

VARIACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL DE BOCACHICO *Prochilodus magdalenae* DURANTE UNA TEMPORADA REPRODUCTIVA EN CAUTIVERIO

**WALTER ANTONIO RIVERA GAMARRA
GUILLERMO ANIBAL RAMOS GONZALEZ**

**UNIVERSIDAD DE CORDOBA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO CIENCIAS ACUICOLAS
PROGRAMA DE ACUICULTURA
MONTERIA
2019**

VARIACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL DE BOCACHICO *Prochilodus magdalenae* DURANTE UNA TEMPORADA REPRODUCTIVA EN CAUTIVERIO

**WALTER ANTONIO RIVERA GAMARRA
GUILLERMO ANIBAL RAMOS GONZALEZ**

Trabajo presentado a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, como requisito para obtener el título de Profesional en Acuicultura.

Directores

**Prof. Víctor J. Atencio García, MSc
Prof. José Alonso Espinosa Araujo, MSc**

**UNIVERSIDAD DE CORDOBA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO CIENCIAS ACUICOLAS
PROGRAMA DE ACUICULTURA
MONTERIA
2019**

El jurado del trabajo no será responsable de las ideas emitidas por los autores (Artículo 46, acuerdo 006 del 29 de mayo de 1997 del Consejo Superior)

Nota de aceptación

Presidente del jurado

Jurado

Jurado

Montería, 2019

DEDICATORIA

*A DIOS POR SER MI GUÍA QUE ME Ha MOSTRADO
EL CAMINO CORRECTO DIA A DIA*

*A MI MADRE Y A MI PADRE POR SU APOYO
ECONOMICO Y CONSEJOS CONSTANTE EN MI
CARRERA PROFESIONAL*

A MIS HERMANOS POR SUS CONSEJOS Y APOYO.

*AL PROGRAMA DE ACUICULTURA Y
ESPECIALMENTE AL PROFESOR JOSE ALONSO
ESPINOSA ARAUJO.*

WALTER ANTONIO RIVERA GAMARRA

*A DIOS Y LA VIDA, POR SER MI GUÍA QUE ME HA
MOSTRADO EL CAMINO CORRECTO*

*A MI MADRE POR SU APOYO Y CONSEJOS
CONSTANTE EN MI CARRERA PROFESIONAL*

*A MI HERMANA POR SUS CONSEJOS Y APOYO
ECONÓMICO.*

GUILLELMO RAMOS GONZALEZ

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Investigación Piscícola de la Universidad de Córdoba CINPIC, por su contribución con infraestructura, equipos y materiales que fueron necesarios para realizar esta investigación.

A los profesionales en Acuicultura Juan Carlos Salas, Danilo Cogollo, Arnol Roa, Carlos Tapia y Reinaldo Cano por su apoyo en la parte experimental.

Al profesional en Acuicultura César David Montes Petro MSc, por su apoyo en la ejecución del experimento.

Al profesor Víctor Morales, docente departamento de Matemáticas y Estadística, por su ayuda en el análisis estadístico de los datos.

A todas aquellas personas que de una u otra manera hicieron posible el desarrollo de este logro.

CONTENIDO

		Pág.
	LISTA DE FIGURAS	
	LISTA DE TABLAS	
	RESUMEN	
	ABSTRACT	
1	INTRODUCCIÓN	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GENERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	MARCO TEÓRICO	16
3.1	BIOECOLOGÍA Y CULTIVO DE BOCACHICO <i>Prochilodus magdalenae</i>	16
3.1.1	Clasificación taxonómica	16
3.1.2	Aspectos reproductivos de bocachico	17
3.2	CALIDAD SEMINAL EN PECES	18
4	MATERIALES Y MÉTODOS	21
4.1	TIPO DE ESTUDIO	21
4.2	LOCALIZACIÓN	21
4.2.1	Material biológico	21
4.3	OBTENCIÓN Y ANÁLISIS DEL SEMEN	22
4.3.1	Evaluación macroscópica	22
4.3.2	Evaluación microscópica	22
4.3.2.1	Movilidad total y tipos de movilidad	22
4.3.2.2	Duración movilidad	23

4.3.2.3	Concentración espermática	23
4.3.2.4	Velocidad y progresividad espermática	23
4.4	pH DEL PLASMA SEMINAL	23
4.5	FERTILIZACIÓN Y ECLOSIÓN	24
4.6	CALIDAD EL AGUA	25
4.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
5	RESULTADOS	26
5.1	CARACTERÍSTICAS DE LOS PRODUCTOS SEXUALES	26
5.2	VARIACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL DEL BOCACHICO DURANTE LA TEMPORADA REPRODUCTIVA EN CAUTIVERIO	27
5.2.1	Fertilidad, eclosión y calidad seminal en función del pH	28
5.3	ANÁLISIS DE REGRESIÓN ENTRE CALIDAD SEMINAL Y DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DURANTE LA TEMPORADA REPRODUCTIVA DEL BOCACHICO EN CAUTIVERIO	29
5.3.1	Fertilidad en función de movilidad total, tipos de movilidad y velocidad espermática.	31
5.3.2	Eclosión en función de movilidad total, tipos de movilidad y velocidad espermática.	32
5.4	CALIDAD DE AGUA EN LA INCUBACIÓN	33
6	DISCUSIÓN	34
7	CONCLUSIONES	39
8	BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ejemplar macho adulto de bocachico. Instituto de Investigación Piscícola de la Universidad de Córdoba (CINPIC, 2017).	17
Figura 2 Instituto de Investigaciones Piscícola de la Universidad de Córdoba (CINPIC, 2017)	21
Figura 3 Ecuaciones de mejor ajuste y coeficiente de correlación (R^2) entre el pH del semen y las variables fertilidad (F) eclosión (E), en la reproducción inducida de <i>Prochilodus magdalenae</i>	30
Figura 4. Ecuaciones de mejor ajuste y coeficiente de correlación (R^2) entre la movilidad total los diferentes tipos de movilidad espermática y la fertilidad, en la reproducción inducida de <i>Prochilodus magdalenae</i> mantenidos bajo condiciones de cautiverio. Mt, Movilidad total; Ma, Rápidos; Mb, Medios; VCL, Velocidad Curvilínea; VSL, Velocidad lineal.	31
Figura 5 Ecuaciones de mejor ajuste y coeficiente de correlación (R^2) entre la movilidad total los diferentes tipos de movilidad espermática y la fertilidad, en la reproducción inducida de <i>Prochilodus magdalenae</i> mantenidos bajo condiciones de cautiverio. Mt, Movilidad total; Ma, Rápidos; Mb, Medios; VCL, Velocidad Curvilínea; VSL, Velocidad lineal.	32

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Características de los productos sexuales de bocachico, <i>Prochilodus magdalenae</i> obtenidos por inducción hormonal. Datos expresados como media \pm error estándar.	26
Tabla 2. Comportamiento de las variables de calidad espermática y el pH del semen de bocachico durante el periodo (marzo-noviembre) de 2017. Vol sem, Volumen seminal; Mt, Movilidad total; Pt, Progresividad total; VSL, Velocidad lineal; VCL, Velocidad curvilínea.	28
Tabla 3. Comportamiento de las variables de calidad espermática entre rangos de pH del semen en bocachico. Mt, Movilidad total; Prog, Progresividad; Rap, Rápidos; Med, Medios; Len, Lentos; Est, Estáticos; VSL, Velocidad lineal; VCL, Velocidad curvilínea; C.E, concentración espermática.	29
Tabla 4. Calidad de agua en incubación de bocachico <i>Prochilodus magdalenae</i> .	33

RESUMEN

El objetivo fue evaluar la influencia de la variación estacional (temporalidad) en las características seminales de bocachico; para lo cual entre marzo a noviembre/2017, quincenalmente se indujeron de cinco a seis machos, con 4.5 mg de EPC/Kg (aplicación única). En total se indujeron 94 machos de un lote de dos a tres años de edad, mantenidos bajo las mismas condiciones en estanque en tierra. El semen fue obtenido por extrusión de 5 a 6 horas pos-inducción y analizado con la ayuda del software Sperm Class Analyzer (Microptic, SCA, España) y un microscopio de contraste de fase (Nikon, 50i, Japón) estimándose la concentración espermática, tiempo de activación, movilidad total, tipos de movilidad (rápidos, medios, lentos y estáticos) progresividad total y velocidades curvilínea y lineal; además, se midió pH con peachímetro digital (Horiba, Laquatwin, Japón). Para analizar la calidad seminal la temporada fue dividida en cuatro periodos: inicio (mar-abr), media (may-ago), final (sep-oct) y fuera de temporada (nov). Los resultados de la calidad seminal muestran que la mayoría de los parámetros analizados, con excepción del volumen seminal, fueron afectados por la temporalidad, destacándose los mayores valores para las variables de calidad espermática y variables cinéticas movilidad total ($90.0 \pm 2.2\%$ y $92.4 \pm 1.5\%$); rápidos ($57.9 \pm 4.1\%$ y $57.9 \pm 4.1\%$); velocidad curvilínea (112.3 ± 5.1 y $102.6 \pm 3.5 \mu\text{m/s}$); velocidad lineal (55.7 ± 3.0 y $61.1 \pm 2.1 \mu\text{m/s}$) al inicio y mitad de la temporada. Luego de transformar las variables F y E se obtuvo un modelo estadístico de tipo exponencial para la fertilidad vs la movilidad total $F = \exp(0.0402281 * \text{Movilidad total})$ y modelos lineales sin intercepto para el resto de variables $F = (0.77302 * \text{pH semen})^2$, $F = (0.130441 * \text{espermatozoides Rápidos})^2$, $F = (0.255909 * \text{espermatozoides medio})^2$, $F = (0.0646638 * \text{velocidad curvilínea})^2$, $F = (0.119576 * \text{velocidad lineal})^2$ y $E = (0.676531 * \text{pH semen})^2$, $E = (0.0630927 * \text{movilidad total})^2$, $E = (0.115566 * \text{espermatozoides rápidos})^2$, $E = (0.223802 * \text{espermatozoides medios})^2$, $E = (0.0569335 * \text{velocidad curvilínea})^2$, $E = (0.105771 * \text{velocidad lineal})^2$. Con coeficientes de correlación superiores a 0.9. Se puede concluir que el semen del bocachico presenta la mayor calidad al inicio y a la mitad del periodo reproductivo (mar-ago) cuando el pH del semen osciló entre 8.2 y 8.4.

Palabras claves: Activación, espermatozoides, movilidad total, progresividad, reproducción, SCA.

ABSTRACT

Evaluation of the semen quality of the Bocachico *Prochilodus magdalenae* under conditions of captivity during a reproductive season, was an analysis of the quality of each letterhead, a total of 94 specimens and 102 hours during the entire investigation of carp (EPC). The females were induced with 7 mg / kg of live weight in two applications and the males were given a single dose of 5.6 mg / kg of live weight at the same time of the second application of the females, for the collection of the products. Males were used sterile and dry Eppendorf with capacity of 1.5 ml, from each male was taken between 250-300 μ L of semen and deposited in the digital pH chamber and taken the semen pH value for each male. Once this record has been taken, the sperm quality variables have been taken, with the help of the Sperm Class Analyzer (SCA) software, as well as the types of curvilinear speeds (VCL) and straight line (VSL), mobility total, Mobility types (fast, medium, slow and static), as well as the activation time. Fertility was measured at 5 hours post fertilization, and hatching was measured at 11 hours post fertilization, from three aliquots (n = 100 eggs). We adjusted a linear model without intercept for the square root-Y, where the statistical models were obtained; $F = (0.77302 * \text{semen pH})^2$, and $E = (0.676531 * \text{semen pH})^2$. The statistical models for total mobility; $F = \exp(0.0402281 * \text{total mobility})$, the different types of mobility $F = (0.130441 * \text{fast sperm})^2$ and $F = (0.255909 * \text{average sperm})^2$; Like the types of speeds, $F = (0.0646638 * \text{VCL})^2$, and $F = (0.119576 * \text{VSL})^2$, showed a high correlation with the fertilizing capacity (R^2 greater than 0.9) and subsequent hatching (R^2 greater than 0.9). The highest semen performance can be evidenced at the beginning and middle season, while the lowest performance can be observed at the end and outside the season.

Keywords: activation, sperm, total mobility, progressivity, reproduction, SCA.

1. INTRODUCCIÓN

Bocachico *Prochilodus magdalenae* es la principal especie de la pesquería continental colombiana su cultivo se ha expandido rápidamente, llegando a ser la cuarta especie más cultivada en el país (Atencio–García *et al.*, 2013). En la Cuenca del río Magdalena en 1978 su captura se estimó en 38.000 ton; mientras que en 2016 la captura para esta cuenca fue sólo de 1102.4 ton (SEPEC, 2016); indicando una reducción de 97.1% en ese período de tiempo, mientras que para la cuenca del Sinú en el 2016 sus capturas fueron registradas en 242.7 ton (SEPEC, 2016). Entre las causas de esta disminución se han señalado la sobrepesca, el uso de artes de pesca ilegales, taponamiento de caños, disminución de los planos inundables, construcción de hidroeléctricas y deterioro de sus hábitats, por lo que ha sido declarada como una especie vulnerable a la extinción (Mojica *et al.*, 2012).

El bocachico es una especie importante en la piscicultura de aguas estancadas y de seguridad alimentaria; aunque en las estadísticas oficiales del Servicio Estadístico Pesquero Colombiano (SEPEC) no se refleja su importancia, debido a que es cultivada por micro y pequeños piscicultores, que usualmente no son considerados porque la estructura de muestreo atiende básicamente a los medianos y grandes productores de tilapias roja *Oreochromis* spp y nilótica *Oreochromis niloticus*, trucha *Onchorynchus mykiss* y cachama blanca *Piaractus* spp. Sin embargo, la producción de alevinos de esta especie entre agosto y diciembre de 2017 fue la segunda especie nativa que más alevinos comercializó (1.8 millones alevinos) después de cachama blanca *Piaractus brachypomus* (8.2 millones de alevinos) (Roa-Lanao *et al.*, 2018).

En la cuenca del río Sinú con el comienzo de la temporada de lluvias entre los meses de marzo y abril, marca el inicio de su periodo reproductivo, el cual se prolonga hasta octubre (Atencio–García *et al.*, 2013). En esta cuenca la frecuencia reproductiva y densidad larval es mayor entre abril (40.0%) y mayo (74.2 %) y disminuye entre los meses de junio y julio, con un segundo pico o aumento entre los meses de agosto (22.6%), septiembre (26.7%) y octubre (53.3%) (Kerguelén &

Atencio, 2015), una vez se han desovado retornan a las ciénagas en un desplazamiento que se conoce como bajanza (Mojica *et al.*, 2012).

Uno de los requisitos previos para el establecimiento de una acuicultura sostenible es la capacidad de controlar los procesos reproductivos de peces en cautiverio, para adquirir gametos de alta calidad (ovocitos y semen) (Müller *et al.*, 2018). La calidad del esperma se puede definir como su capacidad para fertilizar con éxito un óvulo y, posteriormente, permitir el desarrollo de un embrión normal (Bobe & Labbé, 2010). En cautiverio la calidad de los gametos de los peces puede ser muy variable y está bajo la influencia de un número significativo de factores externos o prácticas de manejo de reproductores (Bobe & Labbé, 2010).

La caracterización de la calidad seminal durante la temporada permite mayor eficiencia en los procesos reproductivos y estimaciones más confiables en el desempeño reproductivo, en particular los porcentajes de fertilización; por tanto, la presente investigación tiene como objetivo caracterizar la variación del semen de bocachico *Prochilodus magdalenae* durante una temporada reproductiva bajo condiciones de cautiverio.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la variación de la calidad seminal de bocachico *Prochilodus magdalenae* durante una temporada reproductiva en cautiverio.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar la concentración espermática, tiempo de activación, movilidad total, velocidad y progresividad espermática de bocachico durante una temporada reproductiva en cautiverio.
- Determinar el pH de semen de bocachico durante una temporada reproductiva en cautiverio.
- Estimar la capacidad fecundante del semen de bocachico durante una temporada reproductiva en cautiverio.
- Correlacionar la calidad seminal (movilidad, velocidades y progresividad espermática, pH) con la capacidad fecundante (fertilidad y eclosión) durante una temporada reproductiva en cautiverio.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 BIOECOLOGÍA Y CULTIVO DE BOCACHICO *Prochilodus magdalenae*

3.1.1 Clasificación taxonómica

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Actinopterygii

Subclase: Neopterygii

Orden: Characiformes

Familia: Prochilodontidae

Género: *Prochilodus*

Especie: *Prochilodus magdalenae* (Steindachner, 1879)

Nombre común: Bocachico, pescado, chico de boca.

Bocachico *Prochilodus magdalenae* es una especie de talla mediana que alcanza hasta 50 cm. Su hábitat lo identifica como un pez de agua dulce y de clima tropical, permanece cerca al fondo y obtiene su alimento succionando la superficie donde se adhiere el detritus (Atencio-García, 2000). Según Mojica et al. (2012) se distribuye en todas las zonas bajas de los sistemas del Magdalena, Sinú y Atrato hasta aproximadamente 1000 msnm, logrando llegar a los 1500 msnm en la cuenca del río Cauca.

El género *Prochilodus*, forma parte del grupo de peces reofílicos de mayor importancia económica continental en Suramérica. Teniendo amplia distribución en el neotrópico (Olaya-Nieto *et al.*, 2001); es considerado uno de los más diversos de los Characiformes con cerca de 20 a 25 especies (Mojica *et al.*, 2012). Esta especie muestra una conducta reofílica y al madurar sexualmente, desova durante la estacionalidad de las lluvias (Olaya-Nieto *et al.*, 2001). Siendo considerando el mes de abril como el inicio de su temporada reproductiva y los meses de septiembre a octubre como el final (Kerguelen & Atencio, 2015).



Figura 1. Ejemplar macho adulto de bocachico. Instituto de Investigación Piscícola de la Universidad de Córdoba (CINPIC, 2017).

3.1.2 Aspectos reproductivos del bocachico

Como en los otros vertebrados, el ciclo reproductivo de los peces puede ser dividido en dos grandes fases: la primera fase la componen la proliferación, crecimiento y diferenciación de los gametos (espermatogénesis y vitelogénesis); mientras que la maduración y preparación del ovocito y espermatozoide para la liberación y fecundación constituyen la segunda fase (espermiación y maduración final del ovocito) (Mylonas *et al.*, 2010).

Se ha establecido que la especie alcanza su primera madurez sexual cuando alcanza entre los 23 y 25 cm de longitud estándar (LE) en la cuenca del Magdalena; de 20 cm en la del Sinú; y entre 20 y 22 para el Atrato (Valderrama *et al.* 2011). Su fecundidad se ha estimado entre 150.000 y 153.000 para los ríos Sinú y Atrato (Valderrama *et al.* 2011; Mojica *et al.*, 2012), es un desovador total de fecundación externa (Mojica *et al.*, 2012). Las hembras de bocachico presentan desarrollo ovocitario sincrónico en dos grupos; es decir en sus ovarios, independiente del estado de maduración, siempre se evidencian dos lotes de ovocitos, los ovocitos

del stock de reserva (previtelogénicos) y aquellos que madurarán sincrónicamente y serán expulsados en el desove (Atencio-García *et al*, 2013).

Bocachico presenta huevos de forma esférica con diámetro de 1.9 a 2.7 mm y un corión liso y frágil; además una región perivitelinica translúcida con longitud de 0.4 a 1.5 mm. El vitelo presenta una coloración amarillenta sin gotas de aceite visibles y un diámetro de 1 a 2.6 mm. A las 2 horas pos-fertilización (hpf) se presenta el clivaje del huevo y a las 6 (hpf), se observa el embrión inicial sobre el polo animal del huevo (Arias-Gallo M. *et al* 2010). La eclosión inicia aproximadamente a las 12 hpf; la larva vitelínica o recién eclosionada mide en promedio 2.9 mm y pesa en promedio 0.5 mg y se caracteriza por la presencia de la aleta embrionaria, el rudimento de las vesículas ópticas y el esbozo de la cavidad ótica. La fase larval vitelínica, alimentación endógena, dura aproximadamente 48 horas post-eclosión (hpe), y al inicio de la alimentación exógena mide 5.4 mm y pesa 1.8 mg (Atencio-García *et al.*, 2013).

3.2 CALIDAD SEMINAL EN PECES

En los teleósteos, el crecimiento, la diferenciación y maduración gonadal están ligados principalmente a cambios físico-químicos y ambientales como el pH conductividad eléctrica, temperatura, fotoperiodo, entre otros (García-Cruz *et al.*, 2014). Estos cambios son percibidos por el pez a través de sistemas sensoriales (Sloman, 2011), que luego son transformados en impulsos nerviosos captados por dos zonas del cerebro implicadas en la reproducción: el hipotálamo y área preóptica (Obando *et al.*, 2013). Allí se produce la hormona liberadora de la gonadotropina (GnRH), que a estimula a la hipófisis para la liberación de las hormonas FSH y LH, las cuales controlan el desarrollo, crecimiento y maduración gonadal (Lubzens *et al.*, 2010; Reading & Sullivan, 2011; Obando *et al.*, 2013).

Entre los parámetros para evaluar la calidad de los espermatozoides se destacan la movilidad total, tipos de movilidad, concentración espermática y pH del plasma

seminal, entre otros (Rurangwa *et al.* 2004), además, la composición del plasma seminal (iones, lípidos, proteínas y azúcar), así como su actividad enzimática y proteolítica, también pueden utilizarse para estudiar la calidad del espermatozoide (Butts *et al.*, 2013).

La mejora de la movilidad y la viabilidad de los espermatozoides por el fluido ovárico se ha atribuido principalmente al equilibrio iónico del líquido (Scott & Baynes, 1980). Los iones presentes en el líquido ovárico, especialmente el sodio, pueden contribuir significativamente a un aumento de la osmolaridad del agua, por lo que se puede reducir el choque osmótico de los espermatozoides. Otro factor importante del fluido ovárico es el pH. Lahnsteiner *et al.* (1995), señalaron que la alcalinidad del fluido ovárico puede ser importante para optimizar la fertilización bajo condiciones naturales y especialmente en aguas ácidas. Liley *et al.* (2001), plantearon la hipótesis de que el papel del fluido ovárico para la movilidad de los espermatozoides puede beneficiar a un macho dominante durante la fecundación porque esos machos liberan los espermatozoides más cerca de los óvulos en comparación con los otros machos. Recientemente se ha sugerido que el fluido ovárico de determinadas hembras de charr ártico *Salvelinus alpinus* puede estimular la velocidad del esperma según las características individuales de los machos (Urbach *et al.*, 2005). Sin embargo, se desconoce el mecanismo de esta acción selectiva del líquido ovárico hacia los espermatozoides.

La calidad del semen, obtenido por inducción hormonal, de diferentes especies pertenecientes al orden Characiformes han sido evaluados por diversos autores. Atencio-García *et al.* (2013; 2015) reportaron que el semen fresco de bocachico presentó volumen seminal (1.3 ± 0.4 mL), con movilidad total (98.8 ± 1.7) y progresividad total ($84.0 \pm 7.1\%$), altos porcentajes de espermatozoides con velocidad rápida ($80.6 \pm 7.8\%$) y velocidad curvilínea de 184.2 ± 18.3 $\mu\text{m/s}$. Atencio-García *et al.* (2017) reportaron que el semen de dorada *Brycon moorei* mostró alta movilidad total (84.0 ± 3.2), progresividad total ($52.4 \pm 8.8\%$) y velocidad lineal de 65.9 ± 15.7 $\mu\text{m/s}$. Di Chiacchio *et al.* (2017) en *Prochilodus lineatus* determinaron que

la especie presenta una concentración de $27.6 \times 10^9 \pm 8.5 \times 10^9$ espermatozoides/mL, con una movilidad total entre 94-95%, velocidad curvilínea entre 285 y 288 $\mu\text{m/s}$; mientras que en *Brycon orbygyanus* la concentración espermática la estimaron en $5.7 \times 10^9 \pm 3.4 \times 10^9$ espermatozoides/mL, con movilidad total entre 92-94% y velocidad curvilínea de 239-243 $\mu\text{m/s}$. Pineda–Santis *et al.* (2015) reportaron que el semen de *Brycon henni* registró alta movilidad total ($96.1 \pm 3.3\%$) y progresiva ($73.3 \pm 14.2\%$) y velocidad curvilínea de 115.4 ± 24.2 ($\mu\text{m/seg}$). En *Cypriniformes* como la carpa común *Cyprinus carpio* se ha reportado una alta movilidad para el semen fresco ($90.8 \pm 4.1\%$) y velocidad curvilínea de 224.0 ± 134 $\mu\text{m/s}$, con pH entre 8.1- 8.2 (Cejko *et al.*, 2018).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio de tipo descriptivo y experimental

4.2 LOCALIZACIÓN

El estudio se realizó en el Instituto de Investigación Piscícola de la Universidad de Córdoba (CINPIC) (Montería, Córdoba, Col) cuyas coordenadas geográficas son 8° 48´ de latitud norte y 75° 22´ de longitud oeste. El CINPIC se encuentra a una altitud de 15 msnm y registra valores anuales promedio de temperatura, humedad relativa y precipitación de 27.5°C, 85% y 1100mm, respectivamente.



Figura 2. Instituto de Investigaciones Piscícolas de la Universidad de Córdoba (CINPIC).

4.2.1 Material biológico. Fueron utilizados ejemplares adultos de bocachico sexualmente maduros, mantenidos bajo condiciones de cautiverio del plantel de reproductores del CINPIC, con dos años de edad, cada macho fue marcado y pesado. Quincenalmente entre los meses de marzo a noviembre, seis machos

fueron seleccionados en fase de espermiación, los cuales ante leve masaje en la parte abdominal liberaban líquido seminal.

4.3 OBTENCIÓN Y ANÁLISIS DEL SEMEN

La obtención del semen se realizó siguiendo los parámetros establecidos por (Atencio-García *et al.*, 2013). Los machos seleccionados fueron inducidos con 4.5 mg EPC/Kg en aplicación única; mientras que, para las hembras (de uso en las pruebas de fertilidad), fueron inducidas con 6 mg EPC/Kg en dos aplicaciones (10 y 90%) con 12 horas de diferencia.

El semen se obtuvo a las seis horas post-inducción. Antes de colectar el semen se realizó una suave presión sobre la papila urogenital, con el objetivo de eliminar restos de agua, orina o heces. El semen se obtuvo mediante masaje abdominal en sentido cráneo-caudal, colectándolo directamente en tubos Eppendorf de 2 mL, estéril y seco.

4.3.1 Evaluación macroscópica. A nivel macroscópico se evaluó volumen y color, el volumen fue medido directamente en tubos Eppendorf de 2 ml estériles y secos, el color se evaluó para evidenciar la posible presencia de sustancias contaminantes como heces, orina o sangre. Las muestras fueron mantenidas bajo condiciones de laboratorio ($26\pm 1^{\circ}\text{C}$) para las posteriores evaluaciones.

4.3.2 Evaluación microscópica. Microscópicamente se evaluó la movilidad total, tipos de movilidad, velocidad espermática, tiempo de activación y concentración espermática de cada ejemplar, con la ayuda del programa asistido por computadora para análisis de semen Sperm Class Analyzer Evolution SCA (Microptic SL, SCA VET 01, España versión 6.4.0.65. 2018)

4.3.2.1 Movilidad total y tipos de movilidad. La movilidad total y tipos de movilidad se estimaron con el software SCA (Microptic SL, España) y un microscopio óptico

de contraste de fase (Nikon, Eclipse 50i, Japón) con objetivo 10x; para lo cual 0.25 μ l de semen se colocaron en una Cámara Makler (Sefi Medical Instruments Ltd Israel) y se activaron con 75 μ l de agua destilada (dilución 1:300). Se consideró como movilidad rápida (tipo a) al porcentaje de espermatozoide con velocidades mayores a 100 μ m/seg, media (tipo b) a los espermatozoides con velocidades menores de 100 μ m/seg, pero mayor de 50 μ m/seg, lenta al porcentaje de espermatozoides con velocidades menores de 50 μ m/seg.

4.3.2.2 Duración de la movilidad. Se determinó desde el instante en que se adicionó la solución activadora (agua destilada) a la muestra de semen hasta que aproximadamente el 90% de los espermatozoides dejó de moverse.

4.3.2.3 Concentración espermática. Se utilizó 1 μ l de semen mezclado con 699 μ l de glucosa al 6% en un Eppendorf de 2 mL (dilución 1:700), la mezcla fue homogenizada durante cinco segundos en un vortex a 1200 rpm (Velp Scientifica, Zxclasic, China). Luego se tomaron 10 μ l y se colocaron en la cámara Makler para la determinación de la concentración mediante el SCA (Microptic SL, España). Este procedimiento se realizó tres veces para obtener un valor promedio de la concentración espermática del semen analizado.

4.3.2.4 Velocidad y progresividad espermática. Se analizó en un periodo de cuatro segundos por el programa SCA (Microptic SL, España), obteniéndose los porcentajes de espermatozoides con velocidad rápida (tipo a), media (tipo b), lenta (tipo c), así como el porcentaje de estáticos (tipo d). También el SCA (Microptic SL, España) estimaron las velocidades curvilíneas (VCL) y lineal (VSL). Todas las velocidades se expresaron en μ m/seg.

4.4 pH DEL PLASMA SEMINAL

De cada macho se tomó una alícuota de semen (250-300 μ l); a la cual se le midió el pH con un pHmetro digital (Horiba, Laquatwin-pH-22, Japón) calibrado con margen de error de ± 0.1

4.5 FERTILIZACIÓN Y ECLOSIÓN

Para evaluar la capacidad fertilizante del semen en la temporada reproductiva se estimó la tasa de fertilidad y eclosión; para lo cual, entre tres y cinco gramos de ovocito de cada hembra fueron fertilizados con semen de los machos seleccionados (150 µl), la fertilización *in vitro* se realizó de acuerdo a lo establecido por Atencio-García *et al.* (2013), y la incubación se llevó a cabo en incubadoras experimentales cilindro-cónicas de 2L de volumen y flujo de agua ascendente continuo de 1 a 1.5 L/min. Después de seis horas post-fecundación se determinó el porcentaje de fertilización, tomando tres muestras aleatorias de 100 huevos en cada incubadora; las cuales fueron observadas con un estereoscopio (4x). Fueron considerados como huevos fecundados aquellos cuyos embriones se encontraron en fase de gastrulación final y aspecto transparente; mientras que embriones no viables se consideraron aquellos que presentaron color opaco o blanquizco.

$$\text{Fertilizacion (\%)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de embriones en fase de gastrulación}}{\text{N}^\circ \text{ de embriones analizados}} \times 100$$

La tasa de eclosión se determinó a las 11 horas post-fecundación, tomando tres muestras aleatorias de 100 huevos en cada incubadora y observadas mediante el estereoscopio. Fueron considerados como huevos viables aquellos embriones que se encontraron en fase de faringulación (embrión de cola libre), presentando un aspecto transparente; mientras que embriones no viables se consideró aquellos que presenten color opaco o blanquizco.

$$\text{Eclosion (\%)} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de embriones en faringulación}}{\text{N}^\circ \text{ de embriones analizados}} \times 100$$

Los resultados de calidad seminal y de desempeño reproductivo fueron agrupados en cuatro períodos de la temporada reproductiva: inicio (marzo-mayo), media (junio-agosto), final (septiembre-octubre) y fuera de temporada (noviembre).

4.6 CALIDAD EL AGUA

La calidad del agua utilizada en el sistema de incubación fue monitoreada dos veces, al inicio y al final del proceso de incubación. El oxígeno disuelto y la temperatura, fue medida con un oxímetro digital (YSI 550, USA); el pH con un potenciómetro digital (YSI pH100, USA); la dureza total, alcalinidad, el amonio no ionizado, nitritos fueron determinadas con la ayuda de un fotómetro digital (YSI, 9500, USA) y sus respectivos reactivos. kits: YSI Alkalinity: Alkaphot tablets. YSI Hardicol N° 1 Y 2 Tablets. Nitrite: YSI Nitricol Tablets Nitratest Powder (Spoon Pack) YSI Nitratest Tablets YSI Nitricol Tablets "Ammonia" YSI Ammonia No 1 Tablets YSI Ammonia No 2 Tablets "Ammonia" Conditioning Reagent (Spoon Pack).

4.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todas las variables fueron expresadas como promedio \pm desviación estándar (SD). Se distribuyeron al inicio, media, final y fuera de la temporada, y para cada período se establecieron valores promedios. Todas las variables (volumen seminal, pH, movilidad total, progresividad, espermatozoides rápidos, medios, lentos, inmóviles, concentración espermática, velocidades curvilíneas, lineal y duración de la movilidad total) fueron sometidas a pruebas de normalidad (test de Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianza (test de Bartlett); para las variables que cumplieron estos supuestos se utilizó ANAVA a una sola vía, posteriormente se aplicó la prueba de Rango Múltiple Tukey para establecer diferencias entre los distintos períodos. En todos los casos $p < 0.05$ se utilizó como criterio estadístico para revelar diferencia significativa. Además, se realizó un análisis de regresión entre cada una de las variables de calidad espermática (movilidad total, tipos de movilidad, tipos de velocidades, pH) en función de la fertilidad y la eclosión. El análisis estadístico se realizó con ayuda del programa estadístico STATGRAPHICS CENTURIÓN VERSIÓN XVI.I

5. RESULTADOS

5.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS PRODUCTOS SEXUALES

La tabla 1 muestra las características del semen y ovocitos de bocachico, obtenidos por inducción hormonal. En total fueron inducidos 94 machos con peso medio de 244.4 ± 98.0 g y una longitud total de 26.9 ± 3.3 cm. El volumen seminal en promedio fue de 0.7 ± 0.3 mL, con movilidad promedio del 90% y tiempo de activación con rango entre 25 y 55 seg con promedio de 37.4 ± 5.5 seg. El color del semen del bocachico fue blanco. En promedio el número de ovocitos por cada gramo de desove fue de 1664.1 ± 129 ovocitos/g.

Tabla 1. Características de los productos sexuales del bocachico (*Prochilodus magdalenae*) obtenidos por inducción hormonal. Datos expresados como media \pm error estándar.

Características	Machos	Hembras
Número de individuos	94	102
Longitud total (cm)	26.9 ± 3.3	26.0 ± 3.7
Peso (g)	244.4 ± 98.0	272.1 ± 12.8
Ovocitos por gramo	-	1664.1 ± 129
Color (semen-ovocitos)	Blanco	Gris/verde
Volumen seminal (mL)	0.7 ± 0.3	-
Movilidad (%)	90.0 ± 9.0	-
Duración Mt (seg)	37.4 ± 5.5	-

5.2 VARIACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL DEL BOCACHICO DURANTE LA TEMPORADA REPRODUCTIVA EN CAUTIVERIO

La tabla 2 registra la calidad espermática y el pH del semen de bocachico en los diferentes períodos de división de la temporada reproductiva. Se observó que a excepción de la variable volumen seminal, el resto de variables registraron diferencia estadística, entre los diferentes períodos. El pH registró mayor valor al inicio de la temporada reproductiva (8.4 ± 0.1) presentando diferencia estadística ($p < 0.05$). La movilidad total registro la más alta movilidad al inicio ($90.0 \pm 2.2\%$) y media ($92.4 \pm 1.5\%$) ($p > 0.05$), observándose diferencia entre estos valores con el final y fuera de temporada ($p < 0.05$). La progresividad total mostró un comportamiento estadístico similar a la movilidad total.

Los espermatozoides con velocidad rápida, ($57.9 \pm 4.1\%$) inicio y ($52.6 \pm 2.8\%$) media registraron diferencia estadística ($p < 0.05$), con los valores al final y fuera de la temporada. El menor porcentaje de espermatozoide con velocidad media se obtuvo al inicio ($16.7 \pm 1.7\%$), registrando diferencia con el resto de períodos ($p < 0.05$). Los más altos valores de espermatozoides con velocidad lenta se observaron fuera de la temporada ($32.8 \pm 2.7\%$), presentando diferencia con el resto de períodos ($p < 0.05$). El mayor porcentaje de espermatozoides inmóviles se observó al final de la temporada ($17.4 \pm 2.4\%$) presentando este valor diferencia estadística con el resto de períodos ($p < 0.05$). Los espermatozoides con las más altas VSL ($55.7 \pm 3.0 \mu\text{m/s}$ y $61.1 \pm 2.1 \mu\text{m/s}$) y VCL ($112.3 \pm 5.1 \mu\text{m/s}$ y $102.6 \pm 3.5 \mu\text{m/s}$), se observaron respectivamente durante el inicio y la temporada media, presentando estos valores diferencia estadística al final y fuera ($p < 0.05$).

La mayor concentración espermática se observó en la mitad de la temporada con ($52623.4 \times 10^6 \pm 4495.7 \times 10^6$ spz/mL) y al final de la temporada ($45203.9 \times 10^6 \pm 7108.4 \times 10^6$ spz/mL) sin observarse diferencia entre estos valores ($p > 0.05$); la duración de la movilidad del semen presento el mayor valor al inicio y media (38.7 ± 1.1 y 38.9 ± 1.0 seg) mostrando diferencia significativa con el resto períodos evaluados ($p < 0.05$).

Tabla 2. Comportamiento de las variables de calidad espermática y el pH del semen de bocachico durante el periodo (marzo-noviembre) de 2017. Vol sem, Volumen seminal; Mt, Movilidad total; Pt, Progresividad total; VSL, Velocidad lineal; VCL, Velocidad curvilínea.

Parámetro	Inicio (mar-may)	Media (jun-ago)	Final (sept-oct)	Fuera (nov)
Volumen (ml)	0.9±0.1 ^a	0.7±0.2 ^a	0.7±0.1 ^a	0.4±0.2 ^a
pH	8.4±0.1 ^a	8.2±0.0 ^b	7.9±0.1 ^c	7.7±0.1 ^d
Mt (%)	90.0±2.2 ^a	92.4±1.5 ^a	82.6±2.4 ^b	80.8±3.2 ^b
Pt (%)	65.9±3.6 ^a	64.8±2.5 ^a	44.4±4.0 ^b	34.8±5.6 ^b
Rápidos (%)	57.9±4.1 ^a	52.6±2.8 ^a	30.9±4.5 ^b	24.6±6.4 ^b
Medios (%)	16.7±1.7 ^b	22.3±1.2 ^a	26.6±2.0 ^a	27.8±2.7 ^a
Lentos (%)	14.5±1.7 ^c	15.4±1.2 ^c	24.9±2.0 ^b	32.8±2.7 ^a
Inmóviles (%)	10.1±2.1 ^b	7.8±1.5 ^b	17.4±2.4 ^a	14.7±3.3 ^{ab}
VSL(µm/s)	55.7±3.0 ^a	61.1±2.1 ^a	46.4±3.3 ^b	39.5±4.7 ^b
VCL(µm/s)	112.3±5.1 ^a	102.6±3.5 ^a	83.9±5.6 ^b	71.2±7.9 ^b
Concentración (10 ⁶ /mL)	19831.4±642 9.8 ^b	52623.4±449 5.7 ^a	45203.9±710 8.4 ^a	37266.2±1052 .8 ^{ab}
Duración Mt (seg)	38.7±1.1 ^a	38.9±1.0 ^a	35.4±1.2 ^b	34.1±1.7 ^b

Superíndice diferente en una misma fila indican diferencia significativa, ($p < 0.05$). Vol sem, Volumen seminal; Mt, Movilidad total; Pt, Progresividad total; VSL, Velocidad lineal; VCL, Velocidad curvilínea.

5.2.1 Fertilidad, eclosión y calidad seminal en función del pH

La tabla 3 presenta el comportamiento de las variables de calidad espermática entre rangos de pH del semen en bocachico. La movilidad total no presentó diferencia estadística entre los distintos rangos de pH ($p > 0.05$). Cuando el pH del semen osciló entre 7.91 - 8.5, se registraron las mayores progresividades (62.3±2.3%) y porcentaje de espermatozoides rápidos (50.3±2.6%), presentado estos valores diferencia estadística ($p < 0.05$), con la progresividad (45.6±4.7%) y el porcentaje de espermatozoides rápidos (34.9±5.3%) a valores de pH por debajo 7.91. Los espermatozoides con velocidad media al igual que los inmóviles no presentaron diferencia estadística entre los distintos rangos de pH ($p > 0.05$). Los mayores valores para la velocidad lineal (57.2±1.8 µm/s) y velocidad curvilínea (102.1±3.1 µm/s) se registraron cuando el pH del semen se encontraba entre 7.91-8.5, presentando

estos valores diferencia estadística ($p < 0.05$), La concentración espermática no presento diferencia estadística entre los distintos rangos de pH ($p > 0.05$). La mayor duración (38.3 ± 1.3 seg) se registró a un valor de pH oscilante entre 7.91-8.5 presentando estos valores diferencia estadística ($p < 0.05$), cuando el pH se encontraba por debajo de 7.91.

Tabla 3. Comportamiento de las variables de calidad espermática entre rangos de pH del semen en bocachico. Mt, Movilidad total; Prog, Progresividad; Rap, Rápidos; Med; Medios; Len, Lentos; Inm, Inmóviles; VSL, Velocidad lineal; VCL, Velocidad curvilínea; C.E, concentración espermática.

	Rangos de pH		
	7.05-7.90	7.91-8.50	8.51-9.60
n	18	69	7
Mt (%)	86.2±2.6 ^a	90.4±2.0 ^a	84.5±4.1 ^a
Prog (%)	45.6±4.7 ^b	62.3±2.3 ^a	56.6±7.3 ^{ab}
Ráp (%)	34.9±5.3 ^b	50.3±2.6 ^a	43.8±8.2 ^{ab}
Med (%)	24.5±2.6 ^a	23.1±1.2 ^a	20.6±4.1 ^a
Len (%)	26.5±2.3 ^a	16.8±1.1 ^b	18.5±3.6 ^{ab}
Inm (%)	13.8±2.5 ^a	9.8±1.2 ^a	14.2±4.0 ^a
VSL (µm/s)	46.2±3.7 ^b	57.2±1.8 ^a	54.1±5.8 ^{ab}
VCL (µm/s)	83.7±6.3 ^b	102.1±3.1 ^a	96.2±9.9 ^{ab}
C.E (*10 ⁶ spz/mL)	35171.4±7845.6 ^a	45156.4±3866.4 ^a	27741.1±1222.6 ^a
Duración Mt (seg)	33.6±1.2 ^b	38.3±1.3 ^a	38.1±2.0 ^{ab}

Letras diferentes en una misma fila indican diferencia significativa, ($p < 0.05$).

5.3. ANÁLISIS DE REGRESIÓN ENTRE CALIDAD SEMINAL Y DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DURANTE LA TEMPORADA REPRODUCTIVA DEL BOCACHICO EN CAUTIVERIO

5.3.1 Fertilidad y eclosión en función del pH del semen reproductivo.

La figura 3 muestra las ecuaciones y coeficiente de correlación (R^2) entre el porcentaje de fertilidad (F), eclosión (E) y el pH del semen, durante el período reproductivo marzo-noviembre/2017. La ecuación $F = (0.77302 * \text{pH del semen})^2$, siendo la ecuación de: $E = (0.676531 * \text{pH del semen})^2$, con un valor para R^2 mayor de 0.9, en ambos casos $p < 0.05$. Existe una relación estadísticamente significativa entre fertilidad, eclosión y pH del semen con un nivel de confianza del 95%,

Indicando así la existencia de una relación relativamente fuerte entre el pH del semen y las variables de desempeño reproductivo.

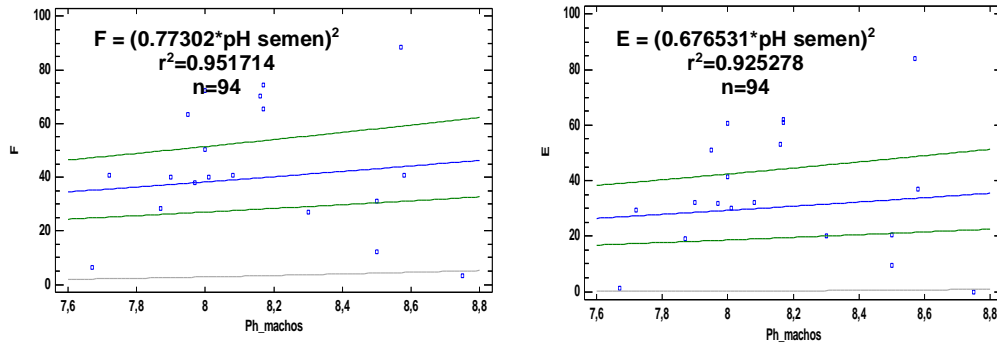


Figura 3. Ecuaciones de mejor ajuste y coeficiente de correlación (R^2) entre el pH del semen y las variables fertilidad (F) eclosión (E), en la reproducción inducida de *Prochilodus magdalenae*

5.3.1 Fertilidad en función de movilidad total, tipos de movilidad y velocidad espermática.

La figura 4 muestra las ecuaciones y coeficiente de correlación (R^2) entre la movilidad total los diferentes tipos de movilidad espermática y la fertilidad, de

bocachico en el período reproductivo marzo-noviembre /2017, siendo $p < 0.05$, lo que indica que existe una relación estadísticamente significativa entre la movilidad total, tipos de movilidad y velocidad espermática en función de la fertilidad con un nivel de confianza del 95.0%.

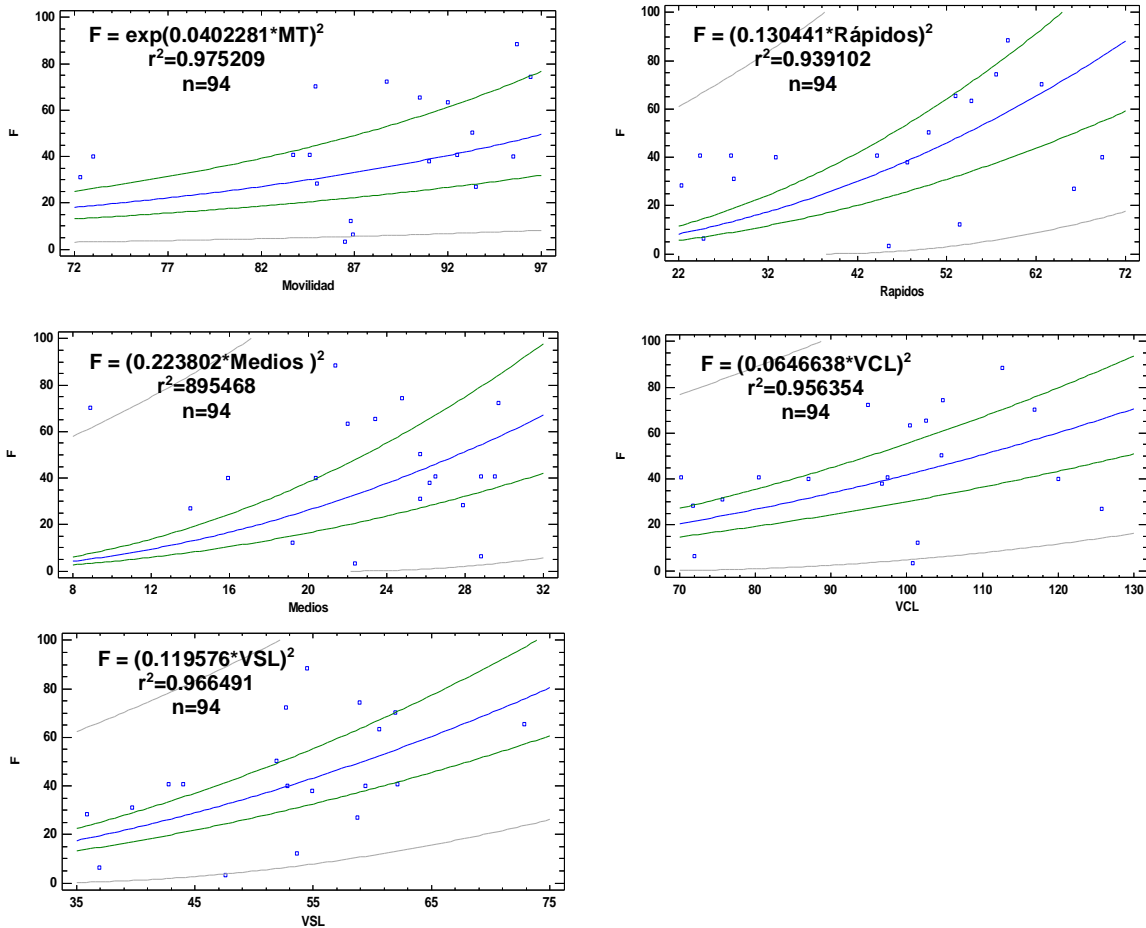


Figura 4. Ecuaciones de mejor ajuste y coeficiente de correlación (R^2) entre la movilidad total los diferentes tipos de movilidad espermática y la fertilidad, en la reproducción inducida de *Prochilodus magdalenae* mantenidos bajo condiciones de cautiverio. Mt, Movilidad total; Ma, Rápidos; Mb, Medios; VCL, Velocidad Curvilínea; VSL, Velocidad lineal.

5.3.2 Eclosión en función de movilidad total, tipos de movilidad y velocidad espermática.

La figura 5 muestra la ecuación entre la movilidad total, los diferentes tipos de movilidad espermática y la Eclosión de bocachico en el período reproductivo marzo-

noviembre/2017. Fueron registrados coeficientes de correlación altos ($R^2 \geq 0.9$) existe una relación significativa entre la movilidad total, tipos de movilidad y velocidad espermática en función de la eclosión con un nivel de confianza del 95.0%.

5.4 CALIDAD DE AGUA EN LA INCUBACIÓN

La tabla 4 muestra la calidad del agua utilizada en el proceso de incubación de huevos de bocachico. El oxígeno disuelto registró valores promedios de 7.1 ± 1.2 mg/L, la temperatura osciló entre 27.4 y 29.5°C con promedio de 28.7 ± 0.7 °C, y el pH osciló entre 7.4 y 8.0 con promedio de 7.7 ± 0.2 . La alcalinidad y la dureza registraron valores promedio 49.3 ± 10.1 y 40.6 ± 19.6 mg CaCO₃/L respectivamente. El amonio total se encontró en todos los casos por debajo de 0.015 mg/L.

Tabla 4. Calidad de agua en incubación de bocachico *Prochilodus magdalenae*

Variables físico-químicas	Valor	Valor	Valor
	Mínimo	Máximo	Promedio
Oxígeno disuelto (mg/L)	4.0	7.2	7.1 ± 1.2
Temperatura (°C)	27.4	29.5	28.7 ± 0.7
Ph	7.4	8.0	7.5 ± 0.2
Dureza (mg/L CaCO ₃)	27.5	82.5	49.3 ± 10.1
Alcalinidad total (mg/L CaCO ₃)	17.9	70.5	40.6 ± 19.6
Amonio total (mg/L)	0.015	0.021	0.017 ± 0.004

6. DISCUSIÓN

En los peces la calidad del semen se puede definir como su capacidad para fertilizar con éxito un óvulo y, posteriormente, permitir el desarrollo de un embrión normal. Los resultados del presente estudio demuestran que en bocachico la mejor calidad seminal se observó al inicio y a mitad de su temporada reproductiva como lo sugieren los valores de movilidad total, progresividad total, espermatozoides con velocidades rápidas, medias, velocidad lineal y curvilínea, así como la duración de la movilidad.

En la presente investigación, aunque el volumen seminal no mostro diferencia estadística durante el inicio y al final de la temporada reproductiva, si se observó un mayor volumen al inicio de la misma, lo cual explicaría la menor dilución de la concentración espermática al inicio de la temporada reproductiva

Diversos autores han evaluado la calidad seminal en peces migradores obteniendo resultados relevantes entre los períodos de tiempo evaluados. Ramírez-Merlano *et al.* (2011), evaluando la variación estacional de las características seminales del bagre rayado *Pseudoplatystoma metaense*, observaron, que el volumen seminal presentó un aumento entre los meses de julio y agosto (8.4 ± 2.7 y 11.4 ± 0.7 mL, respectivamente) sin presentar diferencias estadísticas significativas $p < 0.05$ entre estos, resultados que contrastan con los obtenidos en la presente investigación donde el volumen seminal del bocachico no presento diferencia estadística entre las temporadas con un valor promedio de 0.7 mL , valores que se encuentran dentro de lo establecido por Atencio-García *et al.* (2013), para esta especie cuyo volumen seminal en promedio fue de 1.3 ± 0.4 mL.

Ramírez-Merlano *et al.* (2011), evaluando la duración de la movilidad en el semen del bagre rayado *Pseudoplatystoma metaense*, observaron diferencias estadísticas entre los diferentes meses evaluados, siendo significativamente menor en el mes de marzo (39.5 ± 2.5 seg), cuando fue comparado con los meses (junio, julio y agosto). De igual manera en el presente trabajo se observó diferencias estadísticas en el tiempo de activación entre los distintos períodos evaluados, evidenciando, así

como la calidad y composición seminal del bocachico cambia de acuerdo con la temporada reproductiva.

Ramírez-Merlano *et al.* (2011), reportaron porcentajes de movilidad total mayor al 90% durante toda la estación reproductiva sin presentar diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$) entre los diferentes meses, mientras que en la presente investigación las mayores movilidades totales fueron registradas entre los meses de marzo hasta agosto es decir entre el inicio y la temporada media, presentando diferencia estadística con la movilidad total al final y por fuera de la temporada (menor del 80%).

Ramírez-Merlano *et al.* (2011), en bagre rayado no reportaron diferencias estadísticas ($p>0.05$) para VSL, entre los diferentes meses evaluados (abril, mayo y julio). Sin embargo, para la VCL, el mayor valor ($51.2\pm 8.4 \mu\text{m/s}$), fue reportado en el mes de mayo y menor en el mes de abril ($34.85\pm 10.3 \mu\text{m/s}$), sin observar diferencias significativas entre los meses evaluados ($p>0.05$). Por el contrario, en el presente trabajo los mayores valores de VSL (55.7 ± 3.0 y $61.1\pm 2.1 \mu\text{m/s}$) y VCL (112.3 ± 5.1 y $102.6\pm 3.5 \mu\text{m/s}$) se obtuvieron entre los meses de marzo hasta agosto (inicio y temporada media) presentando diferencias estadísticas significativas ($p<0.05$), con los restos de meses evaluados. Estos resultados de velocidades concuerdan con los rangos establecidos por Atencio-García *et al.* (2013), para esta especie (VSL= 98.3 ± 6.6 y VCL= $184.2 \pm 18.3 \mu\text{m/s}$)

Di Chiacchio *et al.* (2017), evaluando la calidad seminal de *prochilodus lineatus* a lo largo de dos temporadas reproductivas (2013 – 2014; 2014- 2015), determinaron que estos fueron cambiantes entre los periodos evaluados, con valores promedio para la velocidad curvilínea (VCL) 285 - 288 $\mu\text{m/s}$; velocidad lineal (VSL) 122 – 130 $\mu\text{m/s}$ valores que concuerdan con los de la presente investigación

Mira *et al.* (2010), evaluando tres protocolos hormonales para la inducción hormonal en yaque, *Leiarius marmoratus*, observaron diferencia estadística ($p<0.05$) para la movilidad total durante diferentes meses (Septiembre – abril y junio), tal como se evidencio en la presente investigación.

Morisawa *et al.* (1993; Bobe and Labbé, 2010), sugieren el pH como un indicador de calidad espermática, debido a que la maduración del espermatozoide solo ocurre en el conducto espermático (Miura *et al.*, 1992; Morisawa and Morisawa, 1988), y la progestina 17.20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one junto con cambios en el pH y la composición iónica del plasma seminal están involucrada en este proceso, admitiendo que el almacenamiento de espermatozoides testiculares en una solución “buffer”, a pH 8 o superior, favorece la capacidad del espermatozoide de responder a la señal de inicio de la movilidad (Morisawa *et al.*, 1993; Bobe and Labbé, 2010). En la presente investigación evaluando estacionalmente las variables de calidad espermática, se observó que los más altos valores para el pH del semen (8.2 y 8.4), con movilidad total (mayor del 90%), progresividad total (mayor del 60%), espermatozoides con velocidad rápida (mayor del 50%), duración de la movilidad mayor de 38. seg, al igual que las mayores velocidades VSL (55.7 y 61.1 $\mu\text{m/s}$) y VCL (102.6 y 112.3 $\mu\text{m/s}$) se observaron durante el inicio y la temporada media es decir entre los meses de marzo-agosto de igual manera los menores los espermatozoides con velocidades lentos (menos del 20%), e inmóviles (menos del 11%). Evidenciando de esta forma que el semen de mejor calidad en lotes de bocachico mantenidos bajo condiciones de cautiverio es producido durante los meses de marzo hasta agosto.

Por su parte Cejko *et al.* (2018), evaluando la calidad espermática de la carpa común *Cyprinus carpio* reportaron las mayores movilidades totales (90.8 \pm 4.1%), VSL (148.7 \pm 10.1 $\mu\text{m/s}$), VCL (224.0 \pm 13.4 $\mu\text{m/s}$) cuando el pH del semen se encontraba entre 8.1- 8.2, valores cercanos a los obtenidas en el presente estudio.

Sarosiek *et al.* (2016), caracterizando el semen de Pike perch (*Sander lucioperca*) registraron que cuando el semen presentaba un pH de 8.9, este presentaba una velocidad curvilínea 70 $\mu\text{m/s}$, velocidad lineal (menor de 40 $\mu\text{m/s}$) y movilidad total (menor del 40%). Valores mucho menores a los reportados en el presente estudio, cuando el pH del semen registró valores de pH superiores a 8.5.

Dentro de todo proceso de reproducción inducida el uso de gametos de alta calidad proveniente de los machos y de las hembras es un prerrequisito para la obtención

de altas fertilidades y eclosiones, siendo reconocido por diversos autores que en el semen la movilidad total es el principal garante de calidad y potencial fecundante. En el presente estudio, los modelos estadísticos para la movilidad total; $F = \exp(0.0402281 * \text{movilidad total})$, los diferentes tipos de movilidad $F = (0.130441 * \text{espermatozoides rápidos})^2$ y $F = (0.255909 * \text{espermatozoides medios})^2$; al igual que los tipos de velocidades, $F = (0.0646638 * \text{VCL})^2$, y $F = (0.119576 * \text{VSL})^2$, presentaron una alta correlación con la capacidad fertilizante (R^2 mayor de 0.9) y posterior eclosión (R^2 mayor de 0.9), siendo demostrada así la importancia que cumplen no solo la movilidad total, sino también los tipos de movilidad y los tipos de velocidades en el proceso de fertilización y posterior eclosión.

Autores como Gallego *et al.* (2013), plantearon la idea de que no solo la movilidad y la progresividad total son buenos indicadores de la capacidad de fertilización, sino que los tipos de velocidades de los espermatozoides también pueden predecir el potencial de fertilización de estos. En el pez globo (*Takifugu niphobles*), demostraron una alta correlación entre el éxito de la fertilización, la velocidad curvilínea (VCL), la velocidad en línea recta (VSL), cuyos valores fueron mayores al ser comparados con la movilidad total y progresividad

Datos similares han sido reportados en otras especies marinas como salmón del atlántico (bacalao atlántico), *Gadus morhua* y pez cola de espada (*Xiphophorus helleri*), donde la velocidad de los espermatozoides parece ser el principal componente que determina el éxito de la fertilización y la proporción de la paternidad a través de los espermatozoides (Gage *et al.*, 2004; Rudolfsen *et al.*, 2008; Gasparini *et al.*, 2010).

Otros autores como Ottesen *et al.* (2009); Liu *et al.* (2007), correlacionando las diferentes variables de calidad espermática con la fertilidad y la eclosión en peces marinos como, Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus L.*) y red seabream (*Pagrus major*). Obtuvieron valores para $R^2 > 0.7$. Valores que concuerdan con los obtenidos en el presente estudio.

Por su parte (Espinosa-Araujo, 2013) en el bagre blanco *Sorubim cuspicaudus* observo la existencia una alta correlación entre la movilidad total ($R^2=0.7112$), espermatozoides rápidos ($R^2=0.7642$), medios ($R^2=0.7672$), así como la correlación que existe entre los tipos de movilidad VCL ($R^2=0.7926$), VSL ($R^2=0.7966$) y la fertilidad, cuyos valores para R^2 fueron un poco más bajas a las obtenidas en el presente estudio.

El éxito en la reproducción inducida de los peces, depende en gran medida de las condiciones adecuadas de calidad del agua. De acuerdo con los resultados, la calidad del agua en la que se realizó el proceso de incubación de los ovocitos no afectó las variables de desempeño reproductivo evaluadas en este estudio, debido a que estos parámetros se encontraban dentro de los rangos adecuados para la incubación de huevos de esta especie, donde la temperatura en promedio estuvo en 28.7 °C, el oxígeno disuelto 7.1 mg/L, pH 7.5 y el amonio total no supero 0.01 mg/L,, encontrándose estos parámetros dentro de los rangos adecuados que menciona Atencio-García. (2013), quien consideró que temperaturas de incubación por encima de 29°C afectan los porcentajes de fertilidad y eclosión; mientras que el rango de pH para el cultivo de las especies reofílicas debe oscilar entre 6 y 9

7. CONCLUSIONES

- El semen de bocachico mantenidos bajo condiciones de cautiverio presenta la mayor calidad y capacidad fecundante, cuando es obtenido entre el inicio y la temporada media es decir entre los meses de marzo hasta agosto, cuando el pH del semen registra valores en 8.2 y 8.4
- El alto coeficiente de correlación entre las variables de desempeño reproductivo (fertilidad y eclosión), con las variables de calidad espermática (movilidad total, espermatozoides rápidos, medios, al igual que con los tipos de velocidades (VSL y VCL) señalan la importancia de la movilidad y los tipos de velocidad en el proceso de fertilidad y posterior eclosión de los huevos
- La calidad de agua no afecto los procesos de incubación y eclosión teniendo en cuenta los diferentes rangos de pH del semen de bocachico, debido a que la calidad del agua se encontró dentro de los rangos establecidos para esta especie

8. BIBLIOGRÁFIAS

Arias-Gallo M, Jiménez-Segura L, Pardo M. Desarrollo larval de *Prochilodus magdalenae* Steindachner 1879, pisces Prochilodontidae, río Magdalena Colombia. Rev actual Biol. 2010; 32 (93):199-208.

Atencio-García VJ. Impactos de la Hidroeléctrica Urrá en los peces migratorios del río Sinú. Rev. Temas agrarios 2000; 8: 25 - 40.

Atencio-García V, Kerguelén-Durango E, Robert-Petro E. Desempeño reproductivo del bocachico *Prochilodus magdalenae* inducido dos veces en un mismo año. Rev. MVZ Córdoba 2013; 18(1):3304-3310.

Atencio-García V, Espinosa-Araujo J, Pérez E, Pardo-Carrasco S. Evaluación de dimetilacetamida como crioprotector para la crioconservación de semen de bocachico *Prochilodus magdalenae*. Rev MVZ Córdoba. 2013; 45: 151-158.

Atencio-García V, Espinosa-Araujo J, Martínez J, Pardo-Carrasco S. Insemination of bocachico fish (*Prochilodus magdalenae*) with fresh or cryopreserved semen: effect of spermatozoa/oocyte ratio. Rev Colomb Cienc Pecu. 2015; (28):347-355.

Bobe J, Labbe C. Egg and sperm quality in fish. Rev General and Comparative Endocrinology 2010; 165:535–548.

Butts I, Galvano P, Johnson K, Wilson C, Pitcher T. Ovarian fluid influences sperm performance in lake trout. *Salvelinus namaycush*. Rev. Reproductive biology 2013; 13: 172–175.

Cejko B, Sarosiek B, Krejszef S, Kowalski R. Multiple collections of common carp *Cyprinus carpio* L. semen during the reproductive period and its effects on sperm quality. Rev Animal Reproduction Science. 2018; (188):178–188. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/anireprosci.

Di Chiacchio I, Almeida I, Leal M, Viveiros A. Sperm quality and its freezing ability throughout the spawning season in *B Prochilodus lineatus* and *Brycon orbignyanus*. *Rev Theriogenology*. 2017; 90: 284- 288.

Espinosa J. Crioconservación de semen de bagre blanco (*Sorubim cuspicaudus*). Trabajo de grado, Facultad de Ciencias Básicas. Maestría en Biotecnología, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia. 2013.

Gage MJ, Macfarlane CP, Yeates S, Ward RG, Searle JB, Parker GA. Spermatozoal traits and sperm competition in Atlantic salmon: relative sperm velocity is the primary determinant of fertilization success. *Curr. Biol*. 2004; 14: 44–47.

Gallego V. Sperm Physiology and Quality in Two Marine Teleosts: *Anguilla Anguilla* & *Takifugu niphobles*. Universitat Politecnica de Valencia (Ph.D. Thesis. 2013. 162 pp.).

García–Cruz E, Peña–Osorio K, Gómez–Ramírez E, Hurtado–Giraldo H. Efecto del pH sobre la proporción ovocitaria de *Paracheirodon axelrodi*, en cautiverio. *Rev ORINOQUIA*. 2014; 18(2).

Gasparini C, Simmons LW, Beveridge M, Evans JP. Sperm swimming velocity predicts competitive fertilization success in the green swordtail *Xiphophorus helleri*. *PLOS One* 2010; 5, e12146.

Hoysak DJ, NR Liley. Fertilization dynamics in sockeye salmon and a comparison of sperm from alternative male phenotypes. *J Fish Biol*. 2001; 58: 1286-1300.

Kerguelen Durango E, Atencio García V. Caracterización ambiental de la temporada reproductiva de los peces migratorios del río Sinú (Córdoba, Colombia). *Rev MVZ Cordoba*. 2015; 20(3):4766-4778.

Lahnsteiner F, Weisman T, Patzner, R. Composition of the ovarian fluid in 4 salmonid species: *Onchorhynchus mykiss*, *Salmo trutta f lacustris*, *Salvelinus lacustris* and *Hucho hucho*. Rev Reprod Nutr Dev. 1995; 35: 465–474.

Liu Q, Li, J, Xiao Z, Ding F, Yu D, Xu X. Use of computer-assisted sperm Analysis (CASA) to evaluate the quality of cryopreserved sperm in red Seabream (*Pagrus major*). Aquaculture. 2007; 263: 20–25.

Lubzens E, Young G, Bobe J, Cerdà J. Oogenesis in teleost: How fish eggs are formed. Rev. General and Comparative Endocrinology. 2010; 165(3): 367-489.

Mira T, Medina-Roble, Cruz-Casallas P. Evaluación de tres protocolos hormonales para la inducción de la espermiación en yaque *Leiarius marmoratus*. Rev. MVZ Córdoba. 2010; 15(2):2070-2077

Miura T, Yamauchi K, Takahashi H, Nagahama Y. The role of hormones in the acquisition of sperm motility in salmonid fish. J. Exp. Zool. 1992; 261: 359–363.

Mojica J, Castellanos C, Usma S, Álvarez R. Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. La serie Libros Rojos de Especies Amenazadas de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia, Ministerio del Medio Ambiente. Bogotá, Colombia; 2012.

Morisawa S, Morisawa M. Induction of potential for sperm motility by bicarbonate and pH in rainbow trout and chum salmon. J. Exp. Biol. 1988; 136: 13–22.

Morisawa S, Ishida K, Okuno M, Morisawa M. Roles of pH and cyclic adenosine monophosphate in the acquisition of potential for sperm motility during migration from the sea to the river in chum salmon. Mol. Reprod. 1993. 34: 420–426.

Müller T, Horvath L, Szábo T, Ittész I, Bognár A, Faidt P, Ittész A, Urbányi B, Kcska B. Novel method for induced propagation of fish: sperm injection in oviducts and ovary / ovarian lavage with sperm. *Rev Aquaculture*. 2018; 482: 124-129.

Mylonas C, Fostier A, Zanuy S. Broodstock management and hormonal manipulation of fish reproduction. *Rev Gen Comp Endocrinol*. 2010; 165: 516-534.

Obando-Bulla MJ, Gómez-Ramírez E, Tovar-Bohórquez MO, Rincón L, Caldas-Martínez MI, Hurtado-Giráldez H. Estudio morfológico y topológico del cerebro del pez Neón Cardenal, *Paracheirodon axelrodi* (Characiformes: Characidae). *Rev Acta Biol*. 2013; 35(98): 45-61.

Olaya-Nieto C, Solano D, Florez O, Blanco H, Segura F. Evaluación preliminar de la fecundidad del bocachico (*Prochilodus magdalenae*) en el río Sinú, Colombia. *Rev MVZ Córdoba*. 2001; (6) 1:31-34.

Ottesen O, Babiak I, Dahle G. Sperm competition and fertilization success of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*. 2009; 286: 240–245.

Pineda-Santis H, Gómez-Oquendo J, Montoya-Páez J, Toro-Rendón V, Acevedo-Villa O, Restrepo-Betancur G. Crioconservación de semen y calidad espermática en sabaleta *Brycon henni* (Pisces: Characidae). *Rev ORINOQUIA*. 2015;19(2): 166-173. <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v19n2/v19n2a03.pdf>

Ramirez-Merlano J, Medina-Robles V, Cruz-Casallas P. Variación estacional de las características seminales del bagre rayado *Pseudoplatystoma metaense* (Telostei, pimelodidae). *Rev. MVZ CÓRDOBA*. 2011; 16(1): 2336-2348.

Roca-Lanao, B., R. Mendoza-Ureche. y L. Manjarrés-Martínez. Producción de la acuicultura en el área monitoreada por el SEPEC durante el período agosto-

diciembre de 2018. Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP), Bogotá, 2018. 24 p.

Rudolfson G, Figenschou L, Folstad I, Kleven O. Sperm velocity influences paternity in the Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) *Rev Aquac.* 2008; 39, 212–216.

Rurangwa E, Kime DE, Ollevier F, Nash JP. The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Rev Aquaculture* 2004; 234: 1-28.

Sarosiek B, Dryl K, Krejszef S, Żarski D. Characterization of pikeperch (*Sander lucioperca*) milt collected with a syringe and a catheter. *Rev Aquaculture.* 2016; 450: 14–16.

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

SEPEC. Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca (AUNAP)-Universidad del Magdalena. Boletín estadístico. (2016).

Sloman K. The diversity of fish reproduction. En: Farrell A. *Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment.* San Diego US; 2011. p 613 – 615.

Urbach D, Folstad I, Rudolfson G. Effects of ovarian fluid on sperm velocity in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Rev Behavioural Ecology & Sociobiology.* 2005; 57: 438–442.

Valderrama M, J-Segura S, López-Casas T, Rivas C, Rincón S, Nieto-Torres G. *Prochilodus magdalenae* (Characiformes, Prochilodontidae). Capítulo 7. Pp. 305-311. En: Lasso CA, Agudelo Córdoba LF, Jiménez- Segura H, Ramírez-Gil M, Morales- Betancourt RE, Ajiaco-Martínez F, de P Gutiérrez JS, Usma Oviedo SE, Muñoz Torres A, I Sanabria Ochoa (Eds.) *I. Catálogo de los Recursos Pesqueros*

Continental de Colombia. Serie Editorial Recursos Hidrobiológicos y Pesqueros continentales de Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt (IAvH). Bogotá; D. C., Colombia 2011.). Capítulo 7.p. 305-311.