

# Efecto de la criopreservación del semen de la cachama blanca (*Piaractus orinoquensis*) para la producción de alevines del híbrido de cachama

## Effect of cryopreservation of white cachama (*Piaractus orinoquensis*) semen for the production of cachama hybrid fry

David Rincón<sup>1\*</sup>, Yoeli Méndez<sup>2</sup>, Germán Poleo<sup>1</sup>,  
Jim Hernández<sup>3</sup>, Patricia Villamediana<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Departamento de Producción Animal. Estación de Piscicultura. Barquisimeto estado Lara, Venezuela

<sup>2</sup> Universidad del Zulia (LUZ) Facultad Experimental de Ciencias, Departamento de Biología, Laboratorio de Citogenética. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela.

<sup>3</sup> Universidad del Zulia (LUZ), Facultad Experimental de Ciencias, Departamento de Biología, Laboratorio de Investigaciones Piscícolas. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela.

\*Autor correspondencia: [david.rincon@ucla.edu.ve](mailto:david.rincon@ucla.edu.ve)

### RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del Dimetilsulfóxido al 10 %, sobre la calidad y capacidad fecundante de espermatozoides criopreservados de cachama blanca (*Piaractus orinoquensis*), para la producción de alevines de híbrido de cachama (*Colossoma macropomum* x *Piaractus orinoquensis*). Ocho peces machos de cachama blanca se indujeron a la espermiación con análogo de hipófisis de salmón (OVA-RH®), a razón de 1 µg/Kg. Transcurridas 18 horas de la inyección, el semen fue recolectado realizándosele la evaluación seminal (tratamiento 1) y procediendo a la criopreservación en Dimetilsulfóxido al 10 % a una relación (1:4, semen – crioprotector), en pajuelas de 0,5 mL a -196 °C sumergidas en nitrógeno líquido (tratamiento 2). Luego de 20 días se les realizó la evaluación seminal postdescongelación. Las tasas de fecundación, eclosión y anomalías morfológicas en larvas, se determinaron para cada tratamiento, empleando placas de incubación contentivas cada una con 100 oocitos de cachamas negra (*Colossoma macropomum*) sexualmente maduras e inducidas hormonalmente. Los datos obtenidos para el análisis seminal fueron expresados en media ± desviación estándar y los valores registrados para movilidad y tiempo de activación espermática en semen fresco y criopreservado se compararon mediante el procedimiento estadístico de modelos lineales generalizados con test de Duncan. Para las variables fecundación, eclosión y anomalía morfológicas se realizó una prueba de Ji cuadrado. En la evaluación seminal, el semen fresco (P < 0,05) presentó mejores condiciones que el semen criopreservado. Las tasas de fecundación y eclosión de larvas registraron diferencias significativas (P < 0,05) a favor de los huevos eclosionados y fecundados con semen fresco de cachama blanca.

**Palabras clave:** *Piaractus orinoquensis*; espermatozoides Dimetilsulfóxido; tasa de fecundación; tasa de eclosión.

### ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the effect of dimethylsulfoxide at 10 %, on sperm quality and fertilizing capacity cachama (*Piaractus orinoquensis*) cryopreserved, for the production of cachamas hybrid fry (*Colossoma macropomum* x *Piaractus orinoquensis*). Eight male animals white cachamas, induced with salmon pituitary analog (OVA-RH®) at a rate of 1 µg/Kg. Eighteen hours after the injection, the semen was collected, underwent seminal evaluation (treatment 1), and was cryopreserved in 10 % dimethylsulfoxide at a ratio (1: 4) Semen - cryoprotectant in 0.5 mL straws to - 196 °C immersed in liquid nitrogen (treatment 2). After 20 days they made the seminal post-thawing evaluation. The rates of fertilization, hatching and larval morphological abnormalities were determined for each treatment using plates of petri for incubation each with 100 black cachamas oocytes (*Colossoma macropomum*) sexually mature. The data obtained for semen analysis were expressed as Mean ± Standard Deviation and registered for sperm mobility and activation time in fresh semen and cryopreserved values were compared using Generalized Linear Model with Duncan test. For variables fertilization, hatching and larval morphological abnormality in Chi-square test. In the seminal evaluation fresh semen (P < 0.05) showed better condition than the cryopreserved semen. Fertilization and hatching rates of larvae showed significant differences (P < 0.05) in favor of eggs hatched and fertilized with fresh white cachama semen.

**Key words:** *Piaractus orinoquensis*; spermatozoa; dimethylsulfoxide; fertilization rate; hatching rate

## INTRODUCCIÓN

El consumo de pescado en Venezuela varió de menos de 1 kg/persona/año a 17 kg/persona/año para el 2007, de acuerdo a los datos aportados por el Instituto Nacional de Nutrición [1]. Sin embargo, esta cifra no se aproxima a lo sugerido por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [2], donde recomiendan 45 kg/persona/año. Una de las causas del bajo consumo de carne de pescado es la poca disponibilidad de peces de agua dulce, por lo que se requieren de nuevas opciones en la piscicultura para aumentar el cultivo en granjas de especies nativas y así disminuir la sobreexplotación en el medio natural.

Una de estas alternativas es la reproducción artificial de peces fuera de su estación reproductiva en el hábitat natural, mediante la técnica de criopreservación de gametos, que consiste en la conservación de células vivas a bajas temperaturas, logrando detener los procesos de envejecimiento y degeneración celular con el uso de crioprotectores [3].

La criopreservación de semen, permite su uso fuera de la época reproductiva de las especies, y además facilita el movimiento e intercambio de material genético entre productores, mejora la eficiencia en el manejo de los parentales y contribuye a disminuir la presión sobre las poblaciones silvestres ejercida por los piscicultores en procura de nuevos sementales [4, 5, 6].

El presente estudio planteó como objetivo principal evaluar el efecto de la criopreservación con Dimetilsulfóxido (DMSO), sobre la capacidad fecundante del semen de cachama blanca (*Piaractus orinoquensis*), en la producción de alevines de híbrido de cachama (*Colossoma macropomum* x *Piaractus orinoquensis*).

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en las instalaciones de la Estación de Piscicultura de la Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” (UCLA), ubicada en el estado Yaracuy a 700 m.s.n.m. con una temperatura promedio de 25 °C. Un total de nueve ejemplares de cachamas, sexualmente maduros y con edades entre 3 y 5 años, fueron seleccionados, empleando los criterios descritos por Arias y Hernández [7], que incluyeron ocho peces machos de cachama blanca o morocoto y una hembra de cachama negra o cherna (*Colossoma macropomum*),

Para la inducción hormonal se empleó el análogo de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) más utilizado en peces que es el análogo de GnRH de salmón (sGnRH<sub>a</sub>) en su presentación comercial OVA-RH®, a razón de 1 µg/Kg de peso corporal vivo para los machos de cachama blanca y de extracto hipofisario de carpa en dosis de 6,3 mg/Kg de peso vivo para las hembras de cachama negra [3, 7, 8, 9].

El semen fue recolectado directamente en solución salina de Hank (misma concentración de osmolaridad del líquido seminal ≈ 280 mOsm, mediante un microosmómetro, marca OSMETTE, modelo 5004, fabricado en USA). Inmediatamente después se evaluó la calidad seminal examinando las características tanto macroscópicas: volumen, viscosidad y

color; como microscópicas: concentración espermática (Sptz/mL), movilidad, tiempo de activación y vitalidad, a través de la observación con un microscopio óptico, marca New York, modelo B-193, fabricado en italiana.

El semen y el diluyente se combinaron a temperatura ambiente (28 ± 1 °C) en proporción 1:4 (1 parte de semen y 3 partes de diluyente) con una micropipeta de 0,5 µL, marca Rainin modelo S pipe.lite, fabricada en USA y empacándose en pajuelas francesas de 0,5 mL debidamente identificadas y selladas con polivinilo y colocadas durante 30 minutos (min) en vapores de nitrógeno, tiempo en el cual alcanzaron una temperatura de -76 °C [8]; la medición de este parámetro se registró con un termómetro electrónico, marca Fluke, Mod. TH29P, fabricado en USA. Transcurrido este tiempo, las pajuelas fueron sumergidas directamente en nitrógeno líquido a -196 °C hasta su evaluación, en un taque marca Taylor – Thelco, modelo XT34 con capacidad para 100 L, fabricado en USA.

La descongelación del semen se hizo en un baño María a 40 °C durante 15 segundos (s), sumergiendo allí las pajuelas (marca Thelco, modelo 182, fabricado en USA). Una vez descongelada la pajuela, el semen fue depositado en un tubo ependorff estéril. Previo a la fecundación de los oocitos con este semen, se verificó en una muestra la inmovilidad del mismo, realizando además la evaluación post-congelación de las características seminales descritas anteriormente.

En este estudio, se emplearon 6 gramos de oocitos de cachama negra que fueron dispensados en 100 oocitos por cada placa de incubación (3 placas y 6 réplicas por tratamiento) para un total de 18 placas y 1800 oocitos por tratamiento (T1 y T2). La evaluación de la fecundación se efectuó de 6 a 9 h luego de iniciada la incubación, según lo recomendado por Cruz-Casallas [9] y Montes-Petro y col. [10], con un microscopio estereoscópico, marca Leica, modelo MGD28, fabricado en Singapur. El resultado fue expresado en proporciones, calculadas a partir del número de oocitos fecundados por cada 100 oocitos observados.

## Análisis estadístico

Los resultados de la evaluación seminal fueron expresados en estadísticos descriptivos (media ± desviación estándar o  $M \pm DS$ ) mientras que los registrados para movilidad y tiempo de activación espermática tanto para el semen fresco como el criopreservado fueron comparados mediante el procedimiento estadístico de Modelos Lineales Generalizados o GLM con un test de Duncan a un nivel de significancia de  $P < 0,05$ . Para las variables fecundación, eclosión y anomalía en larvas se aplicó la prueba de *Ji cuadrado* a un nivel de significancia de  $P < 0,05$ , ambas pruebas se realizaron con el paquete estadístico SAS.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Evaluación seminal

Los valores obtenidos para las características macroscópicas y microscópicas del semen fresco se presentan en las TABLAS I y II. Así mismo, se aprecian los

datos registrados para las características microscópicas en el semen criopreservado con DMSO al 10 %.

**TABLA I**  
**Valores promedios registrados para las características macroscópicas (volumen, viscosidad y color) del semen fresco (T1) de cachama blanca**

Variables	Valores (Media $\pm$ DS)	Unidades
Volumen	3,63 $\pm$ 1,69	mL
Viscosidad	3 $\pm$ 1	----
Color	Blanco	----

DS: Desviación estándar, mL: Mililitro

**TABLA II**  
**Valores promedios registrados para las características microscópicas (vitalidad, concentración, movilidad y tiempo de activación) del semen fresco (T1) y semen criopreservado (T2) de cachama blanca**

Tratamientos	Variables	Valores (Media $\pm$ DS)	Unidades
1	Vitalidad	99,38 $\pm$ 0,82	%
	Concentración	3,64 $\pm$ 1,66X10 <sup>10</sup>	Sptz/mL
	Movilidad	100 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	%
	Tiempo de activación espermática	124,50 $\pm$ 17,65 <sup>a</sup>	Seg.
2	Vitalidad	-----	%
	Concentración	-----	Sptz/mL
	Movilidad	27,29 $\pm$ 3,90 <sup>b</sup>	%
	Tiempo de activación espermática	16,79 $\pm$ 4,89 <sup>b</sup>	Seg.

Existen diferencias estadísticas en los datos de la misma columna con supra índices diferentes. Procedimiento estadístico GLM, prueba de test de Duncan (P < 0,05), DS: Desviación estándar.

Las características seminales como viscosidad, color, movilidad y tiempo de activación espermática, evaluadas en este trabajo, presentaron valores dentro de los intervalos referidos en la literatura para la especie objeto estudio. Fresnada y col. [11], refieren semen de coloración blanco y valores de 0,83 mL; 91,2 %; 100,6 seg.; 86 % y 3x10<sup>10</sup> sptz. mL-1 para volumen, movilidad, tiempo de activación, vitalidad y concentración espermática; respectivamente.

Al comparar el volumen seminal de machos de cachamas inducidas hormonalmente, se observan diferencias importantes en cuanto a lo señalado por Carmona y col. [3], Arias y Hernández [7] y Rodríguez-Pulido y col. [12], donde obtienen cantidades superiores a los 6  $\pm$  3 mL para el volumen seminal de peces en cautiverio. La variación en esta característica ocurre por variables intrínseca de cada especie y de cada individuo como peso, talla y edad. Así mismo, el inductor hormonal juega un papel fundamental en la producción de volumen seminal, según lo expresan Medina-Robles y col. [5], al igual que y Montes-Petro y col. [10] y Fresnada y col. [11].

La concentración espermática se asocia al grado de viscosidad en el semen de los machos de peces, dado que la relación es directamente proporcional, lo que hace factible la gran cantidad de espermatozoides cuantificados por mililitro, números que son superiores al compararlos con otros trabajos científicos, tal es el caso de lo presentado por Galo y col. [13] donde presentan valores máximos de 11,72x10<sup>5</sup> en pacu (*Piaractus mesopotamicus*)

En cuanto a la variable coloración del semen es extremadamente importante en virtud a que su aspecto blanco para algunos autores refiere una leve idea de la concentración espermática [14]. Sin embargo, su principal importancia para otros autores como Barros-Barrio y Medina-Robles [6], Souza [15] y Medina-Robles y col. [4], lo asocian al grado de pureza del material seminal debido a la posible presencia de contaminantes tales como materia fecal, bilis, sangre u orina.

La duración e intensidad de la movilidad espermática, permite inferir sobre la capacidad fecundante del semen estudiado. No obstante, Fresnada y col. [11] difieren de esta afirmación, dado que ellos infieren que hay variabilidad dependiendo del estado de las hembras de cachama por lo que concluyen que el porcentaje de movilidad y el tiempo de activación no es el parámetro predictivo de la efectividad de la fecundación. Por su parte, la valoración del semen criopreservado con DMSO al 10 % evidenció una dramática disminución en características como: movilidad y tiempo de activación espermática, mostrando incluso diferencias significativas (P < 0,05) al comparar estos valores con los determinados en fresco.

El envasado del semen y su posterior congelación se realizó cumpliendo cada paso establecido en los protocolos propuestos por Nascimento y col. [8], Medina-Robles y col. [16], Velasco-Santamaria y Cruz-Casallas [17] y Fonseca [18], quienes expresan una serie de condiciones para la ejecución de esta técnica, como por ejemplo una movilidad del semen superior al 80 % como factibilidad para su congelación, además de la no presencia de impurezas en su recolección (color blanco puro), el esterilizado de todo el material empleado y por últimos el haber pasado las pajuelas por vapores de nitrógeno líquido antes de su congelación definitiva.

Los resultados obtenidos para movilidad y el tiempo de activación espermática para el semen criopreservado y descongelado fueron inferiores al compararlos con el 40 % y 88 seg, y 50 % y 60 s registrados por otros autores [17, 19, 20] al utilizar en machos de cachama blanca este mismo crioprotector en igual concentración. Situación similar se repite al contrastar con los valores presentados por Viveiros y Godinho [21] en *Piaractus mesopotamicus* al estudiar la misma proporción semen:crioprotector.

## Fecundación

Medina-Robles y col. [16] y Poleo y Mora [22], exponen que, en los protocolos de crioconservación, por muy minucioso que se ejecute la técnica, siempre ocurren numerosos daños potenciales sobre las células como la formación y disolución de cristales en su ambiente intra y extracelular que son originados principalmente por el choque térmico, el estrés tóxico y osmótico originado por la exposición a los diluyentes a las que son sometidos.

A este respecto es de esperarse que se aprecien diferencias estadísticamente significativas (P < 0,05) al comparar el total del número de huevos fecundados con

semen fresco versus huevos con semen criopreservado, según se aprecia en la TABLA III. Es importante señalar que la tasa fecundación se evaluó 8 h luego de ser aplicado el semen criopreservado, debido a que el huevo se encontró en la fase de cierre de la gástrula, por lo que se infiere que el desarrollo embrionario de la larva debe concluir a buen término hasta su eclosión, según lo recomendado por Cruz-Casallas [9], Viveiros y Godinho [21] y Botero y col. [23].

TABLA III

**Valores totales registrados para la medición de la efectividad en la tasa de fecundación (%) utilizando semen fresco (T1) y criopreservado (T2) de cachama blanca**

Tratamiento	Huevos valorados	Huevos fecundados
1	1800	1685 <sup>a</sup>
2	1800	700 <sup>b</sup>

Existen diferencias estadísticas en los datos de la misma columna con supra índices diferentes. Prueba de *Ji cuadrado* ( $P < 0,05$ ).

Fonseca [18] y Cruz-Casallas y col. [24], manifiestan que es ampliamente conocido que la tasa de fecundación se correlaciona positivamente con el porcentaje de movilidad espermática del semen utilizado. Sin embargo, en algunos casos, el semen que exhibe movilidad aceptable puede no ser fértil. Por lo tanto, la evaluación de la fecundación constituye una de las pruebas más confiables para determinar la calidad seminal, siendo que actualmente es el procedimiento recomendado para evaluarla en la mayoría de los estudios sobre inseminación artificial y crioconservación espermática en peces.

Con base a lo antes expuesto, se puede inferir que a pesar de la baja movilidad y poco tiempo de activación espermático registrado en esta investigación, se logró obtener la cantidad de 700 huevos de un total de 1800 oocitos empleando semen de cachama blanca criopreservado con DMSO, lo que representó una tasa de fecundación aproximadamente de un 39 %.

A este respecto, Viveiros y Godinho [21], reportaron 61 % de fecundación con semen criopreservado de *Piaractus mesopotamicus* con tan sólo 20 % de movilidad espermática post descongelación, condición que reafirma los resultados obtenidos en esta investigación. Igualmente ocurre al comparar estos resultados con los registrados por Navarro y col. [14], quienes mostraron datos de 36 % de fecundación al utilizar semen de cachama blanca criopreservado con DMSO al 10 %, y se observan valores similares entre ambas investigaciones. De igual manera, se han reportado valores de fecundidad de entre 50 y 61 % para el *Brycon amazonicus*, consolidando los resultados de esta investigación [16].

En Venezuela, a la fecha, el único ensayo realizado con semen criopreservado en peces fue realizado por Martino [25], utilizando ejemplares de cachama blanca y quien sólo registró fecundación del 1 %, a pesar de haber obtenido movilidad seminal post descongelación aproximadamente de 50 % utilizando DMSO y yema de huevo como diluyentes intra y extracelular, respectivamente.

## Eclosión de larvas

Los estudios de los efectos sobre las membranas plasmática, nuclear y en las mitocondrias, debido al daño producido por la crioconservación en el material genómico deben empezar a ser considerados para encontrar posibles correlaciones entre el desarrollo de los primeros estadios embrionarios, las tasas de fecundación, la sobrevivencia y el desempeño larval [16].

En este contexto, por consiguiente, es entendible que existan diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,05$ ) al contrastar los valores obtenidos para la eclosión de oocitos empleando semen fresco y semen criopreservado de cachama blanca, datos que podemos apreciar en la TABLA IV.

TABLA IV

**Valores totales registrados para la medición de la efectividad en la tasa de eclosión (%) de larvas de híbrido de cachama utilizando semen fresco (T1) y semen criopreservado (T2) de cachama blanca**

Tratamiento	Huevos valorados	Huevos fecundados
1	1800	1258 <sup>a</sup>
2	1800	536 <sup>b</sup>

Existen diferencias estadísticas en los datos de la misma columna con supra índices diferentes. Prueba de *Ji cuadrado* ( $P < 0,05$ ).

La proporción de larvas de híbrido de cachama para el tratamiento 2 en esta investigación fue del 30 %, valor considerado bajo al contrastarse ambos tratamientos. Sin embargo, Martino [25], no logró alcanzar eclosión de larvas de híbrido de cachama al fecundar con semen de cachama blanca criopreservado con DMSO durante 36 h, a pesar de lograr movilidad seminal del 50 % post descongelación.

Los resultados exhibidos en este trabajo para la eclosión larval difieren a los publicados por Mira-López y col. [26], quienes no encontraron diferencias al comparar la eclosión de larvas de *Brycon amazonicus*, donde grupos de oocitos se fecundaron con semen fresco y semen congelado.

Martínez [27], encontró diferencias al comparar las cantidad de larvas obtenidas a partir de semen fresco del bocachico (*Prochilodus magdalenae*) versus semen de esta misma especie criopreservado con DMSO más glucosa, destacando este autor que la variable fue afectada por el efecto simple e independiente de la concentración del DMSO ( $P < 0,0001$ ) y concentración de glucosa ( $P < 0,05$ ), ambos de forma significativa y de modo separado, sin que la interacción conjunta entre ambos factores haya sido necesaria o afectara tal variación.

Viveiros y Godinho [21], tuvieron resultados similares a los presentados en este experimento, obteniendo bajas tasas de eclosión larval en *Prochilodus lineatus*, al emplear semen congelado con 5 % de glucosa y metilenglicol, concluyendo que el uso de glucosa como diluyente es altamente recomendado en peces.

## Anomalías morfológicas en larvas

A pesar del bajo índice de larvas eclosionadas por el uso del semen criopreservado de cachama blanca en esta investigación, no se registraron larvas deformes al ser evaluadas tras su eclosión, destacando que, aunque se observó un 39 % de huevos fecundados, es normal que el total de esos huevos no lleguen a eclosionar completamente, debido a daños presentes en las células espermáticas que ocasionan la detención del proceso de desarrollo embrionario en cualquier estadio.

El hecho de que las 536 larvas obtenidas con semen criopreservado, según se muestra en la TABLA IV, hayan presentado formación completa en todas sus estructuras, movimiento propio y buen tamaño del saco vitelino, tal cual lo describen otros autores [6, 9 y 23], indica que el protocolo no ocasionó daños en las células espermáticas. Sin embargo, es necesario considerar que las consecuencias de la crioconservación de semen en la progenie han sido escasamente estudiadas, aun conociendo que se ha demostrado que los espermatozoides expuestos a agentes deletéreos para el ADN alteran el genoma de la progenie, así como su viabilidad y desarrollo, como ha sido señalado en y *Brycon sinuensis* y *Brycon amazonicus* que registraron gran número de malformaciones individuales en larvas recién eclosionadas provenientes de oocitos fecundados con semen congelado [3 y 26].

## CONCLUSIONES

El semen fresco presentó un mejor comportamiento para todos los parámetros seminales en comparación con el semen criopreservado con DMSO al 10 %.

La tasa registrada para la fecundación indicó que el semen fresco exhibió valores superiores en comparación con el bajo porcentaje para esta variable usando semen criopreservado con DMSO al 10 %.

En la valoración de la tasa de eclosión larval, los datos mostraron que, al utilizar semen fresco, los resultados fueron superiores al contrastarse con los registrados al utilizar semen criopreservado con DMSO al 10 %.

En la evaluación de la tasa de anomalías morfológicas en larvas no se registraron diferencias en los valores al compararse ambos tratamientos.

## Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Instituto Nacional de Nutrición (INN). Ministerio del poder popular para la Alimentación. Caracas, República Bolivariana de Venezuela: INN. 2024 [citada 10 Dic 2025]. Disponible en: <https://goo.su/FEUK0C>
- [2] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2024. La transformación azul en acción. Roma, Roma, Italia: FAO. 2024; 278. doi: <https://doi.org/p87c>
- [3] Carmona J, Espinosa J, Atencio V, Díaz O. Crioconservación de semen de dorada (*Brycon sinuensis*) con diferentes crioprotectores a dos porcentajes de inclusión. Orinoquia. [Internet]. 2022; 25(2):15–24. doi: <https://doi.org/q9hs>
- [4] Medina-Robles V, Velasco-Santamaría Y, Cruz-Casallas P. Efecto del volumen de empaque sobre la tasa de congelación-descongelación y la fertilidad de semen criopreservado de yamú (*Brycon amazonicus*). Arch. Med. Vet. [Internet]. 2007; 39(3):229–237. doi: <https://doi.org/ftdwkj>
- [5] Medina-Robles V, Duarte-Trujillo A, y Cruz-Casallas P. Crioconservación seminal en peces de agua dulce: aspectos biotecnológicos, celulares y bioquímicos. Orinoquia. [Internet]. 2020; 24(2):51-78. doi: <https://doi.org/q9ht>
- [6] Barros-Barrios O, y Medina-Robles V. Parámetros de calidad espermática en semen criopreservado de peces dulceacuicolas. Orinoquia. [Internet]. 2022; 26(2): e-764. doi: <https://doi.org/q9hv>
- [7] Arias J, Hernández J. Efectos del extracto hipofisiario de carpa común y el análogo de la GNRH sobre la maduración final del oocito y el desove de la cachama negra (*Colossoma macropomum*). Rev. Cientif. FCV-LUZ. [Internet]. 2009 [citado 11 Ene 2026]; 19(5):486–494. Disponible en: <https://goo.su/fzwzlp>
- [8] Nascimento A, Maria AN, Pessoc N, Carvalhoc M, Viveiros, A. Out-of-season sperm cryopreserved in different media of the Amazonian freshwater fish pirapitinga (*Piaractus brachypomus*). Ani. Reprod. Sci. [Internet]. 2010; 118(2-4):324–329. doi: <https://doi.org/fndf6p>
- [9] Cruz-Casallas P. Técnicas de laboratorio para la evaluación de la calidad seminal en peces. Orinoquia. [Internet]. 2001 [citado 17 Dic 2025]; 5(1):153-163. Disponible en: <https://goo.su/ReWIVO6>
- [10] Montes-Petro C, Yepes-Escobar J, Tapia-Pacheco C, Madariaga-Mendoza D, Espinosa-Araujo J, Atencio-García V. Madurez testicular y calidad seminal de *Ichthyoelephas longirostris* (Prochilodontidae) del Medio río Cauca. Acta Biol. Colomb. [Internet]. 2024; 29(3):179–188. doi: <https://doi.org/q9hw>
- [11] Fresnada A, Lenis G, Agudelo E, Olivera M. Espermiación inducida y crioconservación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). Rev. Colomb. Cienc. Pecu.. [Internet]. 2004; 17(4):46–52. doi: <https://doi.org/q9hx>
- [12] Rodriguez-Pulido J, Villamil-Rodriguez J, Mira-López T, Cruz-Casallas P, Baldisserotto B. Gonadal Maturation *Pseudoplatystoma metaense* x *Leiarius marmoratus* Hybrids, (Siluriformes: Pimelodidae). Int. J. Morphol. [Internet]. 2020; 38(5):1405-1411. doi: <https://doi.org/q9hz>

- [13] Galo J, Digmayer M, Streit D, Ribeiro R, Moraes G, Sirol R, Vargas L, Gualda T. Sêmen de pacu *Piaractus mesopotamicus* congelado com diferentes concentrações de geléia real. [Internet]. 1er Congreso brasileiro de producción de peces nativos de agua dulce, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brasil: Embrapa Agropecuária Oeste. 2007 [citado 17 Dic 2025]; 6 p. Disponible en: <https://goo.su/8s6mhl>
- [14] Navarro O, Velasco-Santamaría Y, Cruz-Casallas P. Evaluación de cinco protectores para la criopreservación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). Rev. Colomb. Cienc. Pecu. [Internet]. 2004; 17(4):53–59. doi: <https://doi.org/q9h3>
- [15] Souza F. Aspectos da reprodução no gênero *Characidium Reinhardt, 1867* (Crenuchidae, Characidiinae), na microbacia do Ribeirão Grande, serra da Mantiqueira, sudeste do Brasil. Acta Sci. Biol. Sci. [Internet]. 2006; 28(4):365-371. doi: <https://doi.org/dk6p8q>
- [16] Medina-Robles V, Barros-Barrios O, Mira-López T, Guaje-Ramírez D, Suárez-Martínez R, Ramírez-Merlano J. Criopreservación a largo término de semen de yamú *Brycon amazonicus* y ensayos a escala comercial. Rev MVZ Córdoba. [Internet]. 2025; 30(3):e3601. doi: <https://doi.org/q9h4>
- [17] Gutiérrez-Yara G, Cruz-Casallas PE, Velasco-Santamaría Y. Efectos de extracto de algas marinas sobre parámetros productivos de la cachama blanca (*Piaractus brachypomus*): ensayos en laboratorio y a escala comercial. Orinoquia. [Internet]. 2009 [recuperado 12 Enero 2026]; 13(1):37-45. Disponible en: <https://sl1nk.com/a7iyau6>
- [18] Fonseca G. Criopreservación de tejido gonadal del robalo blanco *Centropomus viridis*: efecto de crioprotectores penetrantes y no penetrantes en la viabilidad de las células germinales. [Tesis de Maestría]. Baja California, México: Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. [Internet]. 2022; [citado 10 de Ene 2026]; 51 p. Disponible en: <https://goo.su/zJtS1z>
- [19] Rincón D, Méndez Y, Hernández J, Villamediana P. Evaluación de los parámetros espermáticos de semen fresco y criopreservado de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). 1er Congreso Venezolano de Ciencia, Tecnología e Innovación LOCTI – PEII. 2012. Caracas, Venezuela: Gobierno Bolivariano de Venezuela, Ministerio del Poder Popular para Ciencia, Tecnología e Innovación. [Internet]. 2012; [citado 20 Ene 2026]. 500 p. Disponible en: <https://l1nk.dev/06jkw>
- [20] Pineda-Santis H, Gómez-Oquendo J, Montoya-Páez J, Toro-Rendón V, Acedo-Villa O, y Restrepo-Betancurt G. Criopreservación de semen y calidad espermática en sabaleta *Brycon henni* (Pisces: Characidae). Orinoquia. [Internet]. 2015 [citado 20 Ene 2026]; 19(2):166-173. Disponible en: <https://goo.su/Zzb6sn>
- [21] Viveiros A, Godinho H. Sperm quality and cryopreservation of Brazilian freshwater fish species: a review. Fish Physiol. Biochem. [Internet]. 2009; 35(1):137–150. doi: <https://doi.org/dgscs3>
- [22] Poleo G, y Mora A. 2008. Ensayos preliminares de preservación a corto plazo de semen de los bagres yaque (*Leiarius marmoratus*) y sierra (*Oxidoras sifontesi*). Ciencia. [Internet]. 2008 [citado 20 Ene 2026]; 16(4):396–401. Disponible en: <https://goo.su/bhdTTK>
- [23] Botero M, Fresnada A, Montoya A, y Olivera M. 2004. Desarrollo embrionario de cigotas híbridas obtenidas por cruzamiento de machos de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*) y hembras de Cachama Negra (*Colossoma macropomum*). Rev. Colomb. Cienc. Pecu. [Internet]. 2004; 17(4):38-45. doi: <https://doi.org/q9h7>
- [24] Cruz-Casallas P, Medina-Robles V, Velasco-Santamaría Y. Protocolo para la criopreservación de semen de yamú (*Brycon amazonicus* Spix & Agassiz 1829). Rev. Colomb. Cienc. Pecu. [Internet]. 2006 [citado 25 de Ene 2026]. 19(2):146–151. Disponible en: <https://goo.su/qoLcM>
- [25] Martino G, 2006. Primeros ensayos sobre criopreservación de semen de Cachama (*Colossoma macropomum*) y Morocoto (*Piaractus brachypomus*). Comunicación técnica, II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. CIVA. 2006 [citado 2 de Feb 2026]; 152–158 p
- [26] Mira-López T, Medina-Robles V, Velasco-Santamaría Y, Cruz-Casallas P. Valores morfométricos en larvas de yamú *Brycon amazonicus* (Pisces: Characidae) obtenidas con semen fresco y criopreservado. Actual. Biol. [Internet]. 2007; 29(87):203–213. doi: <https://doi.org/q9h8>
- [27] Martínez J. Efecto de la concentración de DMSO y glucosa sobre la calidad espermática y el material genético en semen criopreservado de bocachico *Prochilodus magdalenae*. [Tesis de Maestría]. Colombia: Universidad Nacional de Colombia. [Internet]. 2010 [citado 2 de Feb 2026]; 151 p. Disponible en: <https://goo.su/aw1Zd>