

Evaluación de calidad seminal en yamú (*Brycon amazonicus*): Relación con la viabilidad posdescongelación

Suárez-Martínez, R.O.^{1,2}; Jiménez-Molina, W.R.¹; Sandoval-Vargas, L.Y.²; Bernal-Buitrago, G.F.²; Valderrama-Díaz, J.A.²; Ramírez-Merlano, J.A.²; Medina-Robles V.M.²; Cruz-Casallas P.E.².

¹Grupo de Investigación en Manejo y Producción de Especies Silvestres – GRIPES, Programa de Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá, Cundinamarca, Colombia.

²Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos – GRITOX, Instituto de Acuicultura, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de Los Llanos, Villavicencio, Meta, Colombia.
pecruzasallas@unillanos.edu.co

Resumen

A pesar de los estudios sobre crioconservación de gametos y de los avances obtenidos mediante experimentos de laboratorio a pequeña escala, la crioconservación de semen de peces en Colombia no ha logrado los progresos prácticos suficientes que permitan su uso a escala comercial. Uno de los limitantes ha sido la alta variación de la fertilidad de los espermatozoides posdescongelación, observada incluso entre individuos de la misma especie, debido a la diferente capacidad de las células espermáticas de resistir los efectos de la crioconservación, la cual parece estar directamente relacionada con la composición del plasma seminal de cada individuo. **Objetivo.** Evaluar diferentes variables de calidad seminal en yamú y determinar su relación con la congelabilidad. **Materiales y métodos.** La investigación se realizó en el Laboratorio de Reproducción de Peces Tropicales del Instituto de Acuicultura de Los Llanos. Nueve (9), machos sexualmente maduros ($1.18 \pm 0,16$ kg), fueron inducidos con Extracto de Hipófisis de Carpa (4 mg/Kg); a las 18 horas post-inducción el semen con movilidad > 80% fue diluido en proporción 1:4 en una solución de glucosa (5.5 %), yema de huevo (12%) y DMSO (10%), luego conservado en macrotubos de 5 ml en vapores de nitrógeno líquido (30 min.), y luego a -196°C. Se determinó la viabilidad del semen crioconservado y fresco a través de pruebas de fertilidad empleando

una dosis de 75000 y 50000 espermatozoides/oocito respectivamente. Las variables volumen, espermatozoides, concentración, tiempo de activación, concentración de los iones Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+} , Ca^{2+} , colesterol, triglicéridos, glucosa y proteínas, fueron evaluados. Se determinó la relación entre las variables del semen fresco y fertilidad posdescongelación. Las correlaciones de Pearson para las variables Mg^{2+} , K^+ , colesterol y proteína, fueron negativas con la fertilidad, sin embargo, se encontraron relaciones entre el ion cloruro (Cl^-) y concentración espermática (correlación negativa y altamente (-0,98; $P < 0,01$)), así como entre el Cl^- y la osmolaridad (0,95; $P < 0,01$). A través de las variables evaluadas no es posible explicar aún los resultados de la variación de la fertilidad posdescongelación en la especie estudiada.

Palabras clave: Semen, bioquímica, iones, congelación, correlación

Abstract

Despite studies about cryoconservation of gametes and of the advances obtained in laboratory experiments to small scale, the cryoconservación of semen of fish in Colombia has not achieved the enough practical progresses that allow its use to commercial scale. One of the obstacles has been the high variation of the fertility of thawed sperm, even observed among individuals of the same species, due to the different capacity of the spermatid cells to resist the effects of the cryoconservación, which seems to be directly related with the composition of each individual's seminal plasma. Objective. To evaluate different variables of seminal quality in yamú and to determine their relationship with the congelabilidad. Materials and methods. The investigation was carried out in the Laboratory of Reproduction of Tropical Fish of the Institute of Acuicultura of The Plains. Nine (9), sexually mature males ($1.18 \pm 0,16$ kg), they were induced with Extract of Hypophysis of Carp (4 mg/Kg); at the 18 hours post-induction the semen with mobility $> 80\%$ was diluted in proportion 1:4 in a solution of glucose (5.5%), egg yolk (12%) and DMSO (10%), then conserved in macrotubos of 5 ml in vapors of liquid nitrogen (30 min.), and then at -196°C . The viability of the semen cryoconservado was determined and fresh through tests of fertility

using a dose of 75000 and 50000 espermatozoides/oocito respectively. The variable volume, espermatozoides, concentration, time of activation, concentration of the ions Na⁺, K⁺, Cl⁻, Mg²⁺, Ca²⁺, cholesterol, triglycerides, glucose and proteins, they were evaluated. The relationship was determined between the variables of the fresh semen and fertility posdescongelación

The correlations of Pearson for the variable Mg²⁺, K⁺, cholesterol protein, they were negative with the fertility, however, they were relationships among the ion chloride (Cl⁻) and spermatocrito (negative correlation and highly (-0,98; P <0,01)), as well as among the Cl⁻ and the osmolaridad (0,95; P <0,01).. through the evaluated variables it is not possible to still explain the results of the variation of the fertility posdescongelación in the studied species.

Keywords: Semen, biochemistry, ions, freezing, correlation

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

El proyecto fue realizado en el Laboratorio de Reproducción de Peces Tropicales de la Estación Piscícola del Instituto de Acuicultura de la Universidad de Los Llanos (IALL).

Material Biológico

Para el experimento se escogieron 9 ejemplares de yamú (*Brycon amazonicus*), sexualmente maduros, con un peso aproximado de $1,19 \pm 0,16$ Kg de peso corporal (PC). Estos peces fueron criados y mantenidos en estanques de tierra a una densidad de 1.5 peces.m⁻². Todos los animales fueron identificados individualmente, mediante códigos de colores (chaquiras), instalados en la aleta dorsal. La estimación del estado de madurez reproductiva fue realizada en machos por la presencia de semen en la papila urogenital después de una leve presión en la cavidad celómica y

en hembras mediante la comprobación del diámetro (>1200 μm) y estado de migración de la vesícula germinal en oocitos obtenidos por medio de biopsia ovárica.

Inducción reproductiva y extracción de gametos

Los peces seleccionados fueron mantenidos en tanques circulares de concreto con aireación permanente y en un sistema de recirculación de agua. Los machos fueron inyectados intramuscularmente con EHC marca Stoller Fisheries®, a razón de 4,0 mg Kg⁻¹ PC. Las hembras fueron inyectadas con 5,5 mg Kg⁻¹ PC y distribuidas en dos aplicaciones, a las 0 horas (0.5 mg Kg⁻¹ PC), y de 6 a 7 horas después (5,0 mg Kg⁻¹ PC). Para obtener los gametos, los peces fueron anestesiados en una solución 2-fenoxietanol (300 mg L⁻¹ Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA), La colecta de semen fue realizada 18

horas después de la inyección hormonal en tubos de ensayo de vidrio (15 mL). Las muestras de semen contaminadas con agua, orina, heces o sangre fueron descartadas. En el momento de la ovulación los oocitos fueron colectados 18 horas después de la última inyección hormonal. La región abdominal en cada pez fue cuidadosamente secada para evitar el contacto entre el agua y los gametos.

Evaluación de las características seminales

Movilidad masal y tiempo de activación

La colecta espermática fue mantenida a temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). La movilidad masal y tiempo de activación (duración de la movilidad) fueron evaluados usando un microscopio de luz (10X), agregando 20 μl de semen en una lámina excavada (1.0-1.2 mm de profundidad, Micro Slides Premiere®, Shanghai, China), y activando la movilidad

espermática con 180 μL de agua destilada. Las muestras con movilidad masal inferior al 80% de fueron descartadas para el proceso de crioconservación. El tiempo de activación o duración de la movilidad fue evaluada inmediatamente después de la adición de agua, registrando el tiempo hasta que la movilidad se redujo al 5%.

Concentración espermática

La concentración espermática fue determinada usando dos métodos, el primero corresponde a una técnica indirecta conocida como espermocrito, donde el semen es tomado en tubos microcapilares (75 mm de longitud y 1,1 mm de diámetro interno) y centrifugado a 14000 g , durante 5 minutos. El método directo se realiza por medio del método de Hematocitómetro, o Cámara de Neubauer, el semen es diluido (1:1200) previamente en una solución salina fisiológica (0,9% NaCl), el montaje es mantenido bajo una

atmosfera húmeda por 10 min, y subsecuentemente los espermatozoides son contados individualmente en una cámara de Neubauer (Bright Line, Optik Labor, Friedrichshofen, Germany) con un objetivo de 40X.

Evaluación de la composición del plasma seminal.

El semen fresco fué centrifugado (14000 gravedades X 15 min, EBBA 12, Hettich, Tuttlingen, Germany) y el sobrenadante (plasma), fue evaluado para cada constituyente seminal. El promedio de al menos dos mediciones fue utilizado para el análisis estadístico

Concentración de proteína, glucosa, colesterol y triglicéridos

Los niveles de proteína, glucosa, colesterol y triglicéridos fueron determinados de acuerdo con el método de (Lowry, Rosebrough, Farr, & Randall, 1951). La

absorbancia de la muestra será medida espectrofotométricamente a 750 nm. Albumina bovina será utilizada como estándar.

Concentración Iónica

Las concentraciones de Iones presentes en el plasma seminal fueron determinadas mediante Reflectancia de fibra óptica (VITROSDT60II System Chemistry, USA) en el Laboratorio Clínico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional de Colombia con Sede en Bogotá.

1.1 Proceso de crioconservación seminal y condiciones de descongelación

El semen seleccionado para el proceso de crioconservación fue mezclado y diluido (1:5), con un diluyente compuesto por glucosa monohidratada como un agente protector del exterior de la célula (5,5%, Merck, Darmstadt, Germany),

yema de huevo de gallina (12%), que ejerce una función tanto para la estabilización de la membrana como para la protección del medio intracelular de la célula y un crioprotector, DMSO 10%, (Sigma Chemical Co.), que junto con los anteriormente nombrados, garantizan la supervivencia espermática después del proceso de crioconservación. Una vez el semen ha sido diluido, debe verificarse la inexistencia de espermatozoides móviles en las muestras observadas. Realizada la verificación, el esperma diluido fue empacado en macrotubos de 4 mL (280 x 5mm, Minitub, Abfüll-und Labortechnik GmbH, Tiefenbach, Germany). Los macrotubos fueron congelados por 30 min. mediante vapores de nitrógeno en un termo (CP100 Taylor-Wharton, Theodore, AL, USA), pasados los 30 min., todos los tubos fueron sumergidos y mantenidos en un termo de nitrógeno líquido a -196°C (35 HC, Taylor-Wharton) hasta su evaluación.

Pruebas de fertilidad

Para realizar las pruebas de fertilidad se descongeló el semen durante 60 segundos, a una temperatura de 35°C . Una vez descongelado el semen fue activado con bicarbonato de sodio (1%), en una relación 1:10 (20 μL de semen con 180 μL de bicarbonato de sodio), se evaluaron movilidad masal y tiempo de activación. Para la evaluación de fertilidad se sembraron los oocitos de una hembra inducida hormonalmente (5.5 mg.kg^{-1} EPC), a razón de 75000 espermatozoides/oocito para el semen congelado y 50000 espermatozoides/oocito para el caso del control (semen fresco). De cada uno de los 9 machos congelados, así como del macho control se realizaron 3 réplicas que fueron distribuidas al azar en 30 incubadoras de flujo ascendente con capacidad de 2 litros. El porcentaje de fertilidad se determinó luego de 6 horas de

incubación a partir del promedio de 3 muestras tomadas de cada incubadora y se calculó con base en el número de oocitos embrionados (estado de cierre del blastoporo), sobre el total contenido en la muestra.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Características seminales del yamú

La tabla 1 muestra las características del semen fresco obtenido del eyaculado de 9 ejemplares de *Brycon*

amazonicus. En todos los casos los machos presentaron un volumen seminal superior a 5mL con una movilidad espermática mayor al 90%. El tiempo de activación espermática varió entre los 47 y 60 segundos, por otra parte, la concentración estuvo entre $5,22 \times 10^6$ y $9,8 \times 10^6$ spz. μL^{-1} , mientras que el espermatozoides mostró valores entre el 10% y 15%.

Tabla 1. Características del semen fresco de Yamú (*Brycon amazonicus*), 18 horas después de inyección intramuscular de Extracto de Hipofisis de Carpa (4.0 mg.kg^{-1})

	Volumen (mL)	Movilidad masal	Tiempo de activación (s)	Spcto. (%)	Concen. (spz/uL)
	5	> 90%	52	15	$5,82 \times 10^6$
	6	> 90%	55	15	$6,72 \times 10^6$
	8,3	> 90%	47	16	$6,54 \times 10^6$
	7	>90%	51	13	$7,2 \times 10^6$
	11	>90%	52	12	$9,8 \times 10^6$
	9,5	> 90%	60	15	$7,74 \times 10^6$
	7	> 90%	47	15	$5,22 \times 10^6$
	8	> 90%	50	10	$6,54 \times 10^6$
	5,5	> 90%	57	10	$5,46 \times 10^6$
Promedio	7,5		52,3	13,4	6,78
DS	1,9		4,4	2,3	1,38

Abreviaturas: S: Segundos, Spcto: espermatozoides, Conteo Neub: Conteo cámara de Neubauer, Concen.(spz/uL): Concentración espermatozoides/microlitro

2.1 Determinación de fertilidad

La tabla 2 muestra los resultados de las pruebas de fertilidad realizadas a partir del semen de los 9 individuos congelados y el tratamiento control (semen fresco). El porcentaje de fertilización obtenido con el control fue

significativamente mayor (74,8%), que los resultados obtenidos con el semen congelado ($P < 0,05$)

Tabla 2. Porcentaje de fertilidad *Brycon amazonicus*, semen fresco vs. semen congelado

Individuo	Media %	Desviación	Control	Media %	Desviación
Yamú 1	53,1	21,1	1	74	8,7
Yamú 2	63,3	7,3	2	84,7	4,2
Yamú 3	46,4	21,6	3	76	5,3
Yamú 4	55,3	16,7	4	64	5,3
Yamú 5	47,1	18,1	5	81,3	7
Yamú 6	30,9	9,0	6	68,7	6,1
Yamú 7	64,7	6,2			
Yamú 8	46,4	12,4			
Yamú 9	49,1	6,7			
Promedio:	50,5			74,8	

2.2 Composición del plasma seminal

La tabla 3, muestra las concentraciones de glucosa, colesterol, triglicéridos, proteína y electrolitos contenidos en el fluido seminal de los 9 individuos evaluados.

Se aclara que no se reportan resultados para sodio (Na^+), dado que el contenido de Na^+ presente en la muestra no alteró la sensibilidad del equipo de medición.

Tabla 3. Variables de calidad seminal del semen fresco de yamú (*Brycon amazonicus*).

Volume n (ml)	Tiempo activ. (s)	Spcto (%)	Conc. (millones)	Mg ²⁺ (mmol/L)	Cl ⁻ (mmol/L)	K ⁺ (mmol/L)	Glucos a (mg/dL)	Colest. (mg/dL)	Triglic. (mg/dL)	Prot. (mg/dL)
7,5±1,9	52,3±4,4	13,4±2, 3	7,22±4.0	0,6±0,2	75,8±4,4	28,2 ± 4,6	6,8± 0,4	3,4±1,9	18,6 ± 4,8	375,3±5, 3

* Los resultados observados en la tabla corresponden al promedio de 9 individuos evaluados

En la tabla se muestra la concentración de las variables bioquímicas evaluadas

	Mg ²⁺ (mmol/l)	Cl ⁻ (mmol/l)	K ⁺ (mmol/l)	Glucosa (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)	Proteína (mg/dL)
	0,36	69	30	7	2	15	380
	1,15	72	23	7	1	16	373
	0,5		31	7	4	30	379
	0,38	78	37	7	3	19	374
	0,42		28	7	2	19	365
	0,63	77	26	7	7	14	377
	0,42	78	26	7	3	19	375
	0,56		22	6	3	20	372
	0,53	81	31	6	6	15	383
Media	0,55	75,83	28,22	6,78	3,44	18,56	375,33
Desviación	0,24	4,45	4,63	0,44	1,94	4,82	5,27

Individuo	Osmolaridad	pH
Yamu 1	249 mOsm/L	8,3
Yamu 2	---	---
Yamu 3	266 mOsm/L	7,8
Yamu 4	279 mOsm/L	7,9
Yamu 5	264 mOsm/L	8,2
Yamu 6	271 mOsm/L	8,3
Yamu 7	279 mOsm/L	7,9
Yamu 8	278 mOsm/L	8,1
Yamu 9	302 mOsm/L	8,4
Promedio y Desviación	273,5 ± 15,33	8,0 ± 0,22

Tabla 4. Valores para osmolaridad y pH de los individuos evaluados

--- Valor no reportado

La tabla 4 muestra los valores de osmolaridad y pH encontrados en el plasma seminal de los individuos evaluados, los datos de la osmolaridad tuvieron rangos entre 249-302 mOsm/L, el dato para el Yamu 2 no se reporta debido al daño de la muestra.

En la tabla 5, se muestran las probabilidades y coeficientes de correlación de las variables que se evaluaron, los valores resaltados de color azul, indican la significancia o valor de probabilidad (p), entre las variables involucradas, los valores resaltados en rojo, indican los coeficientes de correlación (r). No se demostraron correlaciones significativas en las variables y la fertilidad, se encontraron relaciones entre variables, como el ión Cl^- y la concentración espermática (-0,98 $P < 0,01$), siendo una correlación inversa y altamente significativa, conjunto a ello existe una correlación inversamente proporcional entre la concentración de triglicéridos y el peso del animal (-0,66 $P < 0,05$).

Tabla 5. Correlación de las variables evaluadas respecto a la fertilidad

	Peso	Concent.	Esp.	Mg ²⁺	Cl ⁻	K ⁺	Gluc.	Coles.	Trigli.	Prot.	Fert.	Osm.
Peso	1	0,96	0,66	0,97	0,08	0,57	0,54	0,98	0,05	0,15	0,62	0,71
Concent.	0,02	1	0,67	0,9	0,04	0,43	0,36	0,4	0,91	0,74	0,54	0,07
Esp.	-0,17	0,18	1	0,13	0,81	0,19	0,55	0,65	0,58	0,72	0,83	0,11
Mg ²⁺	-0,02	0,05	-0,55	1	0,63	0,11	0,98	0,65	0,6	0,82	0,74	0,35
Cl ⁻	-0,75	-0,98	-0,13	-0,25	1	0,55	0,24	0,15	0,62	0,74	0,68	0,01
K ⁺	0,22	-0,32	0,48	-0,57	0,31	1	0,59	0,69	0,64	0,42	0,13	0,88
Gluc.	0,24	-0,37	0,23	0,01	-0,57	0,21	1	0,42	0,75	0,55	0,1	0,07
Coles.	-0,01	-0,35	0,17	-0,18	0,67	0,15	-0,31	1	0,75	0,14	0,29	0,19
Trigli.	-0,66	0,05	0,21	-0,2	0,26	0,18	0,12	-0,12	1	0,86	0,19	0,72
Prot.	0,52	0,14	-0,14	-0,09	0,18	0,31	-0,23	0,53	-0,07	1	0,67	0,56
Fert.	0,19	-0,25	-0,08	-0,13	-0,21	0,55	0,59	-0,39	0,48	0,17	1	0,62
Osm.	-0,16	-0,72	-0,60	0,38	0,95	0,06	-0,66	0,52	-0,15	0,25	-0,21	1

DISCUSIÓN

El volumen seminal encontrado para el presente estudio osciló entre 5 y 9,5 mL. Estos valores fueron mayores que los reportados en la misma especie (1,8 - 4 mL); por Cruz-Casallas *et al.* (2004), y para otros carácidos como el *Brycon henni* (0.8 ± 2.2 mL) (Tabares *et al.*, 2006); por otra parte, fueron menores a los 13 ± 1 mL reportados en la cachama blanca (*Piaractus brachypomus*), (Ramírez-Merlano *et al.*, 2011). La concentración espermática del yamú en este estudio ($6,8 \pm 1.4 \times 10^6$ esp/mL), resultó ser inferior a la reportada para ella misma $12,8 \times 10^6$ esp./uL (Cruz-Casallas *et al.*, 2004), y en otros carácidos como el *Brycon cephalus* ($9,23 \pm 1,5 \times 10^6$ esp./uL); por Silveira *et al.*, (2006) y *Piaractus brachypomus* (30×10^6 esp./uL); por Fresneda *et al.* (2004).

El tiempo de activación ($52,3 \pm 4,4$ seg.), fue similar a otros reportes generados para la especie (58 ± 3.1), por Cruz-Casallas *et al.*, (2004); de igual manera Mira *et al.* (2003), reportaron valores similares de $58 \pm$

15,7 segundos, en el *Brycon henni*. Es importante mencionar depende en gran medida de las propiedades químicas de la solución activadora; por ejemplo, una solución activadora de bicarbonato de sodio (NaHCO_3) al 1%, aumentó el tiempo de activación en semen fresco de *Piaractus brachypomus* (Fresneda *et al.*, 2004) y en el semen fresco de *Pseudoplatystoma fasciatum* se triplicó (Pinzón *et al.*, 2005). La inducción hormonal puede afectar el tiempo de activación en *P. brachypomus*, siendo este mayor cuando los individuos fueron inyectados con EHC (Fresneda *et al.*, 2004). La temperatura también puede afectar la movilidad, se ha comprobado que a temperaturas bajas el tiempo de movilidad aumenta, pero la velocidad de las células espermáticas disminuye (Medina - Robles, Velasco-Santamaría, Cruz-Casallas, 2005).

Los resultados de este trabajo demuestran que la crioconservación afecta los porcentajes de fertilización cuando se compara a la fertilización obtenida con semen fresco. Según

Karow (2001), las células espermáticas experimentan una serie de fenómenos propios de la crioconservación que afectan la viabilidad celular y debido a ello, la capacidad de fertilización del semen después del descongelamiento se ve reducida (Tiersch *et al.*, 1998). En Yamú (*B. amazonicus*), se reportan porcentajes de fertilidad con semen congelado por debajo del 45% (Velasco-Santamaría *et al.*, 2006), esta observación concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio 50.5%. En otras especies, los resultados de las pruebas de fertilidad con semen crioconservado fueron del 71%, como lo reportan Ramírez-Merlano *et al.* (2011), en cachama blanca, y de 75% y 81% como lo reportaron Steinberg *et al.*, (1995) y Cabrita *et al.* (2001), respectivamente, para la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Estudios realizados por Bart *et al.*, (1998), en *Ictalurus punctatus*, demuestran la importancia de estandarizar y optimizar los protocolos de crioconservación para cada especie, ya que en dicho experimento se reportan porcentajes de fertilidad con semen crioconservado del 0%.

Las concentraciones de Mg^{2+} reportadas para este estudio fueron inferiores a las obtenidas por Cruz-Casallas *et al.*, (2004), en *B. amazonicus* (3,48 mmol/L), y por Suarez-Martínez *et al.*, (2013), para *P. brachypomus* ($10 \pm 0,2$ mmol/L). No obstante, fueron similares a las determinadas para *P. fasciatum* ($0,3 \pm 0,1$ mmol/L), y *O. mykiss* ($0,85 \pm 0,13$ mmol/L), (Glogowski, *et al.*, 2000; Ramírez-Merlano, *et al.*, 2011).

Por su parte, los valores de Cl^- ($75,8 \pm 4,4$ mmol/L), se presentaron mayores que los reportados por Cruz-Casallas *et al.*, (2004), en *B. amazonicus* (26,4 mmol/L). En relación con *P. brachypomus* ($122,2 \pm 6,8$ mmol/L); *P. fasciatum* ($118,2 \pm 5,3$ mmol/L) y *Rhamdia quelen* ($139,4 \pm 2,1$ mmol/L), los valores de Cl^- se mostraron inferiores (Borges *et al.*, 2004; Ramírez-Merlano, *et al.*, 2011 y Suarez-Martínez *et al.*, 2013).

Las concentraciones de K^+ determinadas se encuentran entre los rangos reportados en *B. amazonicus* y *P. brachypomus* ($21,2$ mmol/L y $37,7 \pm$

4,9 mmol/L, respectivamente), (Cruz-Casallas *et al.*, 2004, Suarez-Martínez *et al.*, 2013); por su parte en *P. fasciatum* se reportaron valores de $4,5 \pm 1$ mmol/L, es decir, por debajo de lo presentado en este estudio.

El semen se compone del paquete celular (espermatozoides) y el plasma seminal (Ciereszko *et al.*, 2000), este último tiene su importancia debido a su función principal que es la de mantener la inmovilidad de los espermatozoides dentro de los ductos espermáticos y además de ello ejercer una función protectora sobre los espermatozoides (Cosson *et al.*, 1997). El plasma o fluido seminal tiene una composición única, y la concentración de sus componentes es específica para cada especie, por lo cual los estudios de las características seminales son necesarios para entender los procesos bioquímicos básicos que ocurren en los mecanismos de activación de la movilidad espermática y durante el proceso de fertilización (Linhart *et al.*, 1991; Coward *et al.*, 2002; Ingermann *et al.*, 2002; Itoh *et al.*, 2003; Kowalski *et al.*, 2003; Wojtczak *et al.*, 2003).

Algunos reportes indican que existe una gran variabilidad inter e intraespecie en la composición del plasma seminal y espermatozoides de los peces, concordando así con los resultados aquí observados y sugiriendo diferencias significativas en la secreción testicular entre individuos de la misma especie, así como en individuos de especies diferentes (Billard *et al.*, 1995). A diferencia de otros vertebrados, el fluido seminal de los peces es caracterizado por una baja concentración de proteína, conteniendo principalmente iones (Na^+ , K^+ , Ca^+ , Mg^{2+}) y una baja concentración de otras sustancias orgánicas como el colesterol, glucosa y lípidos.

Las concentraciones de las variables bioquímicas del plasma seminal evaluadas en este estudio fueron; glucosa ($6,8 \pm 0,4$ mg/dL), colesterol ($3,4 \pm 1,9$ mg/dL), triglicéridos ($18,6 \pm 4,8$ mg/dL) y proteína ($375 \pm 5,3$ mg/dL). La concentración de glucosa es cercana a los rangos reportados para *B. amazonicus* (5,4 mg/dL), (Cruz-Casallas *et al.*, 2004), mientras

que en *P. brachypomus* ($19,3 \pm 3,3$ mg/dL), Suarez-Martínez *et al.*, (2013), reportó valores son superiores a los presentados en este estudio.

Las concentraciones de colesterol fueron menores a lo mostrado en *B. amazonicus* (15,4 mg/dL), (Cruz-Casallas *et al.*, 2004), mientras que las concentraciones de triglicéridos fueron superiores para *R. quelen* ($10,9 \pm 0,8$ mg/dL), (Borges *et al.*, 2004).

En la revisión realizada para este trabajo no se encontraron reportes relacionados con valores de proteína seminal en *B. amazonicus*, sin embargo, en especies como *P. brachypomus* los valores para proteína ($36,1 \pm 18,2$ mg/dL), se mostraron superiores, contrastando con los de *R. quelen* ($0,6 \pm 0,05$ mg/dL); donde se reportaron valores inferiores a los observados en este estudio.

La osmolaridad del plasma seminal de los animales evaluados ($n=8$) en este estudio ($273,5 \pm 15,33$ mOsm/L) se presentó inferior a lo reportado para *Brycon amazonicus* (314,1 mOsm/L)

(Cruz-Casallas, Medina-Robles, Velasco-Santamaría, 2007) y *Oncorhynchus mykiss* ($322 \pm 21,76$ mOsm/L) (Glogowski *et al.*, 2000). Los resultados de osmolaridad se presentaron similares en *Rhamdia quelen* ($274,8 \pm 11,12$ mOsm/L) (Borges *et al.*, 2004) y *Esox lucios* (283 ± 33 mOsm/L) (Alavi *et al.*, 2009), mientras que en *Pseudoplatystoma metaense* (259,1 mOsm/L) (Ramirez-Merlano, Medina-Robles y Cruz-Casallas. 2011) y *Tinca tinca* (230 ± 82 mOsm/L) (Linhart *et al.*, 2003) los valores fueron inferiores en relación con lo aquí reportado.

Así como ocurre con la composición iónica del plasma seminal, la presión osmótica también puede variar entre individuos. Las variaciones en la presión osmótica observada en la literatura se atribuyen a la inducción hormonal con el propósito de una espermiación fuera de la estación reproductiva (Redondo-Muller *et al.*, 1991).

En el presente experimento se buscaron las posibles relaciones existentes entre las distintas

variables evaluadas y la viabilidad espermática posdescongelación a través de las pruebas de fertilidad. No se encontraron, relaciones que demuestren la influencia de alguna de las variables respecto a la fertilidad, sin embargo, se encontraron relaciones entre el ion cloruro (Cl^-) y concentración espermática (correlación negativa y altamente (-0,98; $P < 0,01$)), así como entre el Cl^- y la osmolaridad (0,95; $P < 0,01$).

Aunque los resultados obtenidos no demuestran una relación positiva significativa entre las variables evaluadas y la fertilidad, algunos trabajos reportan correlaciones significativas entre la concentración espermática y calidad seminal (Babiak *et al.*, 2006), así mismo, entre la composición de ácidos grasos y la funcionalidad de las células espermáticas (Asturiano *et al.*, 2001; Lahnsteiner *et al.*, 2009)

Por su parte Tabares *et al.*, (2005), demostraron que variables como el K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} , junto con la osmolaridad son los principales activadores de la movilidad espermática en *Brycon*

henni, de la misma manera que en *Oncorhynchus mykiss* se encontró que el Na^+ , el Ca^{2+} y el ion hidrogenión (H^+), son los responsables de la activación de la movilidad, siendo el K^+ su principal inhibidor (Krasznai *et al.*, 2000).

En otros estudios Alavi y Cosson (2006), también demostraron que iones como K^+ y Ca^{2+} juegan un papel importante en la movilidad espermática de salmónidos y esturiones.

CONCLUSIONES

Aunque se logró determinar la variación de la calidad y composición seminal en términos de movilidad, tiempo de activación, concentración espermática, espermatozoides, concentración iónica, triglicéridos,

colesterol y glucosa no fue posible explicar aún los resultados de la variación de la fertilidad posdescongelación en la especie estudiada.

No fue posible establecer algún efecto de las variables estudiadas sobre parámetros de calidad seminal como movilidad y fertilidad posdescongelación

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar estudios posteriores en el tema, con el fin de encontrar relaciones existentes entre las variables estudiadas y la capacidad de fertilización por parte de las células espermáticas. En ese caso sería óptimo realizar mediciones consecutivas de las variables utilizando un mayor número de animales.

Próximas investigaciones deberían orientarse a estudiar la viabilidad en ambientes comerciales a través del seguimiento y evaluación de la calidad de la semilla obtenida a partir del semen crioconservado.

BIBLIOGRAFIA

Aas, G.H., Refstie, T. and Gjerde, B. 1991. Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture* 95: 125-132.

Ali Canyon, Süleyman Akhan. (2008). Effect of Ascorbic Acid Supplementation on Sperm Quality of Rainbow Trout (*Onchorynchus mykiss*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 8: 171-175.

Alavi SMH, Rodina M, Viveiros ATM, Cosson J, Gela D, Boryshpolets, S, et al. Effects of osmolality on sperm morphology, motility and flagellar wave parameters in Northern pike (*Esox lucius* L.). *Theriogenology* 2009; 72: 32-43.

Alavi, S., Rodina, M., Policar, T., & Linhart, O. (2009). Relationship between semen characteristics and body size in *Barbus barbus* L. (Teleostei: Cyprinidae) and effects of ions and osmolality on sperm motility. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular &*

Integrative Physiology, 153(4), 430-437.

Alavi, S. M. H., & Cosson, J. (2006). Sperm motility in fishes.(II) Effects of ions and osmolality: a review. *Cell biology international*, 30(1), 1-14.

Arias, JA. (1990). Apuntes sobre la biosistemática de la Cachama Blanca *Piaractus brachypomus*. *Memorias XXI Congreso Latinoamericano de Zoología*.

Asturiano, J.F., Sorbera, L.A., Carrillo, M., Zanuy, S., Ramos, J., Navarro, J.C., Bromage, N., 2001. Reproductive performance in male European sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture* 194, 173–190.

Arias CJA. Contribución al conocimiento biológico de los peces de los Llanos, yamu (*Brycon siebenthalae*) y sapuara (*Semaprochilodus laticeps* cf.), con fines de cultivo. Informe final de investigación. UniLlanos-Colciencias; Villavicencio; 1995. 63P.

Arias CJA. Biología reproductiva del yamœ *Brycon siebenthalae* (Teleostei, Characidae) en cautiverio. Tesis de doctorado, Universidad del Valle, Cali, 2002. 112p.

Arias, J., Zaniboni, E., Pardo, S., Vásquez, W., & Atencio, V. (2004). Breeding and domesticating *Brycon siebenthalae* females for reproduction. *Acta Scientiarum Animal Science*, 262, 159-163.

Arias, JA. (2006). Estado actual del conocimiento sobre el yamú. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 125-133.

Babiak, I., Glogowski, J., Luczynski, M., & Luczynski, M. (1997). Effect of individual male variability on cryopreservation of northern pike, *Esox lucius* L., sperm. 1997; 28:191–7. *Aquaculture Research*, 28, 191-197.

Babiak, I., Ottesen, O., Rudolfson, G., Johnsen, S., 2006. Quantitative characteristics of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L., semen throughout the reproductive season. *Theriogenology* 65, 1587–1604.

Bell, M.V., Dick, J.R., Thrush, M., Navarro, J.C., 1996. Decreased 20:4n-6/20:5n-3 ratio in sperm from cultured sea bass, *Dicentrarchus labrax*, broodstock compared with wild fish. *Aquaculture* 144, 189–199.

Billard, R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutr. Develop.* 26: 877-920.

Billard, R., Cosson, J., Noveiri, S., & Pourkazemi, M. (2004). Cryopreservation and short-term storage of sturgeon sperm, a review. *Aquaculture*, 236, 1-9.

Billard R, Cosson J, Perchec G, Linhart O. Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture* 1995; 124:95e112.

Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira, D.R., Jurinitz, D.F. and Wassermann, G.F. 2004. Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiol. Biochem.* 30: 21–25.

Borges, A., Siqueira, D. R., Jurinitz, D. F., Zanini, R., do Amaral, F., Grillo, M. L., . . . Wassermann, G. F. (2005). Biochemical composition of seminal plasma and annual variations in semen characteristics of jundia *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pimelodidae). *Fish Physiology and Biochemistry*, 31(1), 45-53.

Butts, I., Babiak, I., Ciereszko, A., Litvak, M., Słowińska, M., Soler, C., & Trippel, E. (2011). Semen characteristics and their ability to predict sperm cryopreservation potential of Atlantic cod, (*Gadus morhua*) *Theriogenology*, 75(7), 1290-1300.

Butts, I., Litvak, M., & Trippel, E. (2010). Seasonal variations in seminal plasma and sperm characteristics of wild-caught and cultivated Atlantic *Gadus morhua*. *Theriogenology*, 73(7), 873-885

Butts, I., Babiak, I., Ciereszko, A., Litvak, M., Słowińska, M., Soler, C., & Trippel, E. (2011). Semen characteristics and their ability to predict sperm cryopreservation

potential of Atlantic cod (*Gadus morhua* L). *Theriogenology*, 75 , 1290–1300.

Cabrita, E., Robles, V., Alvarez, R., & Herraiz, M. (2001). Cryopreservation of rainbow trout sperm in large volume straws: application to large scale fertilization. *Aquaculture*, 201, 301-304.

Casas, I., Sancho, S., Briz, M., Pinart, E., Bussalleu, E., Yeste, M., & Bonet, S. (2009). Freezability prediction of boar ejaculates assessed by functional sperm parameters and sperm proteins. *Theriogenology*, 72, 930-948.

Ciereszko and Konrad Dabrowski (1993). Relationship between biochemical constituents of fish semen and fertility: the effect of short-term storage. School of Natural Resources, The Ohio State University, 2021 Coffey Road, Columbus, Ohio 43210, U.S.A. *Fish Physiology and Biochemistry* vol. 12 no. 5 pp 357-367

Ciereszko A, Glogowski J, Dabrowski K. Biochemical characteristics of

seminal plasma and spermatozoa of fresh water fishes. In: Tiersch TR, Mazik PM, editors. Cryopreservation in aquatic species. Louisiana: WAS, Baton Rouge; 2000. p. 20e48.

Cifuentes, R. (1999). *Composición nutricional de la carcasa de yamú en cinco etapas de cultivo*. Tesis, Universidad de La Salle, Bogotá.

Clavijo, A., & Arias, C. (2004). Avances en el estudio de la embriología del yamú, *Brycon siebenthalae* (Pisces:Characidae). *Dahlia Revista Asociación Colombiana de Ictiología*, 7, 37-48.

Coser A, Godinho H. Capacidade de fertilizacao de ovocitos e semen de curimata pacu (*Prochilodus marggravii*) em condicoes experimentais. Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciencia, 9ª Brasilia, DF, 1987: 884p.

Cosson J, Billard R, Cibert C, Dreanno C, Linhart O, Suquet M. Movements of fish sperm flagella studied by high speed videomicroscopy coupled to computer assisted image analysis. *Pol Arch Hydrobiol* 1997;44(1e2): 103e13

Coward K, Bromage NR, Hibbitt O, Parrington J. Gametogenesis, fertilization and egg activation in teleost fish. *Rev Fish Biol Fish* 2002; 12:33e58.

Cruz-Casallas, P. E. (2001). Técnicas de laboratorio para la evaluación de la calidad. *Orinoquía*, 5((1)), 155 - 163.

Cruz-Casallas, P., Pardo-Carrasco, S., Arias Castellanos, J., Lombo-Castellanos, P., DA, L.-R., & Pardo-Mariño, J. (2004). Cryopreservation of Yamu *Brycon siebenthalae* Milt. *Journal Of World Aquaculture Society*, 35(4), 529-535.

Cruz-Casallas, P. E., Y. M. Velasco-Santamaría, M. P. Ramírez-Ordoñez, V. M. Medina-Robles and M. Olivera-Ángel (2004). Determinación de algunas características bioquímicas del plasma seminal del yamú (*Brycon siebenthalae*). *Memorias II Congreso Colombiano de Acuicultura, X Jornada de Acuicultura IALL*. 114-115.

Cruz-Casallas, P. E., Lombo-Rodríguez, D. A., & Velasco-

Santamaría, Y. M. (2005). Milt quality and spermatozoa morphology of captive *Brycon siebenthalae* (Eigenmann) broodstock. *Aquaculture Research*, 36(7), 682-686.

Cruz Casallas, P., Medina Robles, V., & Velasco Santamaría, Y. (2009). Evaluación de diferentes crioprotectores para la crioconservación de espermatozoides de yamú (*Brycon amazonicus*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 19(2), 152-159.

Cruz Casallas, P. E., Velasco Santamaría, Y. M., & Medina Robles, V. M. (2006). Determinación del espermatozoario y efecto del volumen de la dosis seminante sobre la fertilidad en yamú (*Brycon amazonicus*). *Rev. colomb. cienc. pecu*, 19(2), 140-145.

Díaz & López. (1995). *Fundamentos de Acuicultura Continental* (1ra. Edición ed.). Bogotá: INPA.

Eslava, P., Suárez, H., Pardo, S., Arias, J., & Cruz, P. (2001). Morfología macro y microscópica del esófago,

estómago y ciegos pilóricos del yamú *Brycon siebenthalae*. *Orinoquía*, 5, 111-128.

Flogli Da Silveira W, Kavamoto ET, Cestarolli MA. Qualiquantitativa e preservacao criogenica do semen do pacú *Piaractus mesopotamicus* (Holmberg, 1887), provenientes de reproducao induzida. Anais do XV Congresso Brasileiro de Zoología 1988; Curitiba, Paraná, Brasil: 283.

Flogli Da Silveira W, Kavamoto ET, Cestarolli MA, Godinho H, Ramos S, Salveira . Avaliacao spermatica, preservacao criogenica e fertilidade do semen do Pacu, *Piaractus mesopotamicus* (HOLMBERG, 1887), proveniente de reproducao induzida. B. Inst. Pesca 1990; 17: 1-13.

Glogowski J, Kwasnik M, Iros B, Dabrowski K, Goryczko K, Dobosz S, et al. (2000)

Characterization of rainbow trout milt collected with a catheter: semen parameters and cryopreservation successes. *Aquat Res*;31:289e96.

Herrera, D., Eslava, P., & Iregui, C. (1996). Aspectos de anatomía macro y microscópica del bazo de la Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). *ACOVEZ*, 21(1), 16 - 21.

Howes, G. (1982). Review of the genus *Brycon* (Teleostei:Characoidei). *Bull Br Mus Nat Hist (Zool.)*, 43, 1 - 47.

Ingermann R, Holcomb M, Robinson ML, Cloud JG. Carbon dioxide and pH affect sperm motility of white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *J Exp Biol* 2002; 205:2885-90.

Itoh A, Inaba K, Ohtake H, Fujinoki M, Morisawa M. Characterization of a cAMP-dependent protein kinase catalytic subunit from rainbow trout spermatozoa. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 305:855-61.

Kowalski R, Wojtczak M, Glogowski J, Ciereszko A. Gelatinolytic and antitrypsin activities in seminal plasma of common carp: relationship to blood, skin mucus and spermatozoa. *Aquat Living Resour* 2003; 16:438-44.

Labbe, C., & Maisse, G. (1996). Influence of rainbow trout thermal acclimation on sperm cryopreservation: relation to change in the lipid composition of the plasma membrane. *Aquaculture*, 145, 281-294.

Lahnsteiner, F., Berger, B., Horvath, A., Urbanyi, B., & Weismann, T. (2000). Cryopreservation of spermatozoa in cyprinid fishes. *Theriogenology*, 54, 1477–1498.

Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., & Patzner, R. (1996). Physiological and biochemical determination of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, semen quality for cryopreservation. *Journal of Applied Aquaculture*, 6(4), 47-73.

Lahnsteiner F, Berger B, Weismann T, Patzner RA. Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *J Fish Physiol Biochem* 1996; 15:167-79.

Lahnsteiner, F., Mansour, N., McNiven, M.A., Richardson, G.F., 2009. Fatty acids of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) semen: composition and effects on sperm functionality. *Aquaculture* 298, 118–124.

Linhart O, Slechta V, Slavik T. Fish sperm composition and biochemistry. *Bull Inst Zool Acad Sin Monogr* 1991; 16:285-311.

Landines, M. (1995). Inducción de la reproducción del yamú *Brycon siebenthalae* a partir de extracto de hipófisis de carpa (EPC). *Boletín Científico INPA*, 3, 5-17.

Linhart O, Rodina M, Bastl J, Cosson J. (2003) Urinary bladder, ionic composition of seminal fluid and urine with characterization of sperm motility in tench (*Tinca tinca* L.). *J Appl Ichthyol*;19:177e81.

López, Y., Vásquez, W., Arias, J., & Wills, A. (2004). Evaluación de

diferentes proporciones de energía/proteína en dietas para juveniles de yamú, *Brycon siebenthalae* (Eigenmann, 1912). *Rev Orinoquia* 2004; 8:64-76. *Orinoquia*, 8, 64-76.

Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265–275.

MADR, FAO, & INCODER. (2011). *Diagnóstico del Estado de la Acuicultura en Colombia (Documento para página Web)*. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural - Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación - Instituto Colombiano de Desarrollo Rural, Bogotá.

MADR-IICA. (2012). *Agenda Nacional de Investigación en Pesca y Acuicultura*.

Medina Robles, V. M., Velasco Santamaria, Y. M., & Cruz Casallas, P. E. (2005). Aspectos generales de la crioconservación espermática en peces teleósteos. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18(1), 34 - 48.

Medina-Robles, V., Velasco-Santamaría, Y. M., & Cruz-Casallas, P. E. (2007). Efecto del volumen de empaque sobre la tasa de congelación-descongelación y la fertilidad de semen crioconservado de yamú (*Brycon amazonicus*). *Archivos de medicina veterinaria*, 39(3), 229-237.

Mira, t.; f. Montoya; c. Tabares; a. Tarazona; s. Jara y m. Olivera. 2003. Parámetros fisicoquímicos y descripción morfológica en semen de sabaleta *Brycon henni* (Pisces: Characidae). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 16 (Suplemento): 80.

Muller, K., Muller, P., Pincemy, G., Kurz, A., & Labbe, C. (2008). Characterization of sperm plasma membrane properties after cholesterol modification: Consequences for cryopreservation of rainbow trout spermatozoa. *Biol Reprod*, 78, 390-399.

Muñoz, D., Vásquez, W., & Cruz, P. (1991). Reproducción inducida de la

Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*) con mGnRHA. *Boletín Red de Acuicultura*, 5(3), 3-6.

Navarro, O., Velasco Santamaría, Y., & Cruz Casallas, P. (2004). Evaluación de cinco protectores para la crioconservación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 17(Suplemento), 53-59.

Pardo, S., & Suárez, M. (1991). *Evaluación de tres niveles de administración de alimento en el periodo de ceba de la Cachama Blanca (Piaractus brachypomus)*. Tesis de pregrado, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Los Llanos, Villavicencio.

Pena, F., Johannisson, A., Wallgren, M., & Rodriguez-Martinez, H. (2003). Antioxidant supplementation in vitro improves boar sperm motility and mitochondrial membrane potential after cryopreservation of different fractions of the ejaculate. *Animal Reproduction Science*, 78, 85-98.

Penaranda, D., Perez, L., Gallego, V., Jover, M., & Asturiano, J. (2009). Improvement of European eel sperm cryopreservation method by preventing spermatozoa movement activation caused by cryoprotectants. *Cryobiology*, 59, 119-126.

Phronen, J. (1994). Composition and cryopreservation of sperm of some Finnish teleost fish. *Finnish Fish Res.*, 15, 27 - 48.

Pinzón-Arciniegas, S. M.; Mojica-Rodríguez, J.E. y Cruz-Casallas, P.E. (2005). Ensayos preliminares sobre crioconservación de semen de bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum* Linnaeus, 1766) Revista Orinoquia vol.9 N°2

Pustowka, C., McNiven, M., Richardson, G., & Lall, S. (2000). Source of dietary lipid affects sperm plasma membrane integrity and fertility in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) after cryopreservation. *Aquaculture Research*, 31, 297-305.

Ramirez-Merlano, J., Velasco-Santamaría, Y., Medina-Robles, V., & Cruz-Casallas, P. (2011). Cryopreservation effects on the sperm quality of cachama blanca *Piaractus brachypomus* (Cuvier 1818). *Aquaculture Research*, 42, 738-745.

Ramirez-Merlano, Medina-Robles, Cruz-Casallas. (Enero - Abril de 2011). Variación estacional de las características seminales del bagre rayado *Pseudoplatystoma metaense* (Telostei, Pimelodidae). *Revista MVZ Córdoba*, 16((1)), 2336-2348.

Ramírez-Merlano, Velasco-Santamaría, Medina-Robles & Cruz-Casallas. (2011). Cryopreservation effects on the sperm quality of cachama blanca *Piaractus brachypomus* (Cuvier 1818). *Aquaculture Research*, 42, 738 - 745.

Redondo-Muller C, Cosson MP, Cosson J, Billard R. (1991) In vitro maturation of the potential for movement of carp spermatozoa. *Mol Reprod Dev*;29: 259e70.

Scott, A.1'. and Baynes, S.M. 1980. A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa. J. Fish Biol. 17: 707--739.

Steinberg H.A., Hedder R., Baulain Y. & Holtz W. (1995) Cryopreservation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) semen in straws. In: Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish (ed. By F.W. Goetz & P. Thomas), pp. 146. Austin, TX, USA: University of Texas at Austin.

Stoss, J. 1983. Fish gamete preservation and spermatozoan physiology. In: Fish Physiology. Vol. IX B, pp. 305-350. Edited by W.S. Hoar, D.J. Randall and E.M. Donaldson. Academic Press, New York.

Suarez-Martínez, R.O.; Jimenez-Molina, W.R.; Sandoval-Vargas, L.Y.; Bernal-Buitrago, G.F.; Valderrama-Díaz, J.A. Ramírez-Merlano, J.A.; Medina-Robles V.M.; Cruz-Casallas P.E. (2013). Determinación de algunas variables bioquímicas del plasma seminal de la cachama blanca

(*Piaractus brachypomus*), obtenido por inducción hormonal.

Tabares Serna, C. J. (2013). Evaluación del efecto de algunas iones sobre la activación de la movilidad espermática y el potencial de membrana en *Brycon henni*.

Tabares, C. J., A. Tarazona and M. Olivera-Angel (2005). "Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce " Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 18(2): 149-161.

Tabares CJ, Montoya AF, Arboleda L, Echeverri A, Restrepo LF, Olivera-Ángel M. Efecto de la pluviosidad y el brillo solar sobre la producción y características del semen en el pez *Brycon henni* (Pisces: Characidae). Rev Biol Trop 2006; 54 (1): 179-187.

Tiersch TR, Williamson JH, Carmichael GJ, Gorman OT. Cryopreservation of sperm of the endangered razorback sucker. Transactions of the American Fisheries Society 1998; 127: 95-104.

Vassallo-Agius, R., Watanabe, T., Yoshizaki, G., Satoh, S., Takeuchi, Y., 2001. Quality of eggs and spermatozoa of rainbow trout fed an n-3 essential fatty acid-deficient and its effects on the lipid and fatty acid components of eggs, semen and livers. *Fish. Sci.* 67, 818–827.

Velasco-Santamaría, Y., Medina-Robles, V., & Cruz-Casallas, P. (2006). Cryopreservation of yamu (*Brycon amazonicus*) sperm for large scale fertilization. *Aquaculture*, 256, 264-271.

Wojtczak M, Glogowski J, Koldras M, Kucharczyk D, Ciereszko A. Characterization of protease inhibitors of seminal plasma of cyprinids. *Aquat. Living. Resour.* 2003;16:461e5.

Se recomienda realizar estudios posteriores en el tema, con el fin de encontrar relaciones existentes entre las variables estudiadas y la capacidad de fertilización por parte de las células espermáticas. En ese caso sería óptimo realizar mediciones consecutivas de las variables

utilizando un mayor número de animales.

Próximas investigaciones deberían orientarse a estudiar la viabilidad en ambientes comerciales a través del seguimiento y evaluación de la calidad de la semilla obtenida a partir del semen crioconservado.