tallas alcanzadas en ambos sistemas, se pone de manifiesto que los peces criados en estanques mostraron un crecimiento mayor en los primeros meses pos-desove, coincidente con el periodo más cálido del año momento en el cual se registraron las temperaturas más altas (hasta 28 °C). Luego el crecimiento en estanques disminuye en el periodo abril-julio (temperaturas mínima registrada de 6 °C) equiparándose de esta manera para el periodo total de cultivo con los resultados obtenidos en acuarios (temperatura constante, 20°C). Esta situación sugiere un rol de la temperatura en el crecimiento en *C. interruptus* como se ha observado en muchas especies de importancia en acuicultura (Austreng 1987, Imsland 1996, Björnsson 2001). Esta observación indica que el manejo de las temperaturas de cultivo puede tener incidencia directa sobre las tasas de crecimiento posibilitando su uso como herramienta en la acuicultura de la especie, brindando al productor la posibilidad de acelerar o frenar el cambio de tamaño de los individuos según las necesidades.

En el estudio del crecimiento las comparaciones multimodelo que asumen diferentes supuestos biológicos, tipos y formas de curva, resultan valiosas para hacer inferencias objetivas sobre la información que proporcionan los parámetros de crecimiento (Beninger *et al.*, 2012). Teóricamente, el modelo de von Bertalanffy es un

mal descriptor del crecimiento en las etapas tempranas de los peces (Gamito, 1998), por eso fue necesario poner a prueba otros modelos que describieran de buena manera esta etapa del ciclo de vida en *C. interruptus*. Los resultados obtenidos indican que todos los modelos de crecimiento en talla generados para ambas experiencias de cultivo presentaron un buen ajuste y resultaron significativos donde no se observan diferencias pronunciadas en las curvas de crecimiento generadas. Sin embargo, el modelo de von Bertalanffy mostró el ajuste menos consistente en relación a los datos empíricos. Al observar los gráficos (Figura V. 5 y V.10) se evidencia que en el crecimiento temprano las restricciones de este modelo no le permiten aproximar los valores medios a temprana edad como lo hacen los restantes modelos. Este modelo fue seleccionado como el mejor solo en uno de cuatro casos examinados por Katsanevakis (2006) y en dos de los cuatro casos hizo la estimación más débil. En este mismo sentido Baer *et al.* (2011) concluyeron que no es el modelo óptimo para calcular el crecimiento del pez *Psetta maxima*. El MCVB, cuando se usa como único modelo, podría causar una estimación puntual sesgada y una evaluación falsa de la precisión. Se propone la utilización del modelo Logístico para la estimación del crecimiento en *C. interruptus*, especialmente si se incluyen la primeras etapas de la ontogenia, debido a que mostró el mejor desempeño en ambos sistemas de cultivo según los tres criterios elegidos (sumatoria de residuos cuadrados, desviación diaria y criterio de Akaike). En la actualidad se observa un aumento de trabajos que utilizan este enfoque multimodelo basado en la teoría de la información. A pesar de ello Mundry (2011) sugiere usarlo con precaución en estudios de ecología y propone una combinación de pruebas de hipótesis nula y criterios de teoría de información en circunstancias específicas. Por lo tanto, se espera que en los estudios de acuicultura y pesquerías el uso del criterio de Akaike se convierta en una herramienta común en la selección de modelos de crecimiento.

La comercialización de *C. interruptus* en los puestos de carnada se realiza principalmente en dos tamaños (Ver Capítulo I. Introducción). El primero de menor tamaño 2,21 cm (+/-0,18) es el que mayor demanda tiene en la temporada de pesca de pejerrey en lagunas bonaerenses. El segundo tamaño, 3,38 cm (+/-0,41), está orientado a la pesca de pejerrey de mayor porte y la pesca estival de tarariras. El modelo de crecimiento en talla seleccionado en esta tesis (modelo Logístico) indica que el tiempo requerido para llegar al primer tamaño de venta es de 83 días para la experiencia en estanques y 100 días para la experiencia en acuarios. Para alcanzar el segundo tamaño de venta se requieren 174 días en estanques y 207 días en acuarios. Teniendo en cuenta que la temporada de pesca de pejerrey comienza el 15 de Marzo y los desoves obtenidos en la cría en estanques se produjeron a mediados de septiembre y principios

de octubre es posible que los peces alcancen los dos tamaños antes del comienzo de temporada.

En los experimentos en los que se manipuló el fotoperíodo y la temperatura junto al fotoperíodo, se observó que la longitud final alcanzada por los peces en el tratamiento de iluminación permanente fue máxima. En la literatura se menciona el efecto de fotoperíodos largos como potenciador del crecimiento en varias especies de importancia en acuicultura como *Melanogrammus aeglefinus* (Trippel *et al.*, 2003), *Oncorhynchus mykiss* (Taylor & Migaud, 2009), *Pagrus major* (Biswas *et al.*, 2005), y en este trabajo se reporta por primera vez en *C. interruptus*. De acuerdo con los hallazgos obtenidos en este estudio, el control del régimen de fotoperíodo debe considerarse como una herramienta de gestión relevante en el desarrollo de técnicas de cultivo para la especie. Futuros trabajos deben ser dirigidos a estudiar la combinación óptima de fotoperíodo y temperatura para el crecimiento de *C. interruptus*, con el objetivo de optimizar el tiempo de cultivo y la rentabilidad, planificando los tiempos de desove y el tipo de sistema de cultivo a utilizar.

Se ha reportado en el hábitat natural la presencia de hembras desovantes de *C. interruptus* en otoño (Sendra & Freyre, 1981a; Ferriz *et al.*, 2011). En este sentido es interesante explorar la posibilidad de lograr desoves en esta época del año, garantizando de esta forma la producción de individuos del primer tamaño antes del comienzo de veda de pesca del pejerrey que comienza el 1° de septiembre. Conociendo la época de desove y la influencia del fotoperíodo y la temperatura en el desarrollo se pueden diseñar estrategias que permitan regular el crecimiento de diferentes stocks para garantizar cantidad y tamaño del producto durante toda la temporada. O bien mediante inducción de maduración y desoves acoplados a un crecimiento manejado conforme a las respuestas a las variables ambientales analizadas, podrían planificarse tandas de producción con ciclos convenientemente desfasados para proveer el producto en cantidad y calidad estables mientras se sostenga su demanda. Esta alternativa de manejo promovería un uso eficiente tanto de las instalaciones e insumos para la producción como del personal involucrado.

Sendra y Freyre (1981a) estudiaron el crecimiento individual de *C. interruptus* en el ambiente natural y sus estimaciones se basan en un solo modelo, el de von Bertalanffy. Estos autores muestrearon cada 15-30 días, durante un año y medio, utilizando red de arrastre. La escala de tiempo, la metodología y la superposición de generaciones en el periodo de muestreo afecta la precisión y la posibilidad de comparación de las curvas generadas. Los autores reportaron valores de longitud

máxima (L^∞) mayores y una tasa de crecimiento dos veces menor (k) en comparación con lo estimado por el mejor modelo (Logístico) y el modelo del MCVB de este trabajo. Gran parte de esta diferencia observada puede deberse a que en esta tesis se focalizó en las primeras etapas del crecimiento.

Cuando se analizó el crecimiento discriminado por sexo los resultados obtenidos, al igual que en el trabajo de Sendra & Freyre, (1981a), indican que los machos tienen tasas de crecimiento mayores y que las hembras alcanzan un mayor tamaño final. Muchas especies de valor en acuicultura presentan dimorfismos sexuales de importancia económica evidenciados en diferencias en la tasa de crecimiento, edad de maduración y la forma del cuerpo (Hansford & Hewitt, 1994). Incluso cuando no hay diferencias significativas entre los sexos en esos rasgos, puede ser ventajoso la utilización de poblaciones monosexuales en recintos destinados a crecimiento para evitar la reproducción no deseada (Lutz, 2001). Teniendo en cuenta esta información y las tasas de crecimiento mayores en los machos, el cultivo separado por sexo puede ser utilizado para optimizar el crecimiento en *C. interruptus* y en consecuencia mantener plantales escalonados en talla para suplir la demanda continua durante la temporada de pesca logrando un aprovechamiento más eficiente del recurso.

Conclusiones

Cheirodon interruptus mostró una rápida adaptación al confinamiento desde edades tempranas y a las condiciones de cultivo.

Se obtuvieron resultados semejantes de crecimiento a lo largo de todo el periodo de cultivo en dos sistemas diferentes: Acuarios y Estanques.

El fotoperíodo y la temperatura influyen sobre el crecimiento y son susceptibles de ser utilizados como herramientas de cultivo.

El modelo de crecimiento Logístico es el mejor ajuste presentó a los datos de edad- talla generados en las experiencias de cultivo en acuarios y estanques.

Cheirodon interruptus presenta un crecimiento diferencial por sexo donde se observa una mayor longitud final alcanzada en hembras y una tasa de crecimiento mayor en machos.

Capítulo VI: *Cheirodon interruptus* como modelo de bioensayos de toxicidad

VI.1. Introducción

Los agroecosistemas representan el paisaje dominante de la región pampeana que se caracteriza por presentar una extensa planicie de clima templado con suelos fértiles originalmente cubiertos por pastizales. Durante un largo período los productores agrícolas emplearon un sistema mixto de producción con ganadería y cultivos, principalmente trigo y maíz. La soja no fue un cultivo tradicional en nuestro medio hasta 1996, cuando la variedad genéticamente modificada resistente al glifosato fue introducida en el mercado y partir del año 2009 representó aproximadamente la mitad de la superficie total cultivada: 16,7 millones de ha (FAO 2012). La soja y sus derivados: aceites, harina y pellets se convirtieron en los principales productos de exportación y en la actualidad Argentina es el tercer productor de soja después de Estados Unidos y Brasil. Este cambio de paradigma productivo conduce a una simplificación estructural y funcional de los sistemas productivos que, si bien permite aumentar la productividad y rentabilidad inmediata, también aumenta los costos ambientales en términos de degradación del suelo, contaminación del agua y del aire, pérdida de diversidad biológica, y deterioro de servicios ecológicos esenciales (Viglizzo, 2007). En los últimos 22 años, al mismo tiempo que se expandió el cultivo de soja y el uso de variedades transgénicas, la utilización de plaguicidas aumentó un 858%, mientras que la superficie cultivada lo hizo en un 50% y el rendimiento de los cultivos sólo en un 30% (CASAFE, 2012). La profundización de un modelo basado en cultivos intensivos se traduce en un aumento en el uso de plaguicidas, el cual en Argentina fue de 73 millones de Kg /L en 1995 a 317 millones de Kg /L en el año 2012 (CASAFE, 2015).

El aumento de áreas cultivadas sumado al uso intensivo de agroquímicos, han contribuido en gran medida perjudicar la calidad de los recursos hídricos afectando la estructura y función de las comunidades naturales (Cooper, 1993; Allan, 2004). Los plaguicidas ingresan a los ecosistemas acuáticos a través de vías de entrada difusas, como la deriva de rociado, el escurrimiento o la percolación (Schafer *et al.*, 2011). En estos agroecosistemas los plaguicidas más utilizados corresponden en primer lugar al organofosforado clorpirifos, luego el organoclorado endosulfan y por último el piretroide cipermetrina (CASAFE 2012). Actualmente el uso del endosulfan se encuentra prohibido a partir del 1° de Julio de 2013, esto incluye su elaboración, formulación, comercialización y paulatinamente el uso de los productos que contengan el principio

activo, por resolución 511/2011 (SENASA, 2011). Este pretende ser reemplazado por otros plaguicidas piretroides y una de las posibilidades son los formulados con base de lambdacialotrina.

Lambdacialotrina y cipermetrina son plaguicidas piretroides que actúan a nivel del sistema nervioso central y se caracterizan por producir una apertura prolongada de los canales de sodio neuronales, impidiendo que el impulso nervioso vuelva a su estado basal, provocando tensión muscular, agotamiento de oxígeno y falla de miocardio. En cambio clorpirifos es un organofosforado que inhibe la actividad de la acetilcolinesterasa, enzima implicada en la sinapsis nerviosa y en la neurotransmisión muscular, produciendo efectos neurotóxicos. La acetilcolinesterasa causa hiperactividad provocando espasmos musculares involuntarios que pueden desencadenar parálisis y muerte (Demetrio, 2012).

Los estudios de riesgo ambiental se basan en la determinación de la concentración letal 50% (CL50) llevada a cabo en condiciones estándar de laboratorio, para algunos organismos que se utilizan como bioindicadores de contaminación. Las pruebas de toxicidad aguda proporcionan información sobre la letalidad de los agentes tóxicos mediante la exposición de organismos de prueba (Jop *et al.*, 1986). El valor de la CL50 indica la concentración de un compuesto a la cual muere el 50% de los individuos expuestos de una especie determinada luego de un cierto tiempo de exposición (Trautmann *et al.*, 2001). Los ensayos de laboratorio siguen tres tipos de diseños: estáticos, estáticos con renovación y flujo continuo. Las experiencias estáticas sin renovación implican que los organismos de prueba están expuestos a la misma solución durante todo el experimento. En cambio en las pruebas estáticas con renovación los organismos se exponen a una solución nueva con la misma concentración cada 24 horas u otro intervalo predeterminado. Las pruebas estáticas sin renovación presentan ventajas por ser simples y de bajo costo, se requieren recursos limitados (tiempo, espacio, mano de obra, equipo) y se necesita un volumen menor de la solución que se desea evaluar. También es de destacar que presentan dificultades metodológicas como el posible agotamiento del oxígeno disuelto como consecuencia de una alta demanda química de oxígeno (DQO) o demanda biológica de oxígeno (DBO).

La mayoría de las especies utilizadas en la determinación de la CL50 pertenecen a la fauna del hemisferio norte (Saha & Kaviraj 2003; Gul 2005; Belden y Lydy 2006; Suvetha *et al.* 2010, Saha *et al.*, 2018). Las especies más frecuentemente utilizadas son: *Pimephales promelas*, *Danio rerio*, *Cyprinus carpio*, *Oncorhynchus mykiss*, *Gambusia affinis*, *Ictalurus punctatus* y *Oreochromis niloticus*. Conocer la toxicidad de

numerosos compuestos para organismos que no se distribuyen en la región resulta de utilidad relativa en estudios de impacto ambiental, por lo tanto, es importante desarrollar estudios con organismos representativos de la fauna regional, que sean sensibles y que puedan tener una función indicadora. Los diferentes protocolos estandarizados pueden ser aplicados a especies locales para determinar la CL50 y así tener un estudio de base para ambientes regionales.

La evaluación de la toxicidad de plaguicidas sobre especies representativas de la fauna de nuestro medio resulta relevante ya que permite conocer la sensibilidad relativa del organismo estudiado en relación a las especies ampliamente utilizadas en bioensayos de toxicidad. Los modelos de distribución de sensibilidad de especies (Species Sensitivity Distribution, SSD) (van Straalen, 2002) ajustan la variación de la sensibilidad de diferentes especies a un factor de estrés basado en datos obtenidos en ensayos de laboratorio. Este análisis permite establecer criterios en la evaluación de riesgo de un compuesto mediante el cálculo de HC (“hazardous concentrations”) o concentraciones peligrosas, es decir la concentración a que un compuesto afecta a un grupo de especies (Hose, 2005).

Cheirodon interruptus es una especie ampliamente distribuida en la región pampeana, es abundante y habita gran diversidad de ambientes (ver Capítulo I). La representatividad que tiene en la región en adición a que es susceptible de ser criado en cautiverio (ver Capítulo III) lo posiciona como un potencial organismo para ser utilizado en bioensayos de toxicidad.

VI.1.2 Objetivos

*Determinar la CL50 para lambdacialotrina, clorpirifos y cipermetrina, utilizando formulados comerciales mediante ensayos estáticos con renovación de medio para *C. interruptus*.

*Comparar las CL 50 obtenidas para lambdacialotrina en *C. interruptus* mediante ensayos estáticos con y sin renovación de medio.

*Evaluar la sensibilidad de *C. interruptus* en relación a otras especies de peces y su utilización para bioensayos de toxicidad.

VI.2 Materiales y métodos

VI.2.1. Organismo ensayado

Los peces utilizados para los ensayos de laboratorio fueron obtenidos mediante la reproducción de poblaciones mantenidas en cautiverio en el sistema estanques (ver Capítulo III) a partir de los sucesivos desoves obtenidos en primavera (2015-2017). Las larvas se criaron en el sistema hasta que expresaron los caracteres sexuales secundarios, a una talla de 2,41 cm ($\pm 0,11$) de longitud estándar y 0,26 g ($\pm 0,11$). Según Ferriz *et al.*, (2011) esa talla corresponde a la primera madurez sexual para *C. interruptus*. Dos semanas antes del comienzo de las experiencias los peces fueron trasladados al laboratorio.

VI.2.2. Plaguicidas

Los ensayos se llevaron a cabo con los plaguicidas lambdacialotrina, cipermetrina y clorpirifos. En la tabla VI. 1 se enumeran los plaguicidas utilizados para los ensayos, su fórmula y su nombre (IUPAC).

Tabla VI.1. Plaguicidas utilizados en las pruebas de laboratorio.

Plaguicida	Fórmula	Nombre
Lambda cialotrina	$C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$	[cyano-(3-fenoxifemial)metil] (1R,3R)-3-[(Z)-2-cloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enil]-2,2-dimetil ciclopropano-1-carboxilato
Clorpirifos	$C_9H_{11}Cl_3NO_3P$ S	O,O-dietil O-3,5,6-tricloro-2-piridil fosforotioato
Cipemetrina	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	[ciano-(3-fenoxifenil) metil] 3-(2,2-dicloroetenil)-2,2dimetilciclopropano-1-carboxilato.

Las soluciones stock de los plaguicidas se prepararon por separado en acetona grado plaguicida (Baker) hasta alcanzar una concentración nominal de 1ppm y fueron almacenadas en frío en botellas de de vidrio de 100 ml color caramelo. Los ensayos se realizaron con los siguientes formulados comerciales (FC):

- Zero® (Gleba) con 5% de ingrediente activo lambdacialotrina. Se preparó una solución stock de 100 ml en acetona obteniendo una concentración nominal de 1000 ppm. Las concentraciones nominales utilizadas fueron 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,1; 1,2; 1,3; 1,4; 1,5; 1,7 $\mu\text{g/L}$; para los bioensayos con recambio y sin recambio de medio.
- Clorpi® (Ciagro Santa Fe) con 48% de ingrediente activo Clorpirifos. Se preparó una solución stock de 100 ml en acetona obteniendo una concentración nominal de 1000 ppm. Las concentraciones nominales utilizadas fueron 100; 150; 200; 250; 300; 350;

400 µg/L.

- Galgotrin® (Chemotechnia) con 25% de ingrediente activo cipermetrina. Se preparó una solución stock de 100 ml en acetona obteniendo una concentración nominal de 1000ppm. Las concentraciones nominales utilizadas fueron 400; 600; 800; 1000; 1200 µg/L.

VI.2.3. Protocolos aplicados

Se siguió la metodología estandarizada propuesta por USEPA, (2002) para bioensayos estáticos con y sin recambio de medio. Se realizaron diferentes bioensayos preliminares para seleccionar el rango de concentraciones apropiado para el desarrollo de las pruebas (range-finding test).

Diez individuos fueron expuestos en cada concentración por triplicado en una solución con un volumen final de 2,5 L con agua de red decolorada en recipientes de vidrio de 3 L. Los bioensayos se realizaron sin alimentación a $22 \pm 1^\circ\text{C}$, pH: 7-7,3 y conductividad: 600-700 µS/cm. El oxígeno disuelto se mantuvo por encima de los 5 mg/L y el fotoperíodo fue natural. Las lecturas de mortalidad se realizaron a las 24, 48, 72 y 96 hs. de exposición. Los individuos muertos fueron removidos inmediatamente al finalizar las lecturas. Los controles se realizaron con agua de red decolorada sin plaguicida y se adicionó el volumen de acetona grado plaguicida utilizado en la concentración de la dilución más elevada.

En los bioensayos para lambdacialotrina donde se realizó renovación de medio, la misma se efectuó cada 24 horas trasladando los peces a una nueva solución, garantizando de esta manera que los individuos estén expuestos a la misma concentración. Se consideraron únicamente los bioensayos donde ocurrió una mortalidad menor al 10 % para los controles (USEPA 2002). Los bioensayos para cada plaguicida (con tres réplicas para cada concentración y los controles) se repitieron tres veces con una periodicidad de 30 días.

VI.2.4. Análisis de datos

Se determinó la CL50 y los límites de confianza al 95% mediante el método Probit con los valores de mortalidad obtenidos a 96 hs (respuesta). Con los tres valores de CL50 obtenidos para cada plaguicida se calculó un promedio y se definió un único valor de CL50 para *C. interruptus*. Se realizó un test de t (Student) para comparar los valores de la CL50 y las pendientes de las curvas obtenidas para lambdacialotrina con y sin

recambio de medio.

El modelo de distribución de sensibilidad de especies (Species Sensitivity Distribution, SSD) ajusta los datos provenientes de bioensayos de toxicidad aguda a una distribución normal-logarítmica linearizada, obteniéndose una curva de distribución de sensibilidad de las especies para el compuesto estudiado. Para la elaboración de la curva se utilizó como respuesta la mortalidad del 50% de los individuos, es decir la CL50, de un compuesto para diferentes especies. Se tomaron los valores de CL50 obtenidos para *C. interruptus* de lambdacialotrina con y sin recambio de medio y de clorpirifos. Se compararon los resultados obtenidos con los valores de CL50 de otras especies de peces utilizados en ecotoxicología. Los datos se obtuvieron tanto de la base de datos ECOTOX (USEPA 2002) y de diferentes trabajos que reportan valores de CL50 para peces a 96h de exposición. Se realizó una selección de los resultados hallados en base a la metodología utilizada, la edad de los organismos y el tiempo de exposición con el objetivo de generar resultados comparables a los obtenidos en el presente trabajo. Los trabajos realizados en larvas no se tuvieron en cuenta para establecer comparaciones debido a que los peces presentan una sensibilidad diferenciada en las distintas etapas del desarrollo (Mohammed, 2013) Se seleccionaron 18 registros para lambdacialotrina y 35 registros para clorpirifos. Se calculó la distribución de sensibilidad de especies mediante el software CADDIS generator (USEPA 2015).

VI.3. Resultados

El valor promedio de la CL50 para lambdacialotrina realizado con recambio de medio (C/R) fue de 0,53 (\pm 0,02) $\mu\text{g/L}$ y sin recambio (S/R) fue de 0,922 (\pm 0,08) $\mu\text{g/L}$. Los resultados del método Probit para las tres repeticiones de cada bioensayo se muestran en las tablas VI.2 y VI.3.

Tabla VI. 2. Resultados del método Probit para lambdacialotrina con recambio de medio a 96 hs. Concentración en µg/L y límites de confianza del 95%.

CL (%)	Concentración (µg/L)		
1	0,309 (0,24-0,35)	0,298 (0,225-0,349)	0,377 (0,3-0,43)
5	0,36 (0,3-0,403)	0,356 (0,288-0,40)	0,428 (0,36-0,47)
10	0,391 (0,33-0,43)	0,391 (0,328-0,435)	0,458 (0,4-0,5)
15	0,414 (0,36-0,45)	0,417 (0,358-0,459)	0,479 (0,42-0,52)
50	0,523 (0,484-0,560)	0,547 (0,505-0,589)	0,582 (0,55-0,62)
85	0,661 (0,613-0,737)	0,717 (0,658-0,817)	0,707 (0,66-0,78)
90	0,698 (0,64-0,79)	0,764 (0,695-0,889)	0,74 (0,69-0,83)
95	0,758 (0,69-0,88)	0,841 (0,752-1,012)	0,792 (0,73-0,92)
99	0,884 (0,781-1,091)	1,005 (0,869-1,294)	0,9 (0,81-1,1)
Pendiente	10,19 ± 1,422 (7,25-13,13)	8,8 ± 1,313 (6,23-11,38)	12,3 ± 1,95 (8,46-16,14)
Intersección	7,87 ± 0,422 (7,045-8,7)	7,3 ± 0,355 (6,61-8,005)	7,9 ± 0,46 (6,98-8,8)

Tabla VI.3. Resultados del método Probit por triplicado para lambdacialotrina sin recambio de medio a 96 hs. Concentración en µg/L y límites de confianza del 95%

CL (%)	Concentración (µg/L)		
1	0,638 (0,514-0,719)	0,423 (0,315-0,504)	0,545 (0,439-0,624)
5	0,72 (0,61-0,792)	0,515 (0,411-0,59)	0,645 (0,547- 0,717)
10	0,768 (0,668-0,835)	0,573 (0,474-0,643)	0,706 (0,615- 0,773)
15	0,803 (0,71-0,866)	0,615 (0,521-682)	0,750 (0,665- 0,814)
50	0,966 (0,901-1,028)	0,829 (0,762-891)	0,971 (0,908- 1,032)
85	1,162 (1,087-1,284)	1,119 (1,032-1,256)	1,256 (1,170- 1,387)
90	1,214 (1,129-1,362)	1,201 (1,098-1,377)	1,335 (1,234- 1,497)
95	1,296 (1,192-1,489)	1,334 (1,199-1,581)	1,461 (1,333- 1,680)
99	1,463 (1,316-1,766)	1,624 (1,409-2,060)	1,730 (1,535- 2,093)
Pendiente	12,89 ± 2,05 (8,87- 16,91)	7,96 ± 1,11 (5,78- 10,14)	9,26 ± 1,17 (6,96- 11,57)
Intersección	5,19 ± 0,17 (4,84 -5,54)	5,64 ± 0,13 (5,38- 5,91)	5,11 ± 0,12 (4,87- 5,36)

La CL50 para lambdacialotrina en el ensayo realizado con recambio de medio resultó significativamente menor ($t = -7,534$; $p = 0,002$) que en la determinada en las experiencias sin recambio. No se observaron diferencias significativas en las pendientes calculadas por el método Probit para las dos experiencias ($t = 0,219$; $P = 0,837$).

La CL50 promedio para clorpirifos con recambio de medio fue de $89,3 (\pm 7,3)$ $\mu\text{g/L}$. Los resultados del método Probit las tres repeticiones de la experiencia para clorpirifos se muestra en la tabla VI.4.

Tabla VI.4. Resultados del método Probit por triplicado para clorpirifos con recambio de medio a 96 hs. de exposición. Concentración en $\mu\text{g/L}$ y límites de confianza del 95%

CL (%)	Concentración ($\mu\text{g/L}$)		
1	194 (167-212)	187 (145-214)	71,7 (29-108)
5	216 (193-232)	213 (175-237)	108 (57-146)
10	229 (208-244)	228 (194-250)	135 (81-172)
15	238 (219-252)	240 (208-260)	157 (103-193)
50	281 (267-294)	293 (273-309)	294 (254-343)
85	331 (315-355)	357 (336-392)	552 (444-863)
90	344 (326-372)	374 (350-418)	641 (498-1093)
95	365 (343-401)	401 (371-462)	799 (587-1557)
99	407 (375-462)	457 (411-558)	1208 (796-3039)
Pendiente	$14,4 \pm 1,9$	12 ± 2	$3,8 \pm 0,75$
	(10,7-18,1)	(8,05 – 15,9)	(2,3 – 5,3)
Intersección	$-30,4 \pm 4,6$	$-24,5 \pm 5$	$-4,37 \pm 1,8$
	(-39,4; -21,3)	(-34,3; -14,8)	(-7,9; -0,8)

La tolerancia de *C. interruptus* al pesticida cipermetrina resultó elevada e inconsistente a lo largo de numerosos bioensayos realizados. Las experiencias mostraron aleatoriedad en los resultados impidiendo el cálculo preciso de la CL50. No se observó mortalidad en los controles en ninguna de las experiencias.

La curva de distribución de sensibilidad de especies muestra que *C. interruptus* se encuentra debajo del 10% de las especies con mayor sensibilidad a lambdacialotrina para las experiencias con recambio de medio y cercano al 30% para los bioensayos sin renovación (Figura VI.1). Para clorpirifos se observó una sensibilidad media ya que se encontró entre el 40% de especies sensibles (Figura VI.2).

Tabla VI.5. Concentraciones letales de lambdacialotrina de diferentes especies de peces

Especies	Concentración (µg/L)	Autor
<i>Leuciscus idus</i>	0,08	U.S. EPA, 1993
<i>Cheirodon interruptus</i>(C/R)	0,55	Este trabajo
<i>Labeo rohita</i>	0,7	Dey & Saha, 2014
<i>Pimephales promelas</i>	0,7	Maund <i>et al.</i> , 1998
<i>Cyprinodon variegates</i>	0,81	Hill, 1985c
<i>Cheirodon interruptus</i> (S/R)	0,92	Este trabajo
<i>Gambusia affinis</i>	1,11	Guner, 2009
<i>Oryzias latipes</i>	1,4	Maund <i>et al.</i> , 1998
<i>Dario rerio</i>	1,9	Wang <i>et al.</i> , 2017
<i>Poecilia reticulata</i>	2,3	Maund <i>et al.</i> , 1998
<i>Tilapia sp.</i>	2,6	Bajet <i>et al.</i> , 2012
<i>Oreochromis niloticus</i>	2,9	Piner & Uner 2012
<i>Clarias batrachus</i>	5	Kumar <i>et al.</i> , 2009
<i>Lepomis macrochirus</i>	5,3	U.S. EPA, 1992
<i>Brycon amazonicus</i>	6,5	Morales <i>et al.</i> , 2013
<i>Channa punctata</i>	7,9	Kumar <i>et al.</i> , 2007
<i>Clarias gariepinus</i>	8	Ogueji, 2008
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	13	U.S. EPA, 1994

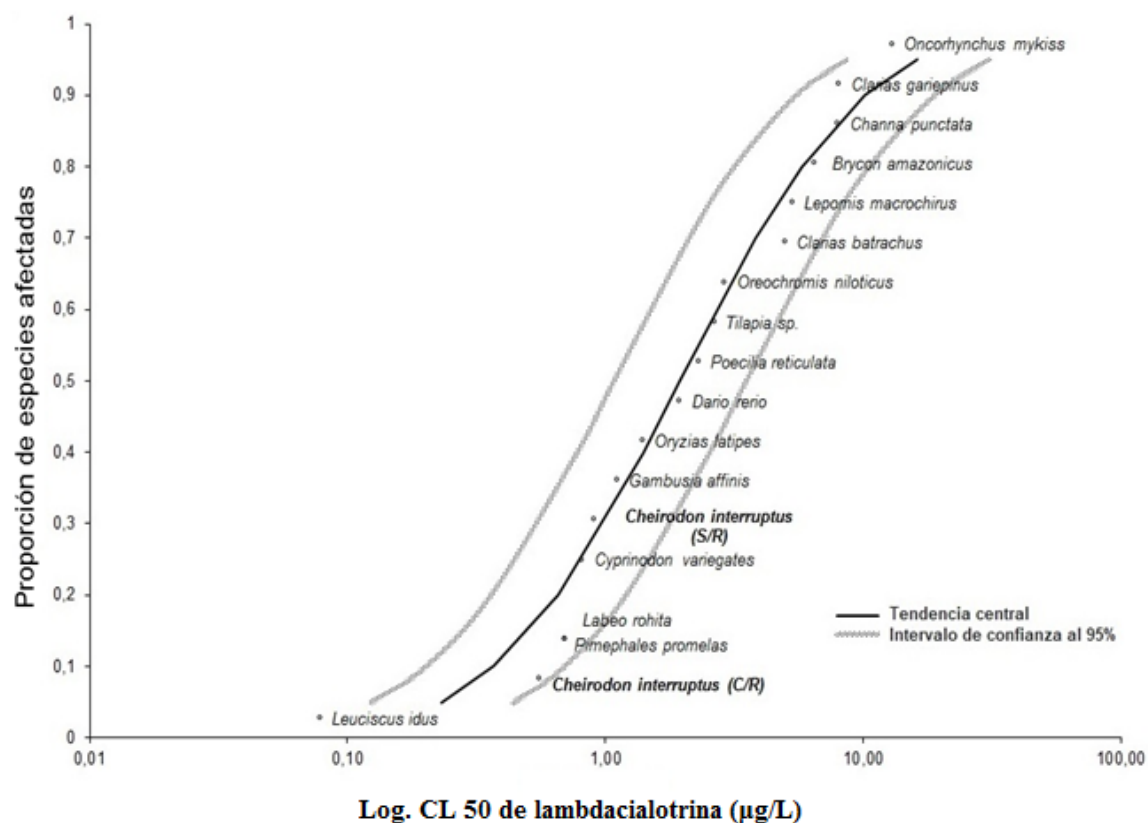


Figura VI.1. Sensibilidade de *C. interruptus* comparada com a de outros peixes, calculada por la distribución de sensibilidad de especies (SSDs) para lambdacialotrina con recambio (C/R) y sin recambio (S/R) usando datos de toxicidad aguda para 96 horas.

Tabla VI.6. Concentraciones letales de clorpirifos de diferentes especies de peces

Especies	Concentración (µg/L)	Autor
<i>Pungitius</i>	4,7	Van Wijngaarden <i>et al.</i> , 1993
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	8,5	Van Wijngaarden <i>et al.</i> , 1993
<i>Bidyanus</i>	17	Patra <i>et al.</i> , 2007
<i>Oreochromis mossambicus</i>	26	Rao <i>et al.</i> , 2003
<i>Cnesterodon decemmaculatus</i>	105	Paracampo <i>et al.</i> , 2014
<i>Pimephales promelas</i>	140	Roex <i>et al.</i> , 2002
<i>Gambusia affinis</i>	150	Boone & Chambers 1996
<i>Oreochromis niloticus</i>	150	Oruç, 2010
<i>Poecilia reticulata</i>	176	Sharbidre <i>et al.</i> , 2011
<i>Pimephales promelas</i>	200	Belden & Lydy 2006
<i>Tilapia zillii</i>	240	Shereif <i>et al.</i> , 1989
<i>Salvelinus namaycush</i>	244	Mayer <i>et al.</i> , 1986
<i>Rutilus</i>	280	Tilak <i>et al.</i> , 2004
<i>Ictalurus punctatus</i>	280	Tilak <i>et al.</i> , 2004
<i>Cheirodon interruptus</i>	289	Este trabajo
<i>Gambusia affinis</i>	297	Kavitha & Rao, 2008
<i>Oryzias latipes</i>	300	Carlson <i>et al.</i> , 1998
<i>Labeo rohita</i>	470	Tilak <i>et al.</i> , 2004
<i>Gambusia affinis</i>	520	Varó <i>et al.</i> , 2000
<i>Anguilla</i>	540	Ferrando <i>et al.</i> , 1991
<i>Carassius auratus</i>	542	Tilak <i>et al.</i> , 2004
<i>Pimephales promelas</i>	542	Phipps <i>et al.</i> , 1985
<i>Cyprinus carpio</i>	582	Xing <i>et al.</i> , 2015
<i>Pimephales promelas</i>	806	Tilak <i>et al.</i> , 2004
<i>Channa punctata</i>	812	Ali <i>et al.</i> , 2009
<i>Clarias gariepinus</i>	920	Ogueji, 2008
<i>Oreochromis niloticus</i>	1023	Giron-Perez <i>et al.</i> , 2006
<i>Oreochromis niloticus</i>	1570	Gül, 2005
<i>Catla</i>	1660	Hossain <i>et al.</i> , 2000
<i>Poecilia reticulata</i>	1790	Selvi <i>et al.</i> , 2005
<i>Ictalurus punctatus</i>	2077	Dalvi <i>et al.</i> , 1998
<i>Cirrhinus mrigala</i>	2350	Hossain <i>et al.</i> , 2000
<i>Carassius auratus</i>	3270	Wang <i>et al.</i> , 2009
<i>Danio rerio</i>	13030	Wang <i>et al.</i> , 2017
<i>Clarias macrocephalus</i>	33000	Chawanrat <i>et al.</i> , 2007

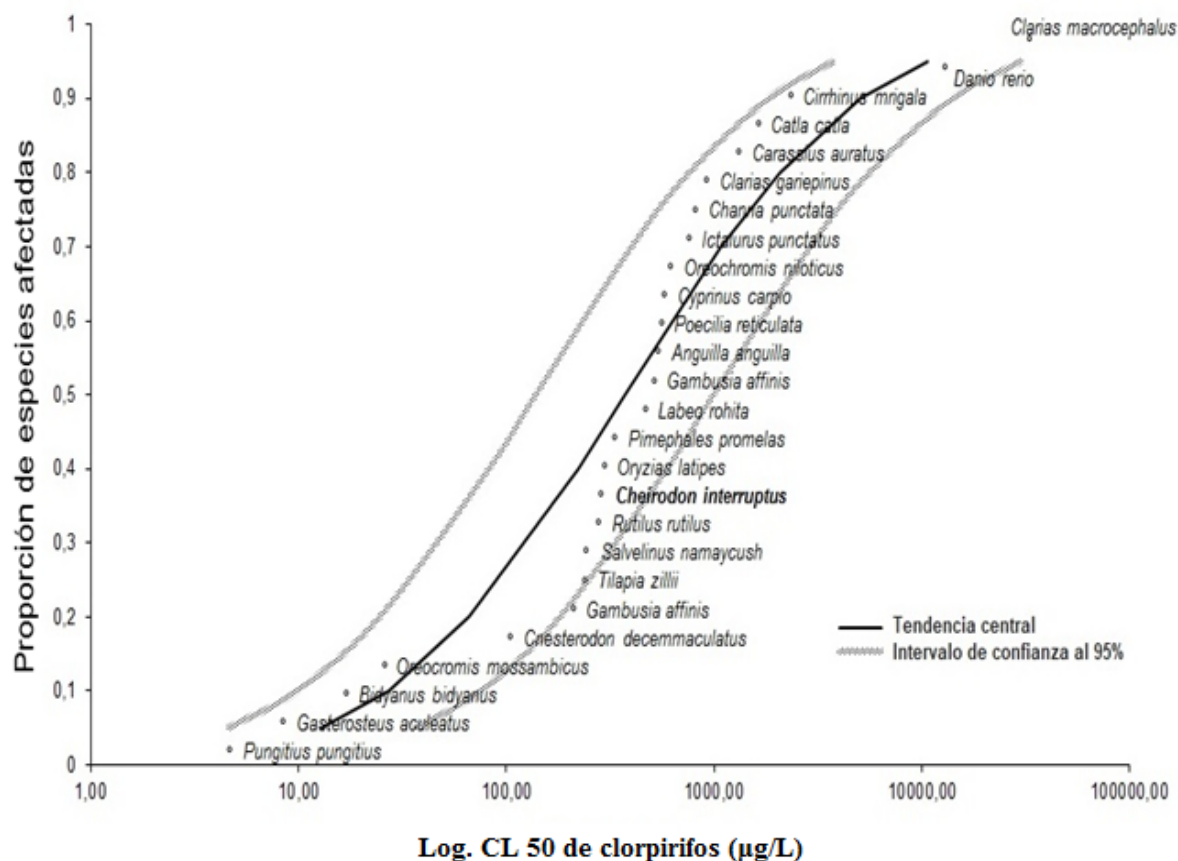


Figura VI. 2. Sensibilidad de *C. interruptus* comparada con la de otros peces, calculada por la distribución de sensibilidad de especies (SSDs) para clorpirifos con recambio de medio utilizando datos de toxicidad aguda para 96 horas.

VI.4. Discusión

Los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que lambdacialotrina es el compuesto que presenta mayor toxicidad para *C. interruptus*, evidenciado por los valores de CL 50, dos órdenes de magnitud mayores a las registradas para clorpirifos y cipermetrina. La tolerancia observada de *C. interruptus* para el pesticida cipermetrina, resultó ser elevada y variable en los bioensayos realizados. Debido a la inestabilidad de los resultados y la imposibilidad de obtener de límites de confianza mediante el método Probit en las CL 50 obtenidas, es necesario realizar pruebas adicionales para tener mayores precisiones.

En este estudio se observó una toxicidad significativamente mayor en los bioensayos para lambdacialotrina realizados con recambio de medio. Esta diferencia puede estar relacionada con el mantenimiento de la concentración del plaguicida en los

niveles iniciales. El decaimiento de los pesticidas en las metodologías estáticas sin renovación depende de la degradación química, volatilización y la solubilidad en agua del compuesto (Lincer, 1970). Adicionalmente los pesticidas pueden ser retenidos por los detritos generados y las superficies de los acuarios (Holden, 1962). Buikema *et al.*, 1983 recomiendan pruebas estáticas con renovación o flujo continuo si un compuesto de prueba es volátil o se degrada rápidamente. Se sugiere que la degradación del material de prueba debe ser menor al 10% en un plazo de 4 días período para el método estático sin renovación (Jop *et al.*, 1986). Los bioensayos con renovación de medio permiten obtener información acerca de los efectos de los plaguicidas sobre los organismos aunque este tipo de exposición no sea lo que comúnmente ocurre en ambiente.

Una de las principales vías de ingreso de los plaguicidas a los cuerpos de agua naturales es la escorrentía superficial (Schulz, 2001). Existen trabajos que estudiaron la ocurrencia de pulsos de toxicidad en la escorrentía superficial ocurridos posteriormente a la aplicación de plaguicidas y a eventos de precipitaciones. Jergentz *et al.*, (2004) detectaron pulsos de toxicidad asociados a eventos de lluvia en arroyos de la provincia de Buenos Aires durante el período de aplicación de plaguicidas en los cultivos. Mugni *et al.*, (2011) detectaron la ocurrencia de pulsos de toxicidad en agua del cauce y de escorrentía superficial en coincidencia con las primeras lluvias con posterioridad a la aplicación de plaguicidas en el cultivo adyacente, en el arroyo del Sauce en la provincia de Buenos Aires. Paracampo *et al.*, (2012) determinaron que el agua de escorrentía superficial de cultivos experimentales de soja resultó tóxica para los peces de los ambientes adyacentes con posterioridad a las aplicaciones de pesticidas. La persistencia de la toxicidad que registraron fue variable dependiendo del plaguicida utilizado y del momento de la aplicación.

Los factores que influyen en la toxicidad de la escorrentía involucran el tiempo de aplicación relativa a la lluvia, la cantidad total de precipitaciones y las propiedades fisicoquímicas de los pesticidas particulares que se utilizan (Wauchope, 1978). Además, la concentración de los plaguicidas en los cuerpos de agua decae por diferentes procesos, como dilución, renovación permanente del agua, fotólisis o la adsorción por los sedimentos y sólidos suspendidos. Carriquiriborde *et al.*, (2007) estudiaron la toxicidad de cipermetrina para el pez *Cheirodon decemmaculatus* en bioensayos de laboratorio siguiendo los procedimientos estándar con agua de red de clorinada y con agua colectada de un arroyo pampeano. La concentración letal obtenida con agua de red de clorinada resultó un orden de magnitud menor que la obtenida en el agua del

arroyo, interpretándose la diferencia como resultado de la interacción entre el plaguicida, la materia orgánica y los sólidos suspendidos presentes en el agua del arroyo. El trabajo mencionado evidencia la dificultad para interpretar el impacto de la práctica agrícola en la fauna residente en función de las dosis letales determinadas en laboratorio con los procedimientos estándar. Adicionalmente la presencia de macrófitas en los cuerpos de agua también afectan las concentraciones de plaguicidas que ingresan por escorrentía superficial. Las macrófitas disminuyen la velocidad del agua favoreciendo el asentamiento de la materia suspendida junto con los contaminantes asociados (Wharton *et al.*, 2006). También se ha reportado que los macrófitos retienen pesticidas. Di Marzio *et al.*, (2005) realizaron experiencias de laboratorio y demostraron que *Vallisneria spiralis* adsorbe endosulfán de sedimentos contaminados. Mugni *et al.* (2009) estudiaron en experiencias de mesocosmos la toxicidad de cipermetrina para *Hyalella curvispina* con y sin una cubierta vegetal de la macrófita flotante *Lemna sp.* Tanto las concentraciones como la toxicidad disminuyeron más rápidamente en los tratamientos en los que se adicionó *Lemna sp.*, sugiriendo una rápida adsorción del pesticida hidrofóbico a las raíces y hojas por parte de esta macrófita.

Por lo mencionado anteriormente la ocurrencia de un pulso de toxicidad por escorrentía, los organismos resultan momentáneamente expuestos a una concentración máxima que luego disminuye. Por lo tanto, la exposición a plaguicidas en un arroyo será episódica y efímero. Teniendo en cuenta las limitaciones para emular la complejidad del ambiente, los procesos de escorrentía superficial y el decaimiento de las concentraciones de plaguicidas en condiciones de laboratorio, se asume que los bioensayos estáticos sin renovación representan una mejor aproximación a los pulsos de toxicidad observados en el ambiente en comparación a los ensayos donde se mantienen las concentraciones debido a la renovación.

Existen varios trabajos que reportan concentraciones de plaguicidas en nuestra región. Jergentz *et al.* (2005) estudiaron dos arroyos en Arrecifes (provincia de Buenos Aires), una de las principales áreas de cultivo de soja de Argentina, y midieron concentraciones de cipermetrina de 0,05 a 0,7 µg/L en agua y de 0,13 a 0,5 µg/L en agua de escorrentía superficial. Marino y Ronco (2005) determinaron 0,29 a 194 µg/L en agua de arroyos del sistema Pergamino-Arrecifes. Mugni *et al.* (2011) determinaron la presencia de cipermetrina en una concentración de 92 µg/L en el agua de escorrentía superficial producida por la primera lluvia con posterioridad a la aplicación de un cultivo adyacente.

En relación a los valores ambientales las medidas de lambdacialotrina en arroyos

pampeanos son escasas y fueron realizadas en sedimento. Hunt *et al.*, (2016) determinaron valores en arroyos de la localidad de Arrecifes, Buenos Aires entre 0,42 y 6 ng/g. Mac Loughlin *et al.*, (2017) y Sansiñena *et al.*, (2018) midieron concentraciones de lambdacialotrina en el rango de 1,48 a 649 ng/g y 48,6 a 265 µg/kg respectivamente en el arroyo Carnaval, provincia de Buenos Aires. *C. interruptus* forma parte habitualmente de los ensambles de peces de los arroyos pampeanos. Si bien el sedimento no está en contacto directo con organismos como *C. interruptus* por sus hábitos de vida, la concentración de lambdacialotrina hallada en sedimento evidencia la ocurrencia de pulsos de toxicidad de consideración. Por lo tanto, si bien no se tienen registros de determinaciones en agua para lambdacialotrina, las medidas informadas en sedimento podrían indicar concentraciones en agua que causen mortalidad en *C. interruptus*.

Mugni *et al.*, (2011) y Marino & Ronco (2005) registraron concentraciones de clorpirifos en agua en rangos de 0,01-17 µg/L y 0,2 – 10,8 µg/L respectivamente en zonas con alta densidad de cultivos de la provincia de Buenos Aires. La CL50 determinada para *C. interruptus* es mucho mayor a los valores determinados en agua para que ocurran eventos de mortalidad, no obstante podrían existir efectos subletales. Bonifacio *et al.*, (2017) evaluaron los efectos de formulados comerciales de clorpirifos en *C. interruptus* utilizando concentraciones comparables con las observadas en arroyos que atraviesan agroecosistemas. Los autores observaron efectos en la actividad natatoria y además una inhibición de la actividad de la enzima catalasa en el cerebro de *C. interruptus*.

Del análisis comparativo realizado con las especies más ampliamente utilizadas en bioensayos de toxicidad para clorpirifos, *C. interruptus* registró una sensibilidad media, presentando mayor sensibilidad que *Cyprinus carpio*, *Gambusia affinis*, *O. mykiss* y *D. rerio*. *C. interruptus* resultó más tolerante que la especie nativa *Cnesterodon decemmaculatus*, CL50 103,5 µg/L (Paracampo *et al.*, 2014).

En relación al pesticida lambdacialotrina *C. interruptus* resultó una de las especies de peces más sensibles. Presentó mayor sensibilidad que la registrada para *Dario rerio*, *Oreochromis* sp, *Oncorhynchus mykiss* y *Poecilia reticulata*. La única especie más sensible que *C. interruptus* considerando los bioensayos con renovación de medio fue *Leuciscus idu*; y para los bioensayos sin renovación *Pimephales promelas*, *Labeo rohita* y *Cyprinodon variegatus*. No obstante, ninguna de estas especies se distribuye naturalmente en Argentina y en algunos casos los bioensayos fueron realizadas con individuos juveniles. Los resultados obtenidos permiten concluir que *C. interruptus* es

una especie apropiada para estudiar el impacto de este compuesto.

Desarrollar estudios con especies autóctonas permite comprender de manera integrada la estructura y la dinámica de los sistemas, permite establecer límites o niveles guía de sustancias o tóxicos utilizados en la región y establecer pautas de manejo adecuadas. *C. interruptus* presenta características apropiadas para su utilización en bioensayos de toxicidad como la resistencia a la manipulación, la tolerancia a la variación de los parámetros físico-químicos del agua y la factibilidad de ser criado en cautiverio. Teniendo en cuenta la amplia distribución de *C. interruptus*, la representatividad que tiene en diferentes ambientes pampeanos y la sensibilidad observada a lambdacialotrina, es una especie adecuada para ser utilizada como un organismo centinela para la evaluación del riesgo ambiental tanto aguda como crónica.

Consideraciones finales

En relación con las hipótesis planteadas en el capítulo I de esta tesis, se puede decir que *C. interruptus* presenta características apropiadas para ser criada en establecimientos acuícolas. Lo expresado se sustenta en la rápida adaptación que esta especie mostró a las distintas condiciones de cultivo a la que fue sometida durante este trabajo, aceptando ser mantenida en espacios reducidos y en altas densidades con tasas de mortalidad muy bajas tanto en acuarios, estanques como jaulas flotantes. En este trabajo también se evidenció la factibilidad de su reproducción de forma natural en sistemas de diferentes escalas de tamaño y nivel de supervisión. Además, por las características mencionadas, es posible afirmar que se trata de una especie idónea para la realización de experiencias en laboratorio debido a que también pudo probarse que se los puede anestesiar y manipular con sencillez sin estresarlos ni causarles daños ni traumas que comprometan los resultados experimentales.

Teniendo en cuenta lo expresado precedentemente sumado a la tolerancia y la adaptabilidad que tiene la especie a distintas condiciones de traslado y acopio que pudieron comprobarse en los puestos de venta de carnada, se comprende porque *C. interruptus* es la preferida tanto de los acopiadores de carnada y de los propios pescadores.

Este conjunto de observaciones permiten concluir que el cultivo de *C. interruptus* en cautiverio no solo es factible sino que también dada su aceptación tiene alta demanda y elevado precio en el mercado, de manera que el desarrollo de su acuicultura podría resolver los actuales problemas de explotación de poblaciones silvestres y generar una nueva actividad productiva en la región.

En esta tesis por primera vez se ha indagado sobre aspectos de la biología reproductiva de *C. interruptus* bajo condiciones controladas. Los conocimientos generados acerca de los efectos de las variables ambientales (fotoperíodo y temperatura) sobre la maduración gonadal representan herramientas factibles de ser utilizadas en emprendimientos acuícolas. Los experimentos realizados evidencian la posibilidad de inducir, mantener o retrasar el desarrollo del tejido ovárico. La aplicación práctica de estos conocimientos puede brindar un importante apoyo teórico para el manejo de plantales reproductores, contribuyendo a la sincronización del desove y por lo tanto maximizar el aprovechamiento de los recursos disponibles en los establecimientos acuícolas.

Cheirodon interruptus muestra un crecimiento en cautiverio rápido y diferenciado por sexo. Según el modelo matemático de crecimiento individual en talla que mostró el mejor ajuste a los datos empíricos (modelo Logístico) indica que para alcanzar el primer tamaño de venta es necesario un tiempo de crianza mínimo de 83 días desde la eclosión, poniendo de manifiesto la posibilidad de poder realizarse entre 3 o 4 ciclos productivos al año utilizando la mismas instalaciones.

Conocer este rasgo de la biología de la especie es de carácter fundamental para la planificación de la producción en función de la estacionalidad de la demanda. En este trabajo pudo probarse además que el crecimiento es susceptible de ser manipulado mediante el manejo del fotoperíodo y la temperatura. Esto resulta de particular interés para el manejo de la especie en cultivo ya que da la pauta de que es posible estimular o desacelerar el crecimiento, utilizando herramientas sencillas, conforme las necesidades del productor o las exigencias del mercado.

Teniendo en cuenta el crecimiento y el período natural de reproducción que ocurre en primavera, el cultivo extensivo o semi extensivo de la especie sería una alternativa productiva muy factible. Esto sería así porque conforme los modelos de crecimiento los individuos llegarían al inicio de la temporada de pesca de pejerrey (marzo) con tallas adecuadas para la venta y dado que la pesca transcurre durante el invierno cuando la temperatura y el fotoperíodo son bajos, no tendrían cambios significativos de talla manteniendo la calidad del producto. Teniendo en cuenta los tiempos de reproducción natural, la posibilidad de manipulación de la madurez gonadal y el conocimiento de los tiempos requeridos para alcanzar el tamaño de comercialización permiten establecer diferentes estrategias dirigidas a ordenar el manejo de la especie bajo distintas condiciones de cautiverio y establecer pautas para su cultivo y producción planificada.

Por otro lado, los ensayos de toxicidad de plaguicidas en *C. interruptus* evidenciaron la factibilidad de su utilización como modelo experimental. La extensa distribución y representatividad de *C. interruptus* en diferentes ambientes pampeanos y la alta sensibilidad observada al piretroide lambdacialotrina, sugiere que es una especie adecuada para ser utilizada como un organismo centinela en las evaluaciones del riesgo ambiental.

La acuicultura argentina está principalmente orientada a especies de mayor tamaño principalmente para consumo y la obtención de subproductos que es diferente a la producción de carnada cuyo precio por kilogramo supera ampliamente la de los

productos tradicionales. La consolidación de *C. interruptus* en la acuicultura argentina tiene la potencialidad de ocupar un lugar vacante y además representar no solo una actividad redituable para el productor sino también una solución real a los daños ambientales asociados a prácticas extractivistas. El hecho de que *C. interruptus* sea una especie que se adapte a distintas condiciones de mantenimiento hacen de esta especie un candidato adecuado para desarrollar emprendimientos a gran escala en distintas zonas de la región pampeana. De esta manera es factible ofrecer una alternativa a la explotación de poblaciones naturales y disponer de un stock estandarizado para su utilización en bioensayos de toxicidad.

Perspectivas a futuro

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este trabajo resultaría de interés continuar el estudio de los rasgos ecológicos de *C. interruptus* a fin de optimizar el sistema de cría posibilitando su implementación a gran escala. Este salto cuantitativo se puede dar mediante el desarrollo de herramientas tecnológicas para la especie como la inducción hormonal del desove a fin de sincronizar la mayor cantidad de hembras y en consecuencia maximizar la cantidad de larvas obtenidas en el momento elegido.

También es interesante continuar el desarrollo del cultivo en jaulas flotantes para *C. interruptus* ya que en las experiencias realizadas en esta tesis doctoral se registraron desoves exitosos en épocas que a priori se considerarían desfavorables para la reproducción. Por lo tanto sería de interés evaluar la configuración más adecuada de las jaulas flotantes para permitir la maximización del desove y su supervivencia. También evaluar el sitio del cuerpo de agua que reúne las mejores condiciones (distancia de la costa, temperatura y disponibilidad de alimento natural) para su instalación. Y en última instancia determinar el momento del año propicio para el inicio de los ciclos productivos. La profundización del estudio del cultivo en jaulas flotantes y del ecosistema en donde se instalan podría representar una alternativa sustentable para el cultivo de *C. interruptus*.

Bibliografia

- Abdalla, A., McNabb C. D. & Batterson T. R. (1996). Ammonia dynamics in fertilized fish ponds stocked with Nile Tilapia. *The Progressive Fish Culturist*, 58: 117-123.
- Akaike, H. (1973). Maximum likelihood identification of Gaussian autoregressive moving average models. *Biometrika*, 60: 255-265
- Allan, J. D. (2004). Landscapes and riverscapes: the influence of land use on stream ecosystems. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 35: 257-284.
- Alleman, J. E. & Preston, K. (1991). Behaviour and physiology of nitrifying bacteria. En: *Proceedings of the second annual conference on commercial aquaculture*, CES, 240: 1-13.
- Andrade, E. S., Carvalho, A. F., Ferreira, M. R., Paula, F. G., Rodrigues, F. S., Felizardo, V. O. & Murgas, L. D. (2014). Indutores hormonais na reprodução artificial de curimba (*Prochilodus lineatus*). *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, 38: 230-236.
- Anthonisen, A. C., Loehr, R. C., Prakasam, T. B. & Srinath, E. G. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal Water Pollution Control Federation*, 48 (5): 835-852.
- Antunes, M., da Cruz Hartman, K., Moreira, L. S., & Jatobá, A. (2013). Engorda de lambaris, do rabo vermelho e amarelo, em dois diferentes sistemas de cultivo. *Mostra Nacional de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar – VI MICTI*.
- Araya, M. & Cubillos, L. (2006). Evidence of two-phase growth in elasmobranchs. *Environmental Biology of Fishes*, 3-4 (77): 293-300.
- Arkhipkin, A. & Roa-UReta, R. (2005). Identification of ontogenetic growth models for squid. *Marine and Freshwater Research*, 56 (4): 371-386.
- Arredondo-Figueroa, J. L., Ingle de la Mora, G., Guerrero-Legarreta, I., Ponce-Palafox, J. T., & Barriga-Sosa, I. (2007). Ammonia and nitrite removal rates in a closed recirculating-water system, under three load rates of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 6(3): 301-308.
- Arthington, A. H. & Bluhdorn, D. (1996). The results of species interactions resulting from aquaculture operations. En: Baird, D. J., Beveridge, M., Kelly, L. & Muir, J. F. (eds), *Aquaculture and Water Resources Management*, Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp. 114-139.
- Aubone, A., & Wöhler, O. C. (2000). Aplicación del método de máxima verosimilitud a la estimación de parámetros y comparación de curvas de crecimiento de von Bertalanffy. *Informe Técnico INIDEP*, 37: 1-21.
- Austreng, E., Storebakken, T. & Asgard, T. (1987). Growth rate estimates for cultured Atlantic salmon and rainbow trout. *Aquaculture*, 60 (2): 157-160.

- Azevedo, M. A., Malabarba, L. R., Fihalo, C. B. (2000). Reproductive biology of the inseminating Glandulocaudine *Diapoma speculiferum* Cope (Teleostei: Characidae). *Copeia*, 4: 983-989.
- Baer, A., Schulz, C., Traulsen, I. & Krieter, J. (2011). Analysing the growth of turbot (*Psetta maxima*) in a commercial recirculation system with the use of three different growth models. *Aquaculture International*, 19 (3): 497-511.
- Baigún, C. & Ferriz, R. (2003). Distribution patterns of native freshwater fishes in Patagonia (Argentina). *Organisms Diversity & Evolution*, 3(2): 151-159.
- Baldiasserotto, B. & Gomes, L. C. (2005). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria, Rio Grande do Sul, Ed. UFSM. pp. 470.
- Belden, J. B. & Lydy, M. J. (2006). Joint toxicity of chlorpyrifos and esfenvalerate to fathead minnows and midge larvae. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25: 623-629.
- Beninger, P. G., Inna, B. & Katsanevakis, S. (2012). Strengthening statistical usage in marine ecology. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 426: 97-108.
- Benli, A. K. & Köksal, G. (2005). The acute toxicity of ammonia on tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae and fingerlings. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29 (2): 339-344.
- Beveridge, M. C. M. (2004). Cage Aquaculture (Third edition). Oxford: Blackwell Publishing. pp. 368.
- Biswas, A. K., Morita, T., Yoshizaki, G., Maita, M. & Takeuchi, T. (2005). Control of reproduction in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) by photoperiod manipulation. *Aquaculture*, 243 (1-4): 229-239.
- Biswas, A. K., Seoka, M., Inoue, Y., Takii, K. & Kumai, H. (2005). Photoperiod influences the growth, food intake, feed efficiency and digestibility of red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*, 250: 666-673.
- Biswas, A., Inoue, K. & Takii, K. (2010). Feeding interval and photoperiod influence the growth performance of striped knife jaw, *Oplegnathus fasciatus*. *Aquaculture Research*, 41: 517-523.
- Björnsson, B., Steinarsson, A. & Oddgeirsson, M. (2001). Optimal temperature for growth and feed conversion of immature cod (*Gadus morhua* L.). *ICES Journal of Marine Science*, 58 (1): 29-38.
- Boeuf, G. & Le Bail, P. Y. (1999). Does light have an influence on fish growth? *Aquaculture*, 177 (1-4): 129-152.
- Bon, E., Breton, B., Govoroun, M. & Menn, F. (1999). Effects of accelerated photoperiod regimes on the reproductive cycle of the female rainbow trout. II. Seasonal variations of plasma gonadotropins (GTH I and GTH II) levels correlated with ovarian follicle growth and egg size. *Fish Physiology and Biochemistry*, 20 (2): 143-154.

- Bonifacio, A. F., Ballesteros, M. L., Bonansea, R. I., Filippi, I., Amé, M. V. & Hued, A. C. (2017). Environmental relevant concentrations of a chlorpyrifos commercial formulation affect two neotropical fish species, *Cheirodon interruptus* and *Cnesterodon decemmaculatus*. *Chemosphere*, 188: 486-493.
- Borges, A., Scotti, L. V., Siqueira, D. R., Zanini, R., do Amaral, F., Jurinitz, D. F. & Wassermann, G. F. (2007). Changes in hematological and serum biochemical values in jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cypermethrin. *Chemosphere*, 69 (6): 920-926.
- Brett, J. R. (1979). Environmental factors and growth. En: Hoar, W. S., Randall, D. J. & Brett, J. R. (eds), *Fish Physiology* (Vol. VIII), Academic Press, New York. pp. 599- 675.
- Brett, J. R. & Groves, T. D. (1979). Physiological energetics. *Fish physiology*, 8(6): 280-352.
- Bromage, N. R., Porter, M. J. & Randall, C. F. (2001). The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture*, 197: 63-98.
- Buikema, A. L. (1983). Inter and intralaboratory variation in conducting static acute toxicity tests with *Daphnia magna* exposed to effluents and reference toxicants. *American Petroleum Institute* (API-Washington, D.C.) Publ. 4362, pp. 32.
- Burnham, K. P. & Anderson, D. R. (2002). Model selection and inference (2nd Ed.). Springer, New York.
- Cailliet, G. M., Smith, W. D., Mollet, H. F. & Goldman, K. J. (2006). Age and growth studies of chondrichthyan fishes: the need for consistency in terminology, verification, validation, and growth function fitting. *Environmental Biology of Fishes*, 77 (3-4): 211-228.
- Calviño, P. A. (2007). Precisión sobre la localidad tipo de cuatro especies de peces de aguas continentales colectadas por Charles Darwin, en Maldonado, Uruguay. *Boletín del Killi Club Argentino*, 13 (11).
- Carriquiriborde, P. & Ronco, A. (2006). Ecotoxicological studies on the pejerrey (*Odontesthes bonariensis*, Pisces Atherinopsidae). *Biocell*, 30: 97-109.
- Carriquiriborde, P., Diaz, J. Mugni, H., Bonetto, C. & Ronco, A. E. (2007). Impact of cypermethrin on stream fish populations under field use in biotech-soybean production. *Chemosphere*, 68: 613-621.
- Carvajal, J. & González, L. (1990). Presencia de *Hysterothylacium* sp. (Nematoda: Anisakidae) en salmón coho de Chiloé cultivado en jaulas. *Revista Chilena de Historia Natural*, 83: 565-583.
- CASAFE (2012). Cámara Argentina de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. URL: <http://www.casafe.org>.

- CASAFE (2015). Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. Mercado Argentino de Productos Fitosanitarios, 2012. Elaboración: Kleffmann & Partner SRL, KLEFFMANNGROUP, pp. 9.
- Chalde, T., Gárriz, Á., Sanches, E. A. & Miranda, L. A. (2016). Influence of pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) broodstock age on gamete quality, reproductive performance and plasma sex steroid levels during the spawning season. *Aquaculture Research*, 47: 969-982.
- Colautti, D.C. (2005). Estudio preliminar para el desarrollo de tecnología de Jaulas flotantes diseñada para las necesidades del pequeño productor paraguayo. Informe técnico.
- Colautti, D. C., Garcia de Souza, J. R., Balboni, L. & Baigún C. R. (2010). Extensive cage culture of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) in a shallow pampean lake in Argentina. *Aquaculture Research*, 41: 376-384.
- Cole, B. & Haring, M. (1999). Spawning and production of the serpae tetra, *Hyphessobrycon serpae*. *University of Hawaii Sea Grant Extension Service CTSA Publication*, 138: 1-9.
- Conover, D. O. & Present, T. M. (1990). Counter-gradient variation in growth rate: compensation for length of the growing season among Atlantic silversides from different latitudes. *Oecologia*, 83 (3): 316-324.
- Cooper, C. M. (1993). Biological effects of agriculturally derived surface water pollutants on aquatic systems, a review. *Journal of Environmental Quality*, 22 (3): 402-408.
- Costa, B. B. (2011). Densidade de estocagem de lambari (*Astyanax altiparanae*) em tanques-rede. Disertación de maestría, UFCCar, pp. 46.
- Cussac, V. E., Fernández, D. A., Gómez, S. E. & López, H. L. (2008). Fishes of Southern South America: a story driven by temperature. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 29-42.
- De Silva, S. S., Nguyen, T. T. & Ingram, B. I. (2008). Fish reproduction in relation to aquaculture. En: Rocha, M. J., Arukwe, A., & Kapoor, B. G. (eds), *Fish reproduction: cytology, biology and ecology*. Science Publisher, IBH Publishing Co., Delhi, India. pp. 535-575.
- Demetrio, P. M. (2012). Estudio de efectos biológicos de plaguicidas utilizados en cultivos de soja RR y evaluación de impactos adversos en ambientes acuáticos de agroecosistemas de la región pampeana. Universidad de La Plata, Tesis Doctoral, pp. 156.
- Di Marzio, W. D., Saenz, M. E., Alberdi, J. L., Fortunato, N., Cappello, V., Montivero, C. & Ambrini, G. (2010). Environmental impact of insecticides applied on biotech soybean crops in relation to the distance from aquatic ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(9): 1907-1917
- Dirección Provincial de Pesca (2018). URL: <http://www.maa.gba.gov.ar/pesca/acuicultura>. (Último acceso: Agosto 2018).

- Domitrovic, H. A. (2000). Toxicidad y respuesta histopatológica en *Cichlasoma dimerus* (Pisces, Cichlidae) expuestos a clorpirifos en ensayos de toxicidad aguda. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Disponible en http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2000/4_veterinarias/v_pdf/v_045.pdf
- Døskeland, I., Imsland, A. K. D., Fjellidal, P. G., Stefansson, S. O., Roth, B., Eriksen, K. E. & Handeland, S. (2016). The effect of low temperatures and photoperiods on growth and vertebra morphometry in Atlantic salmon. *Aquaculture international*, 24 (5): 1421-1434.
- Dumas, A., France, J. & Bureau, D. (2010). Modelling growth and body composition in fish nutrition: where have we been and where are we going? *Aquaculture Research*, 41 (2): 161-181.
- Ebeling, J. M., Timmons, M. B. & Bisogni, J. J. (2006). Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia-nitrogen in aquaculture systems. *Aquaculture*, 257: 346-358.
- ECOTOX, (2000). Ecotoxicology Database from U. S. Environmental Protection Agency. Versión Actualizada: 2014. URL <http://cfpub.epa.gov/ecotox>. (Último acceso: Marzo 2018).
- Eikebrokk, B., Piedrahita, R. & Ulgenes, Y. (1995). Rates of fish waste production and effluent discharge from a recirculating system (BIOFISH) under commercial conditions. *Aquaculture Research*, 26 (8): 589-599.
- Elisio, M., Chalde, T. & Miranda, L. (2014). Seasonal changes and endocrine regulation of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) oogenesis in the wild. *Comparative Biochemistry & Physiology*, 175: 102-109.
- Elisio, M., Vitale, A. & Miranda, L. A. (2015). Influence of climate variations on Chascomús shallow lake thermal conditions and its consequences on the reproductive ecology of the Argentinian Silverside (*Odontesthes bonariensis* Actinopterygii, Atherinopsidae). *Hydrobiologia*, 752 (1): 155-166.
- El-Sayed, A. M. & Kawanna, M. (2007). Effects of photoperiod on growth and spawning efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) broodstock in a recycling system. *Aquaculture Research*, 38: 1242-1247.
- Escalante, A. H. (1983). Contribución al conocimiento de las relaciones tróficas de peces de agua dulce del área platense. 11 Otros Tetragonopteridae. *Limnobiós*, 2 (6): 379-402. ISSN 0325-7592.
- Escalante, A. H. (1987). Dieta comparativa de *Cheirodon interruptus* (Osteichthyes, Characidae) en ambientes lénticos y lóticos de la provincia de Buenos Aires. *Revista del Museo La Plata*, 152: 35-45. ISSN 0372-4638.
- Eschmeyer, W. N. & Fong, J. D. (2015). Species by Family/Subfamily. <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp>. (Último acceso: Agosto 2018).

- Eshchar, M., Lahav, O., Mozes, N., Peduel, A. & Ron, B. (2006). Intensive fish culture at high ammonium and low pH. *Aquaculture*, 255: 301-313.
- FAO (2007). Food and Agriculture Organization of the United Nations. El estado mundial de la agricultura y la alimentación (Roma). *FAO: Agricultura*, 38.
- FAO (2012). Food and Agriculture Organization of the United Nations: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
- FAO (2018). El Estado mundial de la pesca y la acuicultura. *Food & Agriculture*, Rome, Italy. pp. 250, ISBN: 978-92-5-130688-8.
- Faustino, F., Nakaghi, L. S. O., & Neumann, E. (2011). *Brycon gouldingi* (Teleostei, Characidae): aspects of the embryonic development in a new fish species with aquaculture potential. *Zygote*, 19 (4): 351-363.
- Ferriz, R. A., Bentos, C.A., Fernández, E. M. & López, G. R. (2011). Reproducción y dinámica poblacional de *Cheirodon interruptus* (Ostariophysi: Characidae) en el arroyo El Portugués, alta cuenca del río Samborombón, Argentina. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 39 (1): 151-160.
- Freyre, L. & C. Togo. (1968). Piscicultura experimental. Convenio Estudio Riqueza Ictícola, Trabajos Técnicos Tercera Etapa, 4, La Plata, Argentina.
- Gamito, S. (1998). Growth models and their use in ecological modelling: an application to a fish population. *Ecological Modelling*, 113 (1-3): 83-94.
- Garcia de Souza J. R., Solimano, P. J., Maiztegui, T., Baigún C. & Colautti D. C. (2015). Effects of stocking density and natural food availability on the extensive cage culture of pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) in a shallow Pampean lake in Argentina. *Aquaculture Research*, doi:10.1111/are.12286.
- Garcia de Souza, J. R., Solimano, P. J., Maiztegui, T., Baigún, C. R. M., Claps, M. C. & Colautti, D. C. (2017). Seasonality effects over the ecological aquaculture of the native zooplanktivorous fish from South America *Odontesthes bonariensis*. *Aquaculture*, 471: 19-27.
- Ginés, R., Afonso, J. M., Zamorano, M. J. & Lopez. J. L. (2004). The effects of long-day photoperiod on growth, body composition and skin colour in immature gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture Research*, 35: 1207-1212.
- Gompertz, B. (1825). On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 115: 513-583.
- Grosman, F., (2000). Fundamentos biológicos, económicos y sociales para una correcta gestión del recurso pejerrey. Astyanax Editorial. pp. 206.
- Gul, A. (2005). Investigation of acute toxicity of chlorpyrifos-methyl on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae. *Chemosphere*, 59: 163-166.

- Handeland, S. O., Imsland, A. K. & Stefansson, S. O. (2008). The effect of temperature and fish size on growth, feed intake, food conversion efficiency and stomach evacuation rate of Atlantic salmon post-smolts. *Aquaculture*, 283 (1-4): 36-42.
- Hansen T., Karlsen O., Taranger G. L., Hemre G. I., Holm J. C. & Kjesbu O. S. (2001) Growth, gonadal development and spawning time of Atlantic cod (*Gadus morhua*) reared under different photoperiods. *Aquaculture*, 203: 51-67.
- Hansford, S. W. & Hewitt, D. R. (1994). Growth and nutrient digestibility by male and female *Penaeus monodon*: evidence of sexual dimorphism. *Aquaculture*, 125 (1-2): 147-154.
- Hargrove, L. L., Westerman, P. W. & Losordo, T. M. (1996). Nitrification in three-stage and single-stage floating bead biofilters in a laboratory-scale recirculating aquaculture system. *Aquacultural engineering*, 15 (1): 67-80.
- Hart, P. R., Hutchinson, W. G. & Purser, G. J. (1996). Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862). *Aquaculture*, 144 (4): 303-311.
- Hashemi, S., Blust, R. & De Boeck, G. (2008). Combined effects of different food rations and sublethal copper exposure on growth and energy metabolism in common carp. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 54 (2): 318-324.
- Heinen, J. M., Weber, A. L., Noble, A. C. & Morton, J. D. (1995). Tolerance to formalin by a fluidized-bed biofilter and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in a recirculating culture system. *Journal of the World Aquaculture Society*, 26 (1): 65-71.
- Hickling, C. F. (1963). On the small deep-sea shark *Etmopterus spinax* L., and its cirripede parasite *Anelasma squalicola* (Loven). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 45 (303): 17-24.
- Holden, A. V. (1962). A study of the absorption of Cn-labeled DDT from water to fish. *Annals of Applied Biology*, 50: 467-477.
- Hose, G. C. (2005). Assessing the need for groundwater quality guidelines for pesticides using the species sensitivity distribution approach. *Human and Ecological Risk Assessment*, 11 (5): 951-966.
- Huh, H. T., Calbert, H. E. & Stuibler, D. A. (1976). Effects of temperature and light on growth of yellow perch and walleye using formulated feed. *Transactions of the American Fisheries Society*, 105 (2): 254-258.
- Hunt, L., Bonetto, C., Resh, V. H., Buss, D. F., Fanelli, S., Marrochi, N., & Lydy, M. J. (2016). Insecticide concentrations in stream sediments of soy production regions of South America. *Science of the Total Environment*, 547: 114-124.

- Imslund, A. K., Sunde, L. M., Folkvord, A. & Stefansson, S. O. (1996). The interaction of temperature and fish size on growth of juvenile turbot. *Journal of Fish Biology*, 49 (5), 926-940.
- Ingle de la Mora, G., Villareal-Delgado, E. L., Arredondo-Figueroa, J. L., Ponce-Palafox, J. T. & Barriga-Sosa, I. D. (2003). Evaluación de algunos parámetros de calidad del agua en un sistema cerrado de recirculación para la acuicultura, sometido a diferentes cargas de biomasa de peces. *Hidrobiológica*, 13 (4): 247-253.
- Jergentz, S., Mugni, H., Bonetto, C. & Schulz, R. (2004) Runoff-related endosulfan contamination and aquatic macroinvertebrate response in rural basins near Buenos Aires, Argentina. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 46 (3): 345-353.
- Jobling, M. (1995). Fish bioenergetics. Oceanographic Literature Review. Chapman and Hall, London. pp. 309.
- Jonassen, T. M., Imslund, A. K., Kadowaki, S., & Stefansson, S. O. (2000). Interaction of temperature and photoperiod on growth of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L. *Aquaculture Research*, 31 (2): 219-227.
- Jop, K. M., Rodgers, J. H., Price, E. E. & Dickson, K. L. (1986). Renewal device for test solutions in Daphnia toxicity tests. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 36 (1): 95-100.
- Jourdan, S., Fontaine, P., Boujard, T., Vandeloise, E., Gardeur, J. N., Anthouard, M. & Kestemont, P. (2000). Influence of day length on growth, heterogeneity, gonad development, sexual steroid and thyroid levels, and N and P budgets in *Perca fluviatilis*. *Aquaculture*, 186: 253-265.
- Katsanevakis, S. (2006). Modelling fish growth: Model selection, multi-model inference and model selection uncertainty. *Fisheries Research*, 81(2-3): 229-235.
- Katsanevakis, S. & Maravelias, C. (2008). Modelling fish growth: multi-model inference as a better alternative to a priori using von Bertalanffy equation. *Fish and fisheries*, 9 (2): 178-187.
- Klaver, A. L., & Matthews, R. A. (1994). Effects of oxytetracycline on nitrification in a model aquatic system. *Aquaculture*, 123 (3-4): 237-247.
- Kong, J., D. & Ghil, S. (2016). Effects of Water Temperature on Gonad Development in the Cold-Water Fish, Kumgang Fat Minnow *Rhynchocypris kumgangensis*. *Cytologia*, 81 (3): 311-317.
- Kucharczyk, D., Targońska, K., Hliwa, P., Gomułka, P., Kwiatkowski, M., Krejszeff, S. & Perkowski, J. (2008). Reproductive parameters of common carp (*Cyprinus carpio* L) spawners during natural season and out-of-season spawning. *Reproductive Biology*, 8 (3): 285-289.

- Kucharczyk, D., Targońska, K., Źarski, D., Kujawa, R. & Mamcarz, A. (2008). A review of the reproduction biotechnology for fish from the genus *Leuciscus*. *Archives of Polish Fisheries*, 16 (4): 319-340.
- Kumar, S., Sahu, N., Pal, A., Kerepeczki, E., Sinha, A. K. & Gal, D. (2016). Metabolic fitness and growth performance in tropical freshwater fish *Labeo rohita* are modulated in response to dietary starch type (gelatinized versus non-gelatinized) and water temperature. *Aquaculture Nutrition*, 22 (5): 966-975.
- Lampert, V. R., Azevedo, M. A. & Fialho, C. B. (2007). Reproductive biology of *Bryconamericus stramineus* Eigenmann, 1908 (Ostariophysi: Characidae) from the Rio Ibicuí, RS, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50 (6): 995-1004.
- Le Cren, E. D (1951). The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *The Journal of Animal Ecology*. pp. 201-219.
- Lincer, J. L., Solon, J. M. & Nair III, J. H. (1970). DDT and endrin fish toxicity under static versus dynamic bioassay conditions. *Transactions of the American Fisheries Society*, 99 (1): 13-19.
- Little, D. & Muir, J. (1987). A guide to integrated warm water aquaculture. Institute of Aquaculture Publications, University of Stirling, Scotland.
- López, G., Bentos, C., Sampietro, S., Borel, L., Paludi, A. & D'ambrosio, E. (2016). Comercialización de carnada en ambientes acuáticos de la llanura pampeana, situación actual y propuestas para su manejo. En: Ecología y manejo de ecosistemas acuáticos. VIII EMEAP. P. 87-100
- López, H., Baigún, C., Iwaskiw, J., Delfino R. y Padin O. (2001). La cuenca del río Salado: Uso y posibilidades de sus recursos pesqueros. Editorial de la Universidad de La Plata. pp.60.
- Lubzens, E., Young, G., Bobe, J. & Cerda, J. (2010). Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed. *General and Comparative Endocrinology*, 165: 367-389.
- Lucchetti, G. L. & Gray, G. A. 1988. Water reuse systems: a review of principal components. *The Progressive Fish-Culturist*, 50: 1-16.
- Lugert, V., Thaller, G., Tetens, J., Schulz, C. & Krieter, J. (2016). A review on fish growth calculation: multiple functions in fish production and their specific application. *Reviews in Aquaculture*, 8 (1): 30-42.
- Lutz, C. G. (2001). Practical Genetics for Aquaculture Fishing News Books, Blackwell Science Oxford, United Kingdom. pp. 235.
- Mac Loughlin, T. M., Peluso, L. & Marino, D. (2017). Pesticide impact study in the peri-urban horticultural area of Gran La Plata, Argentina. *Science of the Total Environment*. 598: 572-580.

- Maiztegui, T., Campanella, D., & Colautti, D. C. (2009). Avances en el desarrollo del cultivo de la mojarra (*Cheirodon interruptus*) como alternativa a la explotación de poblaciones silvestres. *Biología Acuática*, 26: 143-149.
- Malabarba, L. R. (2003). Subfamily Cheirodontinae (characins, tetras). Check list of the freshwater fishes of South and Central America. Edipucrs, Porto Alegre. pp. 729.
- Mancini, M. & Grosman, F. (2008). El pejerrey de las lagunas pampeanas. Análisis de casos tendientes a una gestión integral de las pesquerías. Ed. Universidad Nacional de Río Cuarto y Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires. pp. 446.
- Mancini, M., Rodriguez, C., Finola, M., Basualdo, C. & Prosperi, C. (2016). Mortandad de peces en un lago recreacional del Sur de Córdoba, Argentina. *Revista Aquatic*, (11): 1-7.
- Mantinian, J. (2011). Sistemática y distribución de peces de la subfamilia Cheirodontinae (Teleostei: Characiformes: Characidae) de la Argentina. Universidad de Buenos Aires, Tesis Doctoral.
- Marino D. & Ronco, A. (2005). Cypermethrin and chlorpyrifos concentration levels in surface water bodies of the Pampa Ondulada, Argentina. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75 (4): 820-826.
- Masser, M. & Bridger, C. J. (2007). A review of cage aquaculture: North America. En: Halwart, M., Soto, D. & Arthur, J. R. (eds). *Cage Aquaculture*. pp. 105-123.
- Maund, S. J., Hamer, M. J., Warinton, J. S. & Kedwards, T. J. (1998). Aquatic ecotoxicology of the pyrethroid insecticide lambda-cyhalothrin: considerations for higher-tier aquatic risk assessment. *Pesticide Science*, 54: 408-417.
- Méndez, E. M. (2012). Determinación de la concentración letal 50 (cl50) de clorpirifós en alevinos de cachama blanca (*Piaractus brachipomus*). *Revista Electrónica de Ingeniería en Producción Acuícola*, 6 (6).
- Merino, O. G. & Sal, M. F. (2007). Sistemas de Recirculación y Tratamiento de agua. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos. *CENADAC*, Santa Ana- Corrientes. 36p.
- Methot Jr, R. D. & Wetzel, C. R. (2013). Stock synthesis: a biological and statistical framework for fish stock assessment and fishery management. *Fisheries Research*, 142: 86-99.
- Migaud, H., Fontaine, P., Kestemont, P., Wang, N. & Brun-Bellut, J. (2004). Influence of photoperiod on the onset of gonadogenesis in Eurasian perch *Perca fluviatilis* *Aquaculture*, 241: 561-574.
- Miranda, L. A., Strüssmann, C. A. & Somoza, G. M. (2009). Effects of light and temperature conditions on the expression of GnRH and GtH genes and levels of plasma steroids in *Odontesthes bonariensis* females *Fish Physiology and Biochemistry*, 35: 101-108.
- Mirande, J. M. (2018). Morphology, molecules and the phylogeny of Characidae (Teleostei, Characiformes). *Cladistics*, doi:10.1111/ccla.12345

- Morehead, D. T., Ritar, A. J. & Pankhurst, N. W. (2000). Effect of consecutive 9- or 12-month photothermal cycles and handling on sex steroid levels, oocyte development, and reproductive performance in female striped trumpeter *Latris lineata* (Latrididae). *Aquaculture*, 189: 293-305.
- Mugni, H., Ronco, A. & Bonetto, C. (2011). Insecticide toxicity to *Hyalella curvispina* in runoff and stream water within a soybean farm (Buenos Aires, Argentina). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74: 350-354.
- Mugni, H. D. (2009). Concentración de nutrientes y toxicidad de pesticidas en aguas superficiales de cuencas rurales. Universidad Nacional de La Plata, Tesis doctoral, pp.140.
- Mundry, R. (2011). Issues in information theory-based statistical inference—a commentary from a frequentist's perspective. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65 (1): 57-68.
- Munro, A. D. (1990). Tropical freshwater fish. En: Munro, A., Scott, A., Lam, T. Ž. (eds), *Reproductive Seasonality in Teleosts: Environmental Influences*. CRC Press: Florida. pp. 145-239.
- Naylor, R. L., Goldberg, R. J., Primavera, J. H., Kautsky, N., Beveridge, M. C. M., Clay, J., Folke, C., Lubchenco, J., Mooney, H. & Troell, M. (2000). Effect of aquaculture on world fish supplies. *Nature*, 405: 1017-1024.
- Neter, J., Kutner, M. H., Nachtsheim, C. J. & Wasserman, W. (1996). Applied linear statistical models. First edition, Chicago Irwin. pp. 318.
- Norberg, B., Björnsson, B. T. & Haux, C. (1995). Photoperiod controls the timing of reproduction in Atlantic cod (*Gadus morhua*). En: Goetz, F. W. & Thomas, P. (eds), *Proceedings of the 5th International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. The University of Texas at Austin, Texas, USA, Fish Symposium, 95: 167-169.
- Norberg, B., Brown, C. L., Halldorsson, O., Stensland, K. & Björnsson, B. T. (2004). Photoperiod regulates the timing of sexual maturation, spawning, sex steroid and thyroid hormone profiles in the Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, 229 (1-4): 451-467.
- Oliveira, C. L. C., Fialho, C. B. & Malabarba, L. R. (2010). Reproductive period, fecundity and histology of gonads of two cheirodontines (Ostariophysi: Characidae) with different reproductive strategies insemination and external fertilization. *Neotropical Ichthyology*, 8 (2): 351-360.
- Ostrensky, A. & Brugger, A. (1992). Studies on the viability of silverside *Odontesthes argentinensis* cultivations: acute toxicity of ammonia. *Ciência e Cultura*, 44: 403-413.
- Pankhurst, N. W. & Porter, M. J. (2003). Cold and dark or warm and light: variations on the theme of environmental control of reproduction. *Fish Physiology and Biochemistry*, 28: 385-389.

- Panné H. S. (2016). Producción por Acuicultura en Argentina en el 2016. Dirección de Acuicultura. Dirección Nacional de Planificación Pesquera. Subsecretaría de Pesca y Acuicultura. Ministerio de Agroindustria.
- Paracampo, A., Mugni, H., Demetrio, P., Pardi, M., Bulus, G., Asborno, M. & Bonetto C. (2012). Toxicity persistence in runoff from experimental soybean plots following pesticide applications. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 47: 761-768
- Paracampo, A., Solis, M., Bonetto, C., & Mugni, H. (2014). Acute toxicity of chlorpyrifos to the non-target organism *Cnesterodon decemmaculatus*. *International journal of environmental health research*, 25 (1): 96-103.
- Pedreira, M. M., Luz, R. K., dos Santos, J. C. E., Sampaio, E. V. & Silva, R. S. (2010). Biofiltração da água e tipos de substrato na larvicultura do pacamã. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44 (5): 511-518.
- Perez, C., Kacoliris, F., López, H. L., Povedano, E., Petracci, P. F. & Gosztonyi, A. E. (2015). La mojarrita *Cheirodon interruptus* en el arroyo Valcheta, Río Negro, Argentina. ¿Otra posible amenaza para la mojarra desnuda (*Gymnocharacinus bergii*)?; Fundación de Historia Natural Félix de Azara; *Nótulas Faunísticas*, 177 (2): 1-5.
- Piedras, S. R., Oliveira, J. L., Moraes, P. R. & Bager, A. (2006). Acute toxicity of unionized ammonia and nitrite in *Cichlasoma facetum* (Jenyns, 1842) fingerlings. *Ciência e agrotecnologia*, 30 (5): 1008-1012.
- Porto-Foresti, F., Castilho-Almeida, R. B. & Foresti, F. (2005). Biología e criação do lambari-do-rabo-amarelo (*Astyanax altiparanae*). En: Baldissierotto, B. & Gomes, L.C. (eds) *Espécies nativas para piscicultura no Brasil*. Santa Maria: UFSM. pp. 120.
- Rad, F., Bozaoğlu, S., Gözükar, S. E., Karahan, A. & Kurt, G. (2006). Effects of different long-day photoperiods on somatic growth and gonadal development in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*, 255: 292-300.
- Reynalte-Tataje, D., Zaniboni Filho, E. & Muelbert, B. (2001). Stages of the embryonic development of the piavuçu *Leporinus macrocephalus* (Garavello & Britski, 1988). *Acta Scientiarum*, 23 (4): 823-827.
- Ricker, W. E. (1975) Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin of the of the Fisheries Research Board of Canada*, 191 (1) 382 p.
- Ringuelet, R. A. (1975). Zoogeografía y ecología de los peces de aguas continentales de la Argentina y consideraciones sobre las áreas ictiológicas de América del Sur. *Ecosur*, 2: 1-122.
- Rojas, A. & Wadsworth S. (2007). A review of cage aquaculture: Latin America and the Caribbean In: Cage Aquaculture edited by Halwart M, Soto D & Arthur J. R. FAO, Rome. pp. 73-98.

- Rosso, J. (2007). Peces Pampeanos, guía y ecología. Literature of Latin America (LOLA). pp. 221.
- Rowland, S. J., Mifsud, C., Nixon, M. & Boyd, P. (2006). Effects of stocking density on the performance of the Australian freshwater silver perch (*Bidyanus bidyanus*) in cages. *Aquaculture*, 253 (1-4): 301-308.
- Saha, S. & Kaviraj, A. (2003). Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin to freshwater catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *International journal of toxicology*, 22 (4): 325-328.
- Saha, S., Mukherjee, D. & Saha, N. C. (2018). Evaluation of acute toxicity and behavioral responses of *Heteropneustes fossilis* (L.) exposed to Captan. *International Journal of Life Sciences*, 6 (1): 205-208
- Sanchez, I. A., Rebelo, D. M., Burbano, A., Garcia, R. & Guerrero, C. (2013). Eficiencia de consorcios microbianos para tratamiento de aguas residuales en un sistema de recirculación acuícola *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11: 245-254.
- Sánchez-Hernández, J., Gabler, H. M., Elliott, J. M. & Amundsen, P. A. (2016). Use of a growth model to assess the suboptimal growth of Atlantic salmon parr in a subarctic river. *Ecology of freshwater fish*, 25 (4): 518-526.
- Sansíñena, J. A., Peluso, L., Costa, C. S., Demetrio, P. M., Mac Loughlin, T. M., Marino, D. J. & Natale, G. S. (2018). Evaluation of the toxicity of the sediments from an agroecosystem to two native species, *Hyaella curvispina* (CRUSTACEA: AMPHIPODA) and *Boana pulchella* (AMPHIBIA: ANURA), as potential environmental indicators. *Ecological Indicators*, 93: 100-110.
- Schäfer, R. B., van den Brink, P. J. & Liess, M. (2011). Impacts of pesticides on freshwater ecosystems. *Ecological impacts of toxic chemicals*, 111-137.
- Schnute, J. A (1981). Versatile growth model with statistically stable parameters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38 (9): 1128-1140.
- Schulz, R. (2001). Rainfall-induced sediment and pesticide input from orchards into the Lourens River, Western Cape, South Africa: importance of a single event. *Water Research*, 35 (8): 1869-1876.
- Schuster, C. & H. Steltz. (1998). Reduction in the make-up water in semi- closed recirculating aquaculture systems. *Aquacultural Engineering*, 17: 167-174.
- Sendra, E. D. & Freyre, L. (1981a). Estudio demográfico de *Cheirodon interruptus interruptus* (Pisces: Tetragonopteridae) de la laguna Chascomús. I. Crecimiento. *Limnobiós*, 2 (2): 111-126.
- Solimano, P. J. (2013). Desarrollo de un sistema de cría semi-intensiva para producción de pejerrey (*Odontesthes bonariensis*) en jaulas flotantes. Universidad Nacional de la Plata, Tesis doctoral, pp. 213.

- Solimano, P. J., Garcia de Souza, J. R., Maiztegui, T., Baigún, C. R., & Colautti, D. C. (2015). New approaches for growth improvement in pejerrey *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) culture (Atherinomorpha: Atherinopsidae). *Neotropical Ichthyology*, 13 (1): 213-220.
- Spotte, S. (1970). Fish and invertebrate culture: water management in closed systems. Wiley Interscience, John Wiley and Sons, New York. pp.145.
- Sun, L. & Chen, H. (2014). Effects of water temperature and fish size on growth and bioenergetics of cobia (*Rachycentron canadum*). *Aquaculture*, 426: 172-180.
- Sussel, F. R. (2012). Fontes e níveis de proteína na alimentação do lambari-do-rabo-amarelo: desempenho produtivo e análise económica. Universidade de São Paulo, Tesis doctoral, pp. 105.
- Suvetha, L., Ramesh, M. & Saravanan, M. (2010). Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na⁺/K⁺ ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 29 (1): 44-49.
- Tacon, A. G. & De Silva, S. S. (1997). Feed preparation and feed management strategies within semi-intensive fish farming systems in the tropics. *Aquaculture*, 151: 379-404.
- Tacon, A. G. & Forster I. P. (2003). Aquafeeds and the environment: policy implications. *Aquaculture*, 226: 181-189.
- Taranger, G. L., Aardal, L., Hansen, T. & Kjesbu, O. S. (2006). Continuous light delays sexual maturation and increases growth of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) in sea cages. *ICES Journal of Marine Science*, 63 (2):365-375.
- Taranger, G. L., Carrillo, M., Schulz, R. W., Fontaine, P., Zanuy, S., Felip, A. & Andersson, E. (2010). Control of puberty in farmed fish. *General and comparative endocrinology*, 165 (3): 483-515.
- Taylor, J. & Migaud, H. (2009). Timing and duration of constant light affects rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth during autumn–spring grow-out in freshwater. *Aquaculture research*, 40 (13), 1551-1558.
- Timmons, M. B. & Ebeling, J. M. (2007). Recirculating Aquaculture. NRAC Publication, Cayuga. pp. 976. ISBN-13: 9780971264625.
- Tomasso, J. R. (1994). Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Reviews in Fisheries Science*, 2 (4): 291-314.
- Trautmann, N. M., Carlsen, W. S., Krasny, M. E. & Cunningham, C. M. 2001. Assessing U. S. EPA, United States Environmental Protection Agency. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms (5th Ed). EPA-821-R-02-012.

- Trippel, E. A. & Neil, S. R. (2003). Effects of photoperiod and light intensity on growth and activity of juvenile haddock (*Melanogrammus aeglefinus*). *Aquaculture*, 217 (1-4): 633-645.
- Twarowska, G. T., Westerman W. P. & Losordo, M. T. (1997). Water treatment and waste characterization evaluation of an intensive recirculating fish production system. *Aquacultural Engineering*, 16: 133-147.
- Urban, H. J. (2002). Modeling growth of different developmental stages in bivalves. *Marine Ecology Progress Series* 238: 109-114
- USEPA, (2002). Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms, 5th edn. EPA-821-R-02-012 US Environmental Protection Agency, Office of Water, Washington, DC.
- USEPA, (2015). Species Sensivity Distribution Generator. http://www.epa.gov/caddis/da_software_ssdmacro.html
- van Straalen, N. (2002). Threshold models for species sensitivity distributions applied to aquatic risk assessment for zinc. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 11 (3-4): 167-172.
- Varó, I., Serrano, R., Pitarch, E., Amat, F., Lopez, F. J., & Navarro, J. C. (2000). Toxicity and Bioconcentration of Chlorpyrifos in Aquatic Organisms: *Artemia parthenogenetica* (Crustacea), *Gambusia affinis*, and *Aphanius iberus* (Pisces). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 65: 623-630.
- Viglizzo, E. (2007). Desafíos y oportunidades de la expansión agrícola en Argentina. En: *Producción agropecuaria y medio ambiente* (Capítulo 2). Editorial: Fundación Vida Silvestre, Argentina, Buenos Aires.
- Vilela, C & Hayashi, C. (2001). Desenvolvimento de juvenis de lambari *Astyanax bimaculatus* (Linnaeus, 1758), sob diferentes densidades de estocagem em tanques-rede. *Acta Scientiarum*, 23 (2): 491-496.
- Vlaming, V. L. (1972). Environmental control of teleost reproductive cycles: a brief review. *Journal of Fish Biology*, 4 (1): 131-140.
- Von Bertalanffy, L. (1938). A quantitative theory of organic growth (inquiries on growth laws. II). *Human biology*, 10 (2): 181-213.
- Wauchope, R. D. (1978). The Pesticide Content of Surface Water Draining from Agricultural Fields A Review 1. *Journal of environmental quality*, 7 (4): 459-472.
- Weatherley, A. H. & Gill, H. S., (1987). The biology of fish growth. Academic Press, London LTD. pp. 443.
- Westerman, P. W., Losordo, T. M. & Wildhaber, M. L. (1996). Evaluation of various biofilters in an intensive recirculating fish production facility. *Transactions of the ASAE*, 39 (2): 723-727.
- Wharton, G., Cotton, J. A., Wotton, R. S., Bass, J. A., Heppell, C. M., Trimmer, M. & Warren, L. L. (2006). Macrophytes and suspension-feeding invertebrates modify flows and fine

- sediments in the Frome and Piddle catchments, Dorset (UK). *Journal of Hydrology*, 330 (1-2): 171-184.
- Wheaton, F. W. Hochheimer, J. N. Kaiser, G. E. & Krones, M. J. (1991). Principles of biological filtration. In Northeast Regional Agricultural Engineering Service. Engineering Aspects of Intensive Aquaculture. *Proceedings from the Aquaculture Symposium*. pp. 117-132.
- Wickins, J. F. (1985). Growth variability in individually confined elvers, *Anguilla anguilla* (L.). *Journal of Fish Biology*, 27 (4): 469-478.
- Woynarovich, E. & Horváth, L. (1980). The artificial propagation of warm-water finfishes: a manual for extension (No. 201). pp. 183.
- Zhu, D. M., Yang, K., Gul, Y., Song, W., Zhang, X. & Wang, W. (2014). Effect of photoperiod on growth and gonadal development of juvenile Topmouth Gudgeon *Pseudorasbora parva*. *Environmental Biology of Fish*, 97: 147-56.