

Resumen en extenso

Efecto de diferentes niveles de aceite de pescado sobre el comportamiento reproductivo del pez payaso tomate *Amphiprion frenatus*

Moncayo-Gómez A. M.^{1-2*}, Ibarra-Zatarain Z.¹, Burgos-Arcos A. J.², Peña-Marín E. S³.

¹ UAN-Centro Nayarita de Innovación y Transferencia de Tecnología, A.C. Av. E Gonzales s/n. Col. Industrial, 63173. Tepic, México.

² Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias. Torobajo – calle 18 carrera 50. Nariño, Pasto, Colombia.

³ Universidad Juárez Autónoma de Tabasco-DACBiól. Carretera Villahermosa Cárdenas, km 0.5, 86139. Villahermosa, Tabasco, México.

*E-mail: angelicamoncayo92@gmail.com



Cite this paper/Como citar este artículo: Moncayo-Gómez A. M., Ibarra-Zatarain Z., Burgos-Arcos A. J., Peña-Marín E. S. (2021). Efecto de diferentes niveles de aceite de pescado sobre el comportamiento reproductivo del pez payaso tomate *Amphiprion frenatus*. *Revista Bio Ciencias* 8: (Suppl) Memorias del 3er Coloquio de Nutrigenómica y Biotecnología Acuícola 2020 (CONYBA) e1184. <http://doi.org/10.15741/revbio.08Suppl.e1184>

Resumen

Durante 115 días, se evaluó una dieta comercial (control T0:6% lípidos) y tres dietas experimentales con diferentes inclusiones de lípidos T1:7%, T2:11% y T3:14%, sobre el comportamiento reproductivo del pez payaso tomate *Amphiprion frenatus*. Se seleccionaron 48 ejemplares, con peso y longitud promedio de $2,79 \pm 1,09$ g y $5,02 \pm 0,65$ cm, distribuidos a razón de cuatro organismos por tanque (por triplicado) en un sistema de recirculación. En cada tanque se introdujo un macetero de barro, que funcionó como refugio y zona de selección para establecerse la pareja. Mediante videograbaciones se logró identificar tres patrones de comportamiento: territorialidad, agresión y aislamiento; los organismos del T0:6% presentaron diferencias estadísticas respecto a los tratamientos experimentales. Una vez formadas las parejas, el T0:6% presentó significativamente menos actos de dominio hacia su pareja comparado a los tratamientos experimentales T1:7% (n=241) y T2: 11% (n=258), pero no con el T3:14% (n=232). Las parejas del T1 presentaron el mayor número de comportamientos de cortejo (n=213), valor que resultó significativamente diferente al T0:6% (n=129), T2: 11% (n=54) y T3:14% (n=124). El presente trabajo permitió evaluar la posible influencia de incluir diferentes niveles de lípidos sobre el comportamiento de la especie en las diferentes actividades que realizan, en este caso, para lograr reproducirse.

Abstract

During a period of 115 days, four diets with different levels of lipids inclusions (control diet T0:6% lipids, T1:7%, T2:11% and T3:14%), were evaluated on the orange Clownfish reproductive behaviour (*Amphiprion frenatus*) by video recordings. A total of 48 specimens (mean length and weight $2,79 \pm 1,09$ g y $5,02 \pm 0,65$ cm respectively) were randomly selected and distributed, by triplicate, in twelve tanks, which were connected to a recirculation system. In each tank, a mud flowerpot of 11 cm diameter was installed and served as a refuge of couples. According to the video recordings, three behavioural patterns were characterized: territoriality, aggression and isolation. Moreover, the control group (T0:6%) revealed statistics differences in relation to the behavioural pattern of fish of the experimental diets. In this context, fish from control diet exhibited less acts of dominance towards their couples in comparison to diets T1:7% (n=241) y T2: 11% (n=258), however no differences were detected with diet T3:14% (n=232). The couples of T1 showed a significant higher number of mating behaviour (n=213) in comparison to T0:6% (n=129), T2: 11% (n=54) y T3:14% (n=124). The present study evaluated the possible influence of lipids inclusion on the Clownfish mating behaviour.

Introducción

En las últimas dos décadas la acuariofilia se ha convertido en una industria económicamente atractiva. Reportes sugieren que el comercio internacional actual ha aumentado de 1000 a cerca

de 2300 especies. La venta de peces de ornato marino genera una ganancia aproximada entre los USD 200 y USD 300 millones anuales. Para cubrir la creciente demanda de peces de ornato marino y disminuir el impacto ambiental, a causa de la captura masiva de peces en arrecifes coralinos, es necesario lograr un suministro confiable y controlado de huevos fértiles y juveniles, los cuales solo pueden ser producidos con reproductores mantenidos en condiciones adecuadas.

El éxito del proceso reproductivo en peces marinos está determinado, en adición al valor nutricional de su alimentación destacada por los lípidos, por sus características y tácticas comportamentales de reproducción. Las especies acuáticas se ajustan a una serie de patrones reproductivos, algunos de ellos consisten en la elección de la pareja, cortejo, preparación del nido, desove y cuidado parental entre otras, para llevar a cabo el análisis del comportamiento, se deben considerar al menos 4 aspectos causales: 1) el estímulo que lo induce y el mecanismo de respuesta (causa inmediata); 2) el desarrollo de los procesos fisiológicos y etológicos a lo largo de la vida del individuo (ontogenia); 3) historia natural del comportamiento de la especie (evolución); y 4) el papel del comportamiento en la formación de pareja y el éxito reproductivo.

Los patrones de comportamiento reproductivo: dimorfismo sexual, elección de pareja, selección de área de anidación, patrones de cortejo, conductas de desove y cuidado parental; aunado al uso de dietas balanceadas; son clave para realizar estudios sobre la ecología y biología de organismos de ornato marino con fines de producción. Siendo así, la presente investigación evaluó el comportamiento reproductivo del pez payaso tomate *Amphiprion frenatus*, después de suministrar una dieta balanceada con diferentes inclusiones de lípidos, con los nutrientes necesarios para su crecimiento, metabolismo y reproducción.

Materiales y métodos

Se instaló un sistema de recirculación de agua marina, de 12 tanques plásticos rectangulares, en cada tanque se introdujo un macetero de barro de 11 cm de diámetro, que funcionó como refugio, y zona de establecimiento de pareja. Un total de 48 ejemplares, con peso y longitud promedio de $2,79 \pm 1,09$ g y $5,02 \pm 0,65$ cm, fueron distribuidos a razón de cuatro organismos por tanque, por triplicado. Los organismos se alimentaron tres veces al día a saciedad (9 am, 12 pm y 3 pm). Diariamente, se realizó una medición de parámetros fisicoquímicos del agua y cada tres días una medición de los compuestos nitrogenados. Para observar el comportamiento reproductivo de los ejemplares, se adaptó e instaló un sistema de grabación (SWAN – Smart security system) y se grabaron durante 10 días consecutivos 3 sesiones: 8-9 am, 12-1 pm y 6-7 pm, cada una de aproximadamente 1 hora, durante las

cuales se observaron las interacciones entre los organismos de cada tanque.

Para medir el comportamiento reproductivo de la especie, se estimaron los siguientes patrones de comportamiento: conducta territorial, agresión, aislamiento, dominio y cortejo, las cuales cumplen los siguientes requisitos: son evidentes al momento de observar los ejemplares, repetitivas, de duración relativamente corta y similares entre los organismos. Se tomaron en cuenta estudios donde analizaron patrones de comportamiento y actividad, vinculados a la selección de pareja, agresión y desove, en diversas especies de peces de interés acuícola como son: lenguado *Solea solea* (Mas-Muñoz *et al.*, 2011), peces de arrecife (Pink y Fulton, 2014), dorada *Sparus aurata* (Ibarra-Zatarain y Duncan, 2015). Se realizó una prueba de t-student para comparar los diferentes patrones de comportamiento entre los cuatro tratamientos, para determinar la normalidad y homocedasticidad de los datos se aplicó una prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnoff, siguiendo protocolo de Ibarra-Zatarain y Duncan *et al.* (2015). Los análisis estadísticos se realizaron utilizando un software estadístico SPSS con un nivel de significancia del 95%. ($p < 0,05$).

Resultados

Territorialidad. Los ejemplares realizaron la selección de un área específica, el pez de mayor tamaño se ubicó debajo de la maceta en la parte lateral izquierda o derecha, mientras que el pez que le siguió en tamaño se ubicó dentro del refugio, los dos ejemplares de menor tamaño nadan solos, alrededor y hacia las esquinas del tanque sin ninguna dirección específica o de preferencia, se presentan varios enfrentamientos durante el día guardando la posición adoptada atacando al pez que se acerca (Fig. 1-A). Los peces del tratamiento control T0:6% de lípidos, presentaron menor número de ataques para dominar o seleccionar un territorio ($n=19$), al compararlos con los peces del: T1:7% ($n=53$), T2:11% ($n=67$) y T3:14% ($n=64$) de inclusión de lípidos. El tratamiento control expresa diferencias significativas con los tratamientos experimentales (T1:7%, $P=0.043$; T2:11%, $P=0.001$; T3:14%, $P=0.010$, respectivamente).

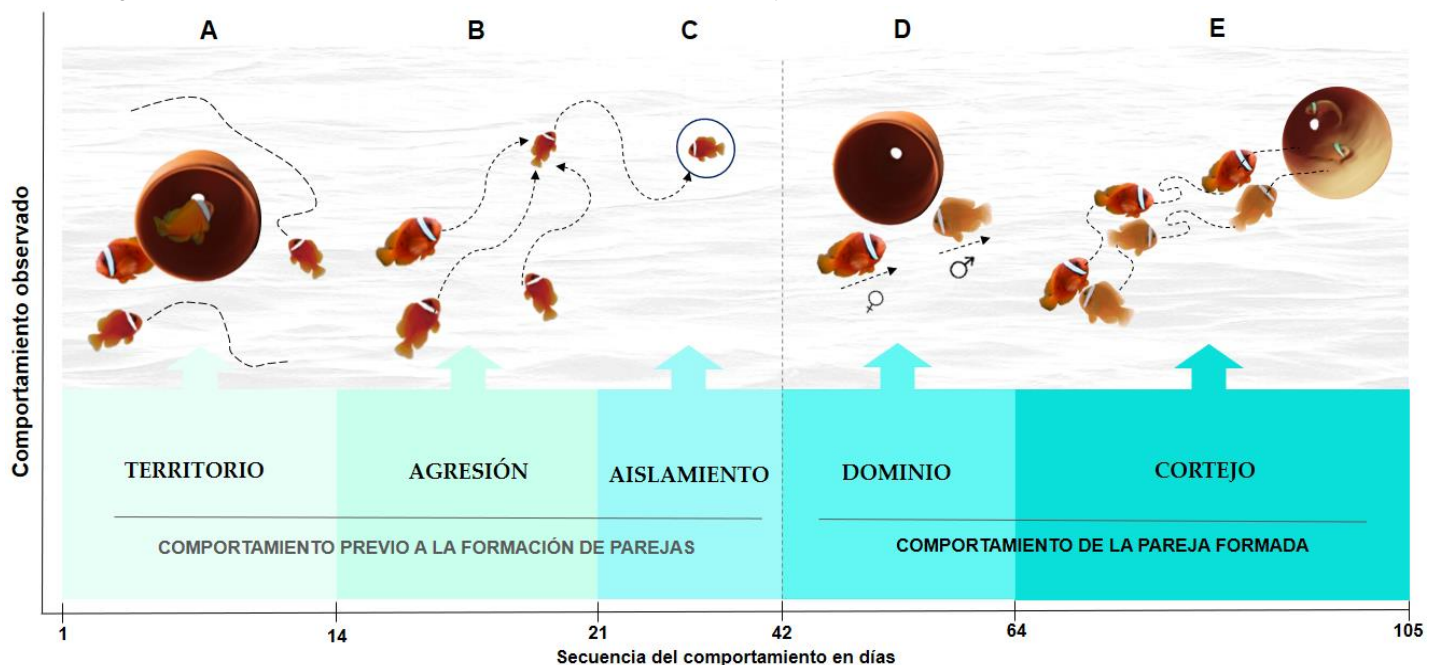
Agresión. Se caracterizó porque los ejemplares de mayor tamaño mostraron tendencias de ataque frecuente a sus congéneres. Las persecuciones se presentan con movimientos rápidos y desplazamientos de arriba hacia abajo sobre la columna de agua. Los ataques fueron rápidos y se repitieron hasta que el pez agredido se aisló en la superficie del agua (Fig. 1-B). Los organismos alimentados con la dieta control T0:6% de lípidos, realizaron significativamente un menor número de ataques o agresiones ($n=28$) en comparación a los peces de las dietas de T1:7% ($n=59$, $P=0.046$), T2:11% ($n=67$, $P=0.033$) y T3:14% ($n=68$, $P=0.016$) de lípidos.

Aislamiento. Los peces agredidos se ubicaron en la superficie y esquina de los tanques y la mayor parte del tiempo estuvieron inmóviles. Asimismo, mantuvo una posición frontal hacia al pez agresor como una manera de escape ante cualquier ataque (Fig. 1-C). Los resultados demostraron, igual que el comportamiento anterior, que los organismos de la dieta control exhibieron significativo menor número de aislamientos ($n=20$) en comparación con los peces de los tratamientos de T1:7% ($n=55$, $P=0.011$), T2:11% ($n=51$, $P=0.10$) y T3:14% ($n=51$, $P=0.036$) de inclusión de lípidos en su dieta. Asimismo, no se encontraron diferencias significativas entre los peces de los tratamientos experimentales. **Dominio.** La pareja formada permanece cerca del refugio, el pez líder expresa su dominio al mantener su aleta dorsal, aleta anal y aletas pélvicas completamente erguidas y extendidas, nada en círculos alrededor de la maceta, hacia adentro y hacia afuera y no permite el ingreso al refugio (Fig. 1-D). Una vez formadas las parejas, al extraer los dos peces de comportamiento sumiso del tanque, se observó que los peces payasos del T0:6% presentaron un patrón de comportamiento de dominancia-agresión leve hacia su pareja (para determinar el sexo y posición cerca del área de anidación) significativamente diferente al de las parejas de payasos del T1:7% ($P=0.001$) y T2:11% ($P=0.01$) de lípidos, pero no con la dieta de T3:14% ($P=0.061$). En este contexto, el número de ataques

entre las parejas del tratamiento control fue de 166 ataques mientras que las parejas de los tratamientos 7, 11 y 14% de inclusión de lípidos fue: 241, 258 y 232, respectivamente. Adicionalmente, se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de 7% y 11% de lípidos, mas no así entre los tratamientos de 7% contra 14% y 11% contra 14%.

Cortejo. El pez de mayor tamaño ataca y persigue a su pareja, mientras que su congénere demuestra sumisión adoptando una postura no ofensiva y realiza movimientos de temblores o sacudidas, el ejemplar dominante reconoce este comportamiento sumiso y no lo agrede. Los acercamientos que se presentan son sutiles, nadan juntos y en ocasiones el probable macho realiza un movimiento de temblor haciendo un arco con su cuerpo. Los dos organismos nadan juntos en círculos en torno al refugio, luego ingresan a él con un movimiento rápido e inician la limpieza interna y externa del nido de arriba hacia abajo de manera sincronizada y posición de cola hacia arriba mordiendo con la boca el interior de la maceta (Fig. 1-E). Las parejas del T1:7% de lípidos, presentaron el mayor número de cortejos ($n=213$), valor que resulta significativamente diferente a la pareja del T0:6% ($n=129$, $P=0.019$) y T2:11% ($n=154$, $P=0.030$) y T3:14% ($n=124$, $P=0.005$). Estos resultados sugieren que los peces del T1:7% de lípidos indujo a mayor número de cortejos entre las parejas, seguidos del T2:11% de lípidos

Figura 1. Patrones de comportamiento observados en el pez payaso tomate *A. frenatus*



Discusión

Para la recolección de datos y evaluación de comportamiento, existen métodos relativamente

fáciles de realizar, como grabaciones de video y observaciones visuales. En el presente estudio, el uso de cámaras de video fue indispensable para

describir la conducta reproductiva del pez payaso tomate *Amphiprion frenatus*, como ha sido reportado para otras especies de peces (Bolgan *et al.*, 2016) e (Ibarra-Zatarain y Duncan, 2015). El comportamiento reproductivo observado inicia con la participación de dos ejemplares dominantes y dos organismos subordinados determinado por su tamaño corporal. Este tipo de comportamiento es habitual en la especie, donde hay un solo grupo de peces payaso compuesto de una pareja reproductora dominante y cero a cuatro peces subordinados. Adicionalmente, dentro de cada grupo, hay una jerarquía de tamaño único; la hembra es más grande (rango 1), el macho es el segundo más grande (rango 2), y los peces sin madurez sexual se vuelven progresivamente más pequeños.

En el presente estudio se realizó, por primera ocasión, una evaluación sobre el efecto de incluir diferentes niveles lipídicos en dietas del pez payaso tomate, *A. frenatus*, sobre el comportamiento reproductivo. De manera general, los resultados obtenidos sugirieron que niveles superiores al 6% de lípidos en la dieta induce a cambios comportamentales en esta especie, caracterizados por mayores índices de agresión y dominio sobre territorio y a exhibir un mayor número de cortejos. Estudios relacionados con la adición o sustitución de lípidos en dietas han sido reportados para diversas especies de peces y generalmente se han enfocado a evaluar su impacto sobre la organogénesis, crecimiento y fisiología en caso de larvas y juveniles, así como, en temas de reproducción.

Relativo al aspecto reproductivo, existen numerosos estudios donde han documentado el impacto que tienen los lípidos y, más aun, como los niveles de inclusión de estos impactan la maduración, desarrollo gonadal y éxito reproductivo, ya que los lípidos son precursores de diversas hormonas, como las gonadotropinas que se encargan de diferenciar el sexo e iniciar la maduración sexual de los peces (Filby *et al.*, 2008). Esto puede explicar los resultados del presente estudio, en el sentido de que un mayor nivel de inclusión de lípidos promovió al pez payaso a formar parejas más rápidamente y que estas realizaran un mayor número de cortejos. En términos de comportamiento, los resultados demostraron que los peces alimentados con mayores porcentajes de lípidos en su dieta incrementaron su agresión hacia sus congéneres. Adicionalmente, mostraron mayor frecuencia o disposición por defender un área específica del

tanque donde se encontraban. De manera general, se ha documentado que los organismos, de una misma población, reaccionan y se comportan diferente entre ellos, lo cual se reconoce como co-existencia estratégica (Wolf y Weissing, 2010).

Con base a la información descrita, se sugiere que las dietas lograron modular e impactar en el comportamiento de los peces payaso en términos de agresión y dominio por las zonas del tanque y hasta la complementación de selección de pareja. Trabajos similares al presente estudio, fue reportado en el lenguaje senegalés (*Solea senegalenses*), donde se observó que proveer dietas con diferente origen lipídico modificó patrones de comportamiento en crías de esta especie (Ibarra-Zatarain, *et al.*, 2015). Asimismo, en la lucioperca (*Sander lucioperca*) se observó que agregar ácidos grasos esenciales modifico no solo la tolerancia al estrés, sino también, el bienestar fisiológico de los organismos (Lund *et al.*, 2012). Por lo anterior descrito, se sugiere que la variación comportamental del pez payaso, en términos de agresión y dominio de área, se resume al efecto que las dietas, y en especial aquellas con mayor aportación lipídica, proveyeron de mayor energía a los individuos y esto les permitió establecer jerarquías y dominio sobre sus congéneres más pequeños, que quizás consumieron menor alimento durante el experimento (Careau y Garland, 2012).

Conclusión

El presente trabajo evaluó la posible influencia de los lípidos sobre el comportamiento reproductivo del pez payaso tomate *Amphiprion frenatus*, así como otras diferentes actividades que realizan los organismos, en este caso, para lograr reproducirse en cautiverio, así mismo se logró hacer una descripción comportamental completa de la conducta y un diagrama gráfico para conocer su comportamiento reproductivo que, junto con el conocimiento de los factores ambientales y su variación, permiten hacer inferencias sobre sus efectos en la reproducción. A partir de estos estudios se puede dar continuidad a otros, tales como conocer la talla de primera madurez, fecundidad, fertilidad y eclosión, de la especie objeto de estudio. Se logró establecer como una mayor inclusión al 6% de lípidos influyen sobre el comportamiento de dominio, agresión y selección de parejas de esta especie, lo cual fue similar a otros estudios donde se ha evaluado estos parámetros.

Referencias

- Bolgan, M., O'Brien, J. and Gammell, M. (2016). The behavioural repertoire of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* (L.)) in captivity: a case study for testing ethogram completeness and reducing observer effects. *Ecology of Freshwater Fish*, 25(2): 318-328. <https://doi.org/10.1111/eff.12212>
- Careau, V. and Garland, T. (2012). Performance, personality, and energetics: correlation, causation, and mechanism. *Physiological and Biochemical Zoology*, 85(6): 543-571. <https://doi.org/doi:10.1086/666970>

- Filby, Amy, L., Aerle, R., Duitman, J. and Tyler C. (2008). The kisspeptin/gonadotropin-releasing hormone pathway and molecular signaling of puberty in fish. *Biology of reproduction*, 78(2): 278-289. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.107.063420>
- Ibarra-Zatarain, Z., Morais S., Bonacic K., Campoverde, C. and Duncan, N. (2015). Dietary fatty acid composition significantly influenced the proactive reactive behaviour of Senegalese sole (*Solea senegalenses*) post-larvae. *Applied animal behaviour science*, 171: 233-240. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2015.08.007>
- Ibarra-Zatarain, Z. and Duncan, N. (2015). Mating behaviour and gamete release in gilthead seabream (*Sparus aurata*, Linnaeus 1758) held in captivity. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 13, e04-001. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2015131-6750>
- Lund, I., Vilhelm, P. and Winding, B. (2012). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A Dietary supplementation of essential fatty acids in larval pikeperch (*Sander lucioperca*); short and long term effects on stress tolerance and metabolic physiology. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*. 17(2): 340-348. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.04.004>
- Mas-Muñoz, J., Komen, H., Schneider, O., Visch, SW. and Schrama, JW. (2011). Feeding behaviour, swimming activity and boldness explain variation in feed intake and growth of sole (*Solea solea*) reared in captivity. *PLoS One*, 6(6): e21393. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021393>
- Pink, JR. and Fulton, CJ. (2014). Right tools for the task: intraspecific modality in the swimming behaviour of coral reef fishes. *Marine biology*, 161(5): 1103-1111. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2403-0>
- Wolf, Max. and Weissing, FJ. (2010). An explanatory framework for adaptive personality differences. *Philosophical Transactions of the Royal Society. Biological Sciences*, 365(1560): 3959-3968. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0215>