

Efecto de dos colectas de semen en una temporada reproductiva sobre la calidad seminal de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*)

Effect of two semen collection in a breeding season on the seminal quality of red-bellied pacu (*Piaractus brachypomus*)

Roger Oswaldo Suárez Martínez^{1,2,3,4}, Víctor Mauricio Medina Robles¹, Pablo Emilio Cruz Casallas¹

RESUMEN

Se evaluó el efecto de dos colectas de semen realizadas en la misma temporada reproductiva sobre los parámetros espermáticos y composición fisicoquímica del plasma seminal de *Piaractus brachypomus*. El semen de nueve machos inducidos hormonalmente con extracto hipofisiario de carpa (EHC) fue colectado en abril y mayo de 2014. Se estudiaron los cambios entre colectas del volumen seminal (VS), movilidad espermática (ME), tiempo de activación (TA), concentración espermática (CE) y variables fisicoquímicas (Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , K^+ , glucosa, triglicéridos, proteína, osmolaridad y pH). Se observaron diferencias significativas entre colectas para Na^+ , triglicéridos y osmolaridad ($p < 0.05$) y Ca^{2+} ($p < 0.01$). Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en VS, ME, TA y CE entre colectas. La colección de semen de un reproductor inducido hormonalmente en dos oportunidades dentro de una misma temporada reproductiva es una alternativa de manejo viable en *P. brachypomus*, aunque los componentes plasmáticos pueden variar por efecto del muestreo.

Palabras clave: calidad seminal; bioquímica; iones; fertilidad

¹ Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos (GRITOX), Instituto de Acuicultura de los Llanos (IALL), Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Meta, Colombia

² Grupo de Investigación en Manejo y Producción de Especies con Potencial Zootécnico (GRIPEPZ), Programa de Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá, Cundinamarca, Colombia

³ Grupo de Investigación Ciencia Animal, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (U.D.C.A.), Bogotá, Colombia

⁴ E-mail: rosuares@udca.edu.co

Proyecto financiado y ejecutado con recursos de la Convocatoria para Proyectos de Investigación, Desarrollo Tecnológico e Innovación - 2013, Dir. General de Investigaciones – UNILLANOS y II Convocatoria Interna para financiar proyectos de investigación – 2012 – UCundinamarca

Recibido: 29 de noviembre de 2018

Aceptado para publicación: 18 de junio de 2019

ABSTRACT

The effect of two semen collections performed in the same breeding season on the sperm parameters and physicochemical composition of the seminal plasma of *Piaractus brachypomus* was evaluated. The semen of nine hormone-induced males with hypophysial carp extract (HCE) was collected in April and May 2014. Changes between semen collections in seminal volume (SV), sperm motility (SM), motility duration (MD), sperm concentration (SC) and biochemical composition (Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , K^+ , glucose, triglycerides, protein, osmolarity and pH) were evaluated. Significant differences were observed between collections for Na^+ , triglycerides and osmolarity ($p < 0.05$) and Ca^{2+} ($p < 0.01$). On the other hand, no significant differences were found in SV, SM, MD and SC between collections. The collection of semen from a hormonally induced male in two occasions in one reproductive season is a viable alternative for *P. brachypomus*, although plasma components may vary due to sampling.

Keywords: semen quality; biochemistry; ions; fertility

INTRODUCCIÓN

Piaractus brachypomus es un carácido propio de la Orinoquía y de la Amazonia, destacado por ser la especie nativa de mayor producción en Colombia, alcanzando 22 455 toneladas/año (MADR, 2018). En la Orinoquía, esta especie inicia su maduración y reproducción al inicio de la estación lluviosa, esto es a fines de marzo hasta mediados de junio (Cruz-Casallas *et al.*, 2011). A pesar del uso de inductores hormonales para reproducción en cautiverio (Fresneda *et al.*, 2004), la producción de alevinos se encuentra en parte limitada por la ausencia de gametos de machos durante gran parte del año.

La calidad espermática ha sido definida como la capacidad de un espermatozoide para fertilizar un oocito con el subsecuente desarrollo de un embrión normal (Bobe y Labbé, 2010), y depende de características celulares, así como de los constituyentes del plasma seminal (Migaud *et al.*, 2013). El plasma seminal está constituido a partir de secreciones testiculares originadas al interior del sistema de ductos espermáticos, donde además, se almacenan espermatozoides

provenientes de los túbulos seminíferos (Lahnsteiner y Patzner, 2009). Las condiciones proporcionadas al plasma seminal por las secreciones de los ductos confieren a los espermatozoides la inmovilidad que los caracteriza (Mochida *et al.*, 1999; Alavi y Cosson, 2005; 2006, Rashid *et al.*, 2018). La valoración espermática incluye parámetros como concentración, morfología y movilidad y en el plasma seminal, factores como osmolaridad, pH, iones, enzimas, metabolitos, azúcares, vitaminas y lípidos entre otros compuestos (Rurangwa *et al.*, 2004; Robles *et al.*, 2008).

Los constituyentes minerales del plasma seminal son determinantes de la calidad espermática, su presencia o ausencia afectan la osmolaridad, el pH y la activación de la movilidad (Morisawa *et al.*, 1983a,b; Dzyuba y Cosson, 2014; Cejko *et al.*, 2015). En la mayoría de las especies estudiadas predominan cinco iones: sodio (Na^+), potasio (K^+), cloruro (Cl^-), calcio (Ca^{2+}) y magnesio (Mg^{2+}), donde la composición y concentración iónica pueden variar ampliamente dentro de la misma especie, haciendo compleja la interpretación de los resultados obtenidos (Bozkurt *et al.*, 2008, 2011; Alavi *et al.*, 2009).

Ante la posible escasez de machos, una opción que se puede considerar es la reutilización de parentales en la misma temporada reproductiva. El almacenamiento de espermatozoides viejos al interior de los testículos y la espermatogénesis continua ha sido demostrado en peces reofilicos sudamericanos (Batlouni *et al.*, 2006; De Souza *et al.*, 2015). Por otro lado, Kuradomi *et al.* (2016) ha demostrado que se puede colectar repetidamente machos *P. mesopotamicus* como método de obtención de semen sin afectar la calidad espermática.

El propósito de la presente investigación fue determinar el efecto de dos colectas en una misma temporada reproductiva sobre los parámetros espermáticos (volumen seminal, movilidad espermática, tiempo de activación, concentración espermática), y composición fisicoquímica del plasma seminal (concentración iónica, triglicéridos, glucosa, pH, osmolaridad) del semen de cachama blanca *Piaractus brachyomus*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Laboratorio de Reproducción de Peces Tropicales de la Estación Piscícola del Instituto de Acuicultura de los Llanos (IALL), Universidad de Los Llanos, en Villavicencio, Meta, Colombia. Se utilizaron nueve machos *Piaractus brachyomus* maduros con evidencia de la liberación de semen a través de la papila genital. Los ejemplares fueron trasladados desde estanques de tierra hacia piletas de concreto provistas de aireación y recambio continuo de agua. Se les identificó con marcas plásticas de colores en la aleta dorsal y se les indujo hormonalmente vía intramuscular con 4 mg/kg de extracto hipofisario de carpa (EHC) (Stoller Fisheries, USA). A las 18 horas de la inducción se les inyectó 300 mg/l de 2-fenoxietanol (Sigma) como tranquilizante y el semen fue colectado directamente en un tubo de ensayo graduado en mililitros, evitando contacto con agua, he-

ces y orina. Este procedimiento se repitió en cada colecta (10/abril/2014 y 09/mayo/2014).

La concentración espermática fue evaluada a través de dos métodos: el espermatocrito (Hickman, 1958), calculado a partir de la relación porcentual entre el volumen de espermatozoides (spz) empaquetados respecto al volumen total de semen, luego de centrifugar sub-muestras individuales almacenadas en capilares (14 000 g x 15 min; EBBA 12, Hettich, Alemania); y el conteo espermático, que se realizó microscópicamente (40X) en muestras diluidas (1:1200) con solución salina (NaCl 0.9%), montadas en cámara de Neubauer. Cada muestra se evaluó por triplicado y el promedio de lecturas fue empleado para análisis subsecuentes.

La movilidad masal (%) y el tiempo de activación (duración de la movilidad) se determinaron activando 20 µl de semen con 180 µl de agua destilada sobre una lámina excavada (1.0-1.2 mm de profundidad, Micro Slides Premiere®, China). El registro de cuatro cuadrantes se promedió tomándose como valor final de movilidad. El tiempo de activación se registró en segundos, inmediatamente después de la activación y hasta que la movilidad se redujo a 5%.

La composición del plasma seminal fue determinada a partir de la centrifugación refrigerada de 1 ml de semen (3000 g x 10 min., 4 °C; Eppendorf®, 5424R, Alemania). El plasma sobrenadante fue almacenado a -20 °C en viales plásticos (Cruz-Casallas *et al.*, 2007). Se determinó: 1) osmolaridad (osmometría de presión de vapor, VAPRO®, 5600, USA); 2) pH (método potenciométrico, Hanna, HI-5221-01, España); 3) concentración de proteína (método biuret), glucosa (método enzimático glucosa-oxidasa-peroxidasa) y triglicéridos (método glicerol fosfato-oxidasa-peroxidasa), (espectrofotometría VIS, BioSystems® BTS-350, España); y 4) concentración de iones K⁺, Ca²⁺, Na⁺, Cl⁻, Mg²⁺ (electrodo ión selectivo, Vitros, DT60II, USA).

Cuadro 1. Características espermáticas del semen fresco de *Piaractus brachypomus* colectados en abril y mayo de 2014 (n=9 machos por mes)

Parámetro	Abril		Mayo	
	Media \pm s.d.	CV (%)	Media \pm s.d.	CV (%)
Volumen seminal (ml)	7.44 \pm 2.18	29.30	5.94 \pm 1.86	31.31
Movilidad espermática (%)	88.6 \pm 2.2	2.5	87.4 \pm 3.5	4.0
Tiempo de activación (s)	59.1 \pm 8.0	13.6	60.7 \pm 10.1	16.6
Concentración espermática (spz. $10^6/\mu\text{l}$)	18.58 \pm 4.90	26.37	15.81 \pm 5.26	33.27
Espermatocrito (%)	38.0 \pm 9.8	25.7	36.3 \pm 11.5	31.6

Datos presentados como media \pm desviación estándar (n=9)

El efecto de dos colectas realizadas sobre la composición fisicoquímica del plasma seminal, así como de los parámetros espermáticos (volumen seminal, concentración espermática y tiempo de activación), fueron evaluadas a partir de una prueba t para muestras relacionadas, con una significancia del 5% ($\alpha = 0.05$). El supuesto de distribución normal de los datos se verificó con la prueba de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad con la prueba de Levene. Los datos se expresaron como media \pm desviación estándar (DS). Los análisis fueron ejecutados con el programa SAS[®] University Edition. Todos los procedimientos fueron realizados de conformidad con las normas y procedimientos para el uso de animales de laboratorio, descritas por el Committee of Care and Use of Laboratory Animal Resources (NRC, 2011), y fueron aprobados por el Comité de Bioética de la Universidad de los Llanos.

RESULTADOS

No se observaron diferencias significativas entre los datos de calidad espermática por cada colecta (Cuadro 1). El volumen seminal (VS) presentó valores mínimos de 3.7 ml y máximos de 11 ml, mientras que la concentración espermática (CE) varió en-

tre 7.44 y 25.8 $\times 10^6$ espermatozoide/ μl . La movilidad espermática (ME) varió entre 80 y 90% y el tiempo de activación (TA) fluctuó entre 44 y 77 s.

Se presentaron diferencias estadísticas entre colectas al nivel de $p < 0.05$ en osmolaridad, Na^+ y triglicéridos (TG) y al nivel de $p < 0.01$ en concentración de Ca^{2+} (Cuadro 2). Entre los iones, el Na^+ fue el de mayor concentración en las dos colectas, seguido por Cl^- , K^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} .

DISCUSIÓN

La búsqueda de literatura destacó la escasa información publicada sobre las características plasmáticas seminales de *P. brachypomus*, la cual se limita a los reportes de Nascimento *et al.* (2010) y Sampaio Leite *et al.* (2014).

La ausencia de diferencias estadísticas entre colectas de los valores de VS, CE, ME, TA y espermatocrito presenta la posibilidad que un mismo macho sea colectado en dos ocasiones consecutivas sin alteración aparente de la calidad seminal. Los intervalos de tiempo entre colectas fueron de 30 días y coinciden con el estudio de Kuradomi *et al.*

Cuadro 2. Composición bioquímica del plasma seminal de *Piaractus brachypomus* colectados en abril y mayo de 2014 (n=9 machos por mes)

Parámetro	Abril		Mayo	
	Media ± s.d.	CV (%)	Media ± s.d.	CV (%)
Ca ²⁺ (mmol/l)	3.45 ± 1.34	38.84	11.87 ± 0.17**	1.43
Mg ²⁺ (mmol/l)	0.89 ± 0.14	15.73	1.01 ± 0.16	15.84
Cl ⁻ (mmol/l)	119.00 ± 8.03	6.75	125.44 ± 3.43	2.73
K ⁺ (mmol/l)	38.11 ± 4.67	12.25	37.22 ± 5.26	14.13
Na ⁺ (mmol/l)	129.89 ± 3.55	2.73	134.78 ± 3.53*	2.62
Glucosa (mg/dl)	20.11 ± 13.48	67.03	18.44 ± 13.22	71.69
Triglicéridos (mg/dl)	17.56 ± 2.92	16.63	21.11 ± 2.47*	11.70
Proteínas (mg/dl)	41.67 ± 20.81	49.94	30.56 ± 14.17	46.36
pH	8.11 ± 0.32	3.95	7.98 ± 0.20	2.51
Osmol (mOsmol/kg)	261.53 ± 19.89	7.61	307.55 ± 19.06*	6.20

Datos presentados como media ± desviación estándar (n=9). * = p<0.05), ** = p<0.01

Cuadro 3. Volumen y características espermáticas en *Piaractus brachypomus* (media ± desviación estándar)

Volumen seminal (ml)	Movilidad espermática (%)	Concentración espermática (spz. x 10 ⁶ /μl)	Autor
0.3 ± 0.2	91.2 ± 4.3	30 ± 0.6	Fresneda <i>et al.</i> (2004) ¹
13.4 ± 1.5	92 ± 1	17.7 ± 1.8	Navarro <i>et al.</i> (2004)
1.8 ± 0.6	91.0 ± 5.6	55.5 ± 2.3 ¹	Nascimento <i>et al.</i> (2010) ¹
13 ± 1	86 ± 1	11 ± 1	Ramírez-Merlano <i>et al.</i> (2011b)
7.44 ± 2.18	88.56 ± 2.24	18.58 ± 4.90	Presente estudio (1 ^{ra} colecta)
5.94 ± 1.86	87.44 ± 3.54	15.81 ± 5.26	Presente estudio (2 ^{da} colecta)

¹ Sin inducción hormonal

(2016), quienes reportaron intervalos de 35 días en el pacú *Piaractus mesopotamicus* obteniendo valores de VS similares entre colectas. Contrariamente, la frecuencia de espermiación (cada 1, 2 o 4 semanas) resultó en menores valores de VS, CE y espermatozoides, TA reducidos y ME menos vigorosa en trucha arco iris *Salmo gairdneri* (Büyükhhatipoglu y Holtz, 1984).

La movilidad espermática presentó rangos similares a los reportados por otros autores (Fresneda *et al.*, 2004; Navarro *et al.*, 2004; Nascimento *et al.*, 2010; Ramírez-Merlano *et al.*, 2011a) para *P. brachypomus*. La concentración espermática fue semejante a la descrita por Navarro *et al.* (2004), aunque menor a la obtenida por Fresneda *et al.* (2004) y Nascimento *et al.* (2010). Así

Cuadro 4. Características del plasma seminal en algunas especies ícticas de la acuicultura colombiana

Especie	pH	Osm (mOsm/kg)	K ⁺ (mmol/l)	Na ⁺ (mmol/l)	Referencia
Trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	8.1 ± 0.2	322.1 ± 21.8	30.4 ± 4.5	122.2 ± 1	Lahnsteiner <i>et al.</i> (1998); Glogowski <i>et al.</i> (2000)
Yamú (<i>Brycon amazonicus</i>)	---	314.1 ± 5.6	22 ± 0.7	86 ± 2.1	Cruz-Casallas <i>et al.</i> (2004)
	8.2 ± 0.2	273.5 ± 15.3	28.2 ± 4.6	---	Jiménez-Molina <i>et al.</i> (2016)
Bagre rayado (<i>Pseudoplatystoma metaense</i>)	---	259.9 ± 10.6	4.5 ± 1	144 ± 7.7	Ramírez-Merlano <i>et al.</i> (2011a)
Sabaleta (<i>Brycon henni</i>)	7.5 ± 0.5	299.9 ± 5.2	27.8	255	Tabares (2005); Tabares <i>et al.</i> (2006)
Cachama blanca (<i>Piaractus brachypomus</i>)	9.0 ± 0.3	313.3 ± 14.0	---	---	Nascimento <i>et al.</i> (2010); Sampaio Leite <i>et al.</i> (2014)
	8.1 ± 0.3 ⁺	261.5 ± 19.9 ⁺	38.1 ± 4.7 ⁺	129.9 ± 3.6 ⁺	Presente estudio
	8.0 ± 0.2 ⁺⁺	307.6 ± 19.1 ⁺⁺	37.2 ± 5.3 ⁺⁺	134.8 ± 3.5 ⁺⁺	

⁺ Presente estudio, primera colecta; ⁺⁺ Presente estudio, segunda colecta

mismo, el volumen seminal fue inferior al de reproductores inducidos hormonalmente con EHC (Navarro *et al.*, 2004; Ramírez-Merlano *et al.*, 2011a), pero superior al de ejemplares no inducidos (Fresneda *et al.*, 2004; Nascimento *et al.*, 2010) (Cuadro 3).

La aplicación de EHC puede aumentar el VS como resultado de una mayor producción de fluido por parte de los túbulos seminíferos (Viveiros *et al.*, 2002) y, en consecuencia, puede reducir la CE hasta en un 50% debido a un efecto diluyente (Maria *et al.*, 2012). Además del efecto hormonal, otros factores como la temperatura, el fotoperiodo y la nutrición pueden afectar el VS, mientras que la ME puede ser afectada por la edad del reproductor, la osmolaridad y la concentración iónica del medio de fertilización (Fauvel *et al.*, 2010).

En el aspecto fisicoquímico (Cuadro 2), la osmolaridad y la concentración de iones Na⁺, Ca²⁺ y TG aumentaron en la segunda colecta en contraposición a lo reportado por Munkittrick y Moccia (1987) y Hajirezaee *et al.* (2009), quienes reportaron reducción del K⁺, Na⁺ y Cl⁻ en *Salmo gairdneri*, así como descenso en iones mono y divalentes de la trucha café del caspio *Salmo trutta caspius*, estando en ambos casos asociado a la frecuencia de colecta y a la progresión de la temporada reproductiva.

El aumento en la osmolaridad seminal de *P. brachypomus* fue concomitante con el aumento de los iones Na⁺, Ca²⁺ y TG y, posiblemente, se encuentra asociado a cambios en la capacidad de los ductos espermáticos para proporcionar una hidratación seminal adecuada, a pesar del estímulo hormonal con

EHC. En este sentido, variaciones en la composición plasmática seminal de salmónidos durante la temporada reproductiva ha sido ligada a cambios histomorfológicos en el epitelio germinativo testicular, ductos testiculares principales y ductos espermáticos, que son responsables de generar componentes minerales y orgánicos del semen (Lahnsteiner *et al.*, 1993) en ciprínidos (Lahnsteiner *et al.*, 1994) y blénidos (Lahnsteiner y Patzner, 1990; Lahnsteiner *et al.*, 1990).

La osmolaridad plasmática de *P. brachypomus* se ubicó dentro de los rangos reportados por Alavi y Cosson (2006) para especies de agua dulce (230 y 360 mOsm/kg). La concentración de Na^+ fue semejante al reportado para *O. mykiss* (Lahnsteiner *et al.*, 1998; Glogowski *et al.*, 2000) y *P. metaense* (Ramírez-Merlano *et al.*, 2011b), mientras que Ca^{2+} fue superior a *B. henni* (Tabares, 2005; Tabares *et al.*, 2007). El K^+ plasmático en *P. brachypomus* se encontró dentro del rango reportado por Ciereszko *et al.* (2011) para especies de agua dulce y supera las registradas en otras especies nativas, como *B. amazonicus* (Cruz-Casallas *et al.*, 2004, 2007; Jiménez-Molina *et al.*, 2016), *P. metaense* (Ramírez-Merlano *et al.*, 2011b) y *B. henni* (Tabares *et al.*, 2006). El Cl^- , por otro lado, estuvo en el rango del *P. metaense* (Ramírez-Merlano *et al.*, 2011b), por encima del *B. amazonicus* (Cruz-Casallas *et al.*, 2004, Jiménez-Molina *et al.*, 2016) y debajo del reportado por Sampaio-Leite *et al.* (2014) para la misma especie (Cuadro 4).

En este estudio, la concentración del Mg^{2+} fue inferior a la observada en *B. amazonicus* y *B. henni* (Cruz-Casallas *et al.*, 2004; Tabares, 2005; Tabares *et al.*, 2006), mientras que el Ca^{2+} fue superior con relación a otras especies (Cuadro 5). Los iones Ca^{2+} y Mg^{2+} son fundamentales para activar la ME en ciprínidos y salmónidos. En ciprínidos, la hiposmolaridad permite el ingreso del agua a través de acuaporinas de la membrana (Dzyuba y Cosson, 2014), el cambio de polaridad de la membrana inicia el movimiento flagelar del espermatozoide por

reducción de concentraciones internas de Na^+ , K^+ , y el incremento de Ca^{2+} intracelular (Krasznai *et al.*, 2003; Dumorné *et al.*, 2017). En la carpa común *Cyprinus carpio*, el Na^+ se intercambia con Ca^{2+} para iniciar la movilidad (Krasznai *et al.*, 2003). En salmónidos, el ambiente acuático (con bajos niveles de K^+) induce la salida de K^+ desde el interior celular, estimulando el ingreso de Ca^{2+} y Mg^{2+} , que hiperpolarizan la membrana espermática y conducen a la activación de la movilidad (Morisawa, 2008).

En cuanto a la parte orgánica del plasma seminal, la concentración de TG se encuentra por encima de la reportada en *Salmo trutta magro stigma* (Bozkurt *et al.*, 2011), *Cyprinus carpio* (Bozkurt *et al.*, 2009), *Ctenopharyngodon idella* (Bozkurt *et al.*, 2008), pero inferior a la reportada en *Salmo trutta caspius* (Hajirezaee *et al.*, 2009), como se puede apreciar en el Cuadro 6.

En el presente estudio, los valores de glucosa fueron estadísticamente similares entre las dos colectas y se asemejaron a los reportados por Sampaio-Leite *et al.* (2014) para esta especie. Según Soengas *et al.* (1993), la glucosa del plasma seminal se relaciona con la demanda energética de los testículos durante la espermatogénesis o con la síntesis lipídica durante la producción de los espermatozoides. De esta manera, lípidos, glucosa y otros monosacáridos secretados hacia el fluido seminal son fuente primaria de energía durante el almacenamiento inmóvil de los espermatozoides en el testículo y durante la fase regenerativa del ciclo testicular (Lahnsteiner y Patzner, 2009). En los ductos testiculares y espermáticos se producen enzimas como la sintasa de ácidos grasos, glucosa 6-fosfatasa y glucosa 6-fosfato deshidrogenasa facilitando la producción de TG, así como la gluconeogénesis (Lahnsteiner *et al.*, 1993). La presencia de estas enzimas permite presumir la existencia de una interacción bioquímica entre sustratos energéticos para la formación y mantenimiento de las células espermáticas.

Cuadro 5. Concentración de iones Ca, Mg y Cl en el plasma seminal de algunas especies ícticas de la acuicultura colombiana

Especie	Ca ²⁺ (mmol/l)	Mg ²⁺ (mmol/l)	Cl ⁻ (mmol/l)	Referencia
Trucha arcoíris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	1.1 ± 0.3	0.9 ± 0.1	---	Lahnsteiner <i>et al.</i> (1998); Glogowski <i>et al.</i> (2000)
Yamú (<i>Brycon amazonicus</i>)	---	8.4 ± 0.4	---	Cruz-Casallas <i>et al.</i> (2004)
	---	0.6 ± 0.2	75.8 ± 0.4	Jiménez-Molina <i>et al.</i> (2016)
Bagre rayado (<i>Pseudoplatystoma metaense</i>)	---	0.3 ± 0.1	118.2 ± 5.3	Ramírez-Merlano <i>et al.</i> (2011a)
Sabaleta (<i>Brycon henni</i>)	2.03	5.1	---	Tabares (2005); Tabares <i>et al.</i> (2006)
Cachama blanca (<i>Piaractus brachypomus</i>)	---	---	376.4 ± 66.0	Nascimento <i>et al.</i> (2010); Sampaio Leite <i>et al.</i> (2014)
	3.5 ± 1.3 ⁺	0.9 ± 0.1 ⁺	119 ± 8 ⁺	Presente estudio
	11.9 ± 0.2 ⁺⁺	1.0 ± 0.2 ⁺⁺	125.4 ± 3.4 ⁺⁺	

⁺ Primera colecta; ⁺⁺ Segunda colecta

Cuadro 6. Composición orgánica del plasma seminal en especies ícticas de la acuicultura comercial

Especie	Proteína (mg/dl)	Triglicéridos (mg/dl)	Glucosa (mg/dl)	Referencia
Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	124.1 ± 30.8	---	---	Glogowski <i>et al.</i> (2000)
Trucha café (<i>Salmo trutta m.</i>)	480 ± 20	6.24 ± 0.08	---	Bozkurt <i>et al.</i> (2011)
Trucha café caspio (<i>Salmo trutta c.</i>)	60 ± 10	26.3 ± 17.5	36.03 ± 18	Hajirezaee <i>et al.</i> (2009)
Carpa espejo (<i>Cyprinus carpio</i>)	140 ± 2	10.3 ± 1.0	---	Bozkurt <i>et al.</i> (2009)
Carpa herbívora (<i>Ctenopharyngodon idella</i>)	370 ± 80	14.85 ± 1.5	1.36 ± 0.11	Bozkurt <i>et al.</i> (2008)
Cachama blanca (<i>Piaractus brachypomus</i>)	---	25.7 ± 10.4	20.3 ± 14.1	Sampaio-Leite <i>et al.</i> (2014)
	30.6 ± 14.2 ⁺	17.56 ± 2.9 ⁺	20.11 ± 13.5 ⁺	Presente estudio
	41.7 ± 20.8 ⁺⁺	21.11 ± 2.5 ⁺⁺	18.44 ± 13.2 ⁺⁺	

⁺ Primera colecta; ⁺⁺ Segunda colecta

La concentración proteica de *P. brachyomus* fue inferior con respecto a otras especies (Cuadro 6). Loir *et al.* (1990) y Aramli *et al.* (2014) reportaron rangos entre 100 y 300 mg/dl en el plasma seminal de salmones y esturiones, respectivamente, corroborando la baja concentración de proteínas presentes en el semen de *P. brachyomus* de este estudio.

CONCLUSIONES

- Colectas de semen en *Piaractus brachyomus* con un intervalo de 30 días permiten obtener semen de calidad similar de un mismo reproductor, sin variaciones significativas en los parámetros espermáticos, aunque pueden presentarse variaciones en la composición del plasma seminal.
- Las relaciones entre componentes plasmáticos son inconstantes y pueden estar afectados por el muestreo.

LITERATURA CITADA

1. **Alavi SM, Cosson J. 2005.** Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review. *Cell Biol Int* 29: 101-110. doi: 10.1016/j.cellbi.2004.11.021
2. **Alavi SM, Cosson J. 2006.** Sperm motility in fishes. II. Effects of ions and osmolality: a review. *Cell Biol Int* 30: 1-14. doi: 10.1016/j.cellbi.2005.06.004
3. **Alavi SM, 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. *Comp Biochem Phys A* 153: 430-437 doi: 10.1016/j.cbpa.2009.04.001
4. **Aramli M, Kalbassi M, Nazari, R. 2014.** Protein concentration and enzyme activities of fresh and frozen-thawed Persian sturgeon, *Acipenser persicus* (Borodin, 1897) semen. *Int Aquat Res* 6: 54. doi: 10.1007/s40071-014-0054-x
5. **Batlouni SR, Romagosa E, Borella MI. 2006.** The reproductive cycle of male catfish *Pseudoplatystoma fasciatum* (Teleostei, Pimelodidae) revealed by changes of the germinal epithelium an approach addressed to aquaculture. *Anim Reprod Sci* 96: 116-132. doi: 10.1016/j.anireprosci.2005.11.012
6. **Bobe J, Labbé C. 2010.** Egg and sperm quality in fish. *Gen Comp Endocr* 165: 535-548. doi: 10.1016/j.ygcen.2009.02.011
7. **Bozkurt Y, Ödretmen F, Erçin U, Yéldéz U. 2008.** Seminal plasma composition and its relationship with physical spermatological parameters of grass carp *Ctenopharyngodon idella* semen: with emphasis on sperm motility. *Aquac Res* 39: 1666-1672. doi: 10.1111/j.1365-2109.2008.02041.x
8. **Bozkurt Y, Ogretmen F, Secer S, Erçin U. 2009.** Effects of seminal plasma composition on sperm motility in mirror carp (*Cyprinus carpio*). *Isr J Aquacult-Bamid* 61: 307-314.
9. **Bozkurt Y, Ogretmen F, Kokcu O, Erçin U. 2011.** Relationships between seminal plasma composition and sperm quality parameters of the *Salmo trutta macrostigma* (Dumeril, 1858) semen: with emphasis on sperm motility. *Czech J Anim Sci* 56: 355-364. doi: 10.17221/2394-CJAS
10. **Büyükhatoğlu S, Holtz W. 1984.** Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females. *Aquaculture* 37: 63-71. doi: 10.1016/0044-8486(84)90044-9
11. **Cejko BI, Krejszef S, Sarosiek B, Ćarski D, Judycka S, Kowalski RK. 2015.** Biochemical factors of common carp (*Cyprinus carpio* L). 1758, seminal plasma and its relationship with sperm motility parameters. *J Appl Ichthyol* 31: 10-17. doi: 10.1111/jai.12721

12. **Ciereszko A, Glogowski J, Dabrowski K. 2011.** Biochemical characteristics of seminal plasma and spermatozoa of freshwater fishes. In: Tiersch TR, Green CC (eds). Cryopreservation in aquatic species. Louisiana, USA: World Aquaculture Society. p 46-79.
13. **Cruz-Casallas PE, Velasco-Santamaría YM, Ramírez-Ordoñez MP, Medina-Robles VM, Olivera-Ángel M. 2004.** Determinación de algunas características bioquímicas del plasma seminal del yamú *Brycon siebenthalae*. En: II Congreso Colombiano de Acuicultura.
14. **Cruz-Casallas PE, Medina-Robles VM, Velasco-Santamaría YM. 2006.** Determinación del espermatozoo y efecto del volumen de la dosis semillante sobre la fertilidad en yamú *Brycon amazonicus*. Rev Colomb Cienc Pec 19: 140-145.
15. **Cruz-Casallas PE, Medina-Robles VM, Velasco-Santamaría YM. 2007.** Seasonal variation of sperm quality and the relationship between spermatocrit and sperm concentration in Yamú *Brycon amazonicus*. N Am J Aquacult 69: 159-165. doi: 10.1577/A06-002.1
16. **Cruz-Casallas PE, Medina-Robles VM, Velasco-Santamaría YM. 2011.** Fish farming of native species in Colombia: current situation and perspectives. Aquac Res 42: 823-831. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.02855.x
17. **De Souza TG, Hainfellner P, Kuradomi RY, Muñoz ME, Honji RM, Moreira RG, Batlouni SR. 2015.** Inappropriate management conditions, especially for the regressed class, are related to sperm quality in *Prochilodus lineatus*. Theriogenology 83: 797-807. doi: 10.1016/j.theriogenology.2014.11.018
18. **Dumorné K, Figueroa E, Cosson J, Lee Estévez M, Ulloa Rodríguez P, Valdebenito I, Farías JG. 2017.** Protein phosphorylation and ions effects on salmonid sperm motility activation. Rev Aquacult 10: 727-737. doi: 10.1111/raq.12198
19. **Dzyuba V, Cosson J. 2014.** Motility of fish spermatozoa: from external signaling to flagella response. Reprod Biol 14: 165-175. doi: 10.1016/j.repbio.2013.12.005
20. **Fauvel C, Suquet M, Cosson J. 2010.** Evaluation of fish sperm quality. J Appl Ichthyol 26: 636-643. doi: 10.1111/j.1439-0426.2010.01529.x
21. **Fresneda A, Lenis G, Agudelo E, Olivera-Ángel M. 2004.** Espermiación inducida y crioconservación de semen de Cachama. Rev Colomb Cienc Pec 17: 46-52.
22. **Glogowski J, Kwasnik M, Piros B, Dabrowski K, Goryczko K, Dobosz S, Kuzminski H, et al. 2000.** Characterization of rainbow trout milt collected with a catheter: semen parameters and cryopreservation successes. Aquac Res 31: 289-296. doi: 10.1046/j.1365-2109.2000.00400.x
23. **Hajirezaee S, Amiri BM, Mirvaghefi AR. 2009.** Effects of stripping frequency on semen quality of endangered Caspian brown trout, *Salmo trutta caspius*. Am J Anim Vet Sci 4: 65-71. doi: 10.3844/ajavsp.2009.65.71
24. **Hickman CG. 1958.** Spermatocrit values in facilitating the estimation of spermatozoa concentrations. J Dairy Sci 41: 318-319. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(58)90914-7
25. **Jiménez-Molina WR, Suárez-Martínez RO, Medina-Robles VM, Cruz-Casallas PE. 2016.** Evaluación de la calidad seminal en yamú *Brycon amazonicus*: relación con la viabilidad posdescongelación. En: XXII Jornada de Acuicultura - IALL. Villavicencio, Colombia.
26. **Krasznai Z, Morisawa M, Morisawa S, Krasznai ZT, Trón L, Gáspár R, Márián T. 2003.** Role of ion channels and membrane potential in the initiation of carp sperm motility. Aquat Living Resour 16: 445-449. doi: 10.1016/S0990-7440(03)00054-8
27. **Kuradomi RY, De Souza TG, Foresti F, Schulz RW, Bogerd J, Moreira RG, Furlan LR, et al. 2016.** Effects of re-

- stripping on the seminal characteristics of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) during the breeding season. *Gen Comp Endocr* 225: 162-173. doi: 10.1016/j.ygcen.2015.06.007
28. **Lahnsteiner F, Richtarski U, Patzner RA. 1990.** Functions of the testicular gland in two blenniid fishes, *Salaria* (= *Blennius*) *pavo* and *Lipophrys* (= *Blennius*) *dalmatinus* (Blenniidae, Teleostei) as revealed by electron microscopy and enzyme histochemistry. *J Fish Biol* 37: 85-97. doi: 10.1111/j.1095-8649.1990.tb05930.x
 29. **Lahnsteiner F, Patzner RA. 1990.** The spermatic duct of blenniid fish (Teleostei, Blenniidae) fine structure, histochemistry and function. *Zoomorphology* 110: 63-73. doi: 10.1007/BF01632813
 30. **Lahnsteiner F, Patzner RA, Weismann T. 1993.** Energy resources of spermatozoa of the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Pisces, Teleostei). *Reprod Nutr Dev* 33: 349-360. doi: 10.1051/rnd:19930404
 31. **Lahnsteiner F, Patzner RA, Weismann T. 1994.** Testicular main ducts and spermatic ducts in some cyprinid fishes I. Morphology, fine structure and histochemistry. *J Fish Biol* 44: 937-951. doi: 10.1111/j.1095-8649.1994.tb01266.x
 32. **Lahnsteiner F, Berger B, Weismann T, Patzner RA. 1998.** Determination of semen quality of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by sperm motility, seminal plasma parameters, and spermatozoal metabolism. *Aquaculture* 163: 163-181. doi: 10.1016/S0044-8486(98)00243-9
 33. **Lahnsteiner F, Patzner RA. 2009.** Male reproductive system: spermatic duct and accessory organs of the testis. In: Jamieson BGM (ed). *Reproductive biology and phylogeny of fishes* (Agnathans and bony fishes). New Hampshire, USA: Science Publishers. p 143-186.
 34. **Loir M, Labbé C, Maisse G, Pinson A, Boulard G, Mourot B, Chambeyron F. 1990.** Proteins of seminal fluid and spermatozoa in the trout *Oncorhynchus mykiss*: partial characterization and variations. *Fish Physiol Biochem* 8: 485-495. doi: 10.1007/BF00003405
 35. **Maria AN, Azevedo HC, Santos JP, Carneiro PC. 2012.** Hormonal induction and semen characteristics of tambaqui *Colossoma macropomum*. *Zygote* 20: 39-43. doi: 10.1017/S0967199410000559
 36. **Migaud H, Bell G, Cabrita E, McAndrew B, Davie A, Bobe J, Herráez MP, et al. 2013.** Gamete quality and broodstock management in temperate fish. *Rev Aquacult* 5: 194-223. doi: 10.1111/raq.12025
 37. **[MADR] Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. 2018.** Dirección de Cadenas Pecuarias, Pesqueras y Acuícolas. Cadena de la Acuicultura. [Internet]. Disponible en: <https://sioc.minagricultura.gov.co/Acuicultura/Boletines/>
 38. **Mochida K, Kondo T, Matsubara T, Adachi S, Yamauchi K. 1999.** A high molecular weight glycoprotein in seminal plasma is a sperm immobilizing factor in the teleost Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Dev Growth Differ* 41: 619-627. doi: 10.1046/j.1440-169x.1999.00463.x
 39. **Morisawa M, Suzuki K, Morisawa S. 1983a.** Effects of potassium and osmolality on spermatozoan motility of salmonid fishes. *J Exp Biol* 107: 105-113.
 40. **Morisawa M, Suzuki K, Shimizu H, Morisawa S, Yasuda K. 1983b.** Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. *J Exp Biol* 107: 95-103.
 41. **Morisawa M. 2008.** Adaptation and strategy for fertilization in the sperm of teleost fish. *J Appl Ichthyol* 24: 362-370. doi: 10.1111/j.1439-0426.2008.01126.x
 42. **Munkittrick KR, Moccia RD. 1987.** Seasonal changes in the quality of rainbow trout *Salmo gairdneri* semen: effect of a delay in stripping on spermatozoa, motility, volume and seminal plasma constituents. *Aquaculture* 64: 147-156. doi: 10.1016/0044-8486(87)-90350-4

43. [NRC] **National Research Council. 2011.** Guide for the care and use of laboratory animals. 8th ed. Washington, USA: NRC. 220 p. [Internet]. Available in: <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>
44. **Nascimento AF, Maria AN, Pessoa NO, Carvalho MA, Viveiros AT. 2010.** Out-of-season sperm cryopreserved in different media of the Amazonian freshwater fish pirapitinga *Piaractus brachypomus*. Anim Reprod Sci 118: 324-329. doi: 10.1016/j.anireprosci.2009.07.002
45. **Navarro O, Velasco-Santamaría YM, Cruz-Casallas PE. 2004.** Evaluación de cinco protectores para la crioconservación de semen de cachama blanca *Piaractus brachypomus*. Rev Colomb Cienc Pec 17: 53-59.
46. **Ramírez-Merlano JA, Velasco-Santamaría YM, Medina-Robles VM, Cruz-Casallas PE. 2011a.** Cryopreservation effects on the sperm quality of cachama blanca *Piaractus brachypomus* (Cuvier 1818). Aquac Res 42: 738-745. doi: 10.1111/j.1365-2109.2011.02835.x
47. **Ramírez-Merlano JA, Medina-Robles VM, Cruz-Casallas PE. 2011b.** Variación estacional de las características seminales del bagre rayado *Pseudoplatystoma metaense* (Telostei, pimelodidae). Rev MVZ Cordoba 16: 2336-2348.
48. **Rashid I, Hossain MS, Salam MA, Rafiquzzaman SM. 2018.** Evaluation of seminal plasma composition and spermatozoa quality parameters of silver barb, *Barbonymus gonionotus* Bleeker, 1850. Fish Physiol Biochem 45: 105-114. doi: 10.1007/s10695-018-0539-4
49. **Robles V, Herráez P, Cabrita E. 2008.** Sperm quality assesment. In: Cabrita E, Herráez P (eds). Methods in reproductive aquaculture. Marine and Freshwater Species. CRC Press. p 93-147.
50. **Rurangwa E, Kime DE, Ollevier F, Nash JP. 2004.** The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture 234: 1-28. doi: 10.1016/j.aquaculture.2003.12.006
51. **Sampaio Leite J, Melo-Maciel MAP, Ribeiro Pinheiro RR, Silva Pinheiro JP, Salmito-Vanderley CSB, Ferreira Nunes J. 2014.** Avaliação da presença de glicose, cloreto e triglicérido no plasma seminal de tambaqui e pirapitinga. In: VII Congresso Norte-Nordeste de Reprodução Animal. Brasil.
52. **Soengas JL, Sanmartín B, Barciela P, Aldegunde M, Rozas G. 1993.** Changes in carbohydrate metabolism in domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) related to spermatogenesis. Comp Biochem Phys B 105: 665-671. doi: 10.1016/0305-0491(93)90103-C
53. **Tabares CJ. 2005.** Evaluación del efecto de algunos iones sobre la activación de la movilidad espermática y el potencial de membrana en *Brycon henni* (Eigenmann, 1913). Tesis de Magister. Medellín, Colombia: Univ. de Antioquia. 68 p.
54. **Tabares CJ, Montoya-López AF, Arboleda L, Echeverri A, Restrepo LF, Olivera-Ángel M. 2006.** 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 54: 179-187. doi: 10.15517/rbt.v54i1.13992
55. **Tabares CJ, Ruíz T, Arboleda L, Olivera M. 2007.** Effect of some ions on sperm activation in *Brycon henni* (Eigenmann, 1913). Acta Biol Colomb 12: 87-98.
56. **Viveiros ATM, Fessehayey ter Veld M, Schulz RW, Komen J. 2002.** Handstripping of semen and quality after maturational hormone treatments, in African catfish *Clarias gariepinus*. Aquaculture 213: 373-386. doi: 10.1016/S0044-8486(02)00036-4