

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA



Proyecto de investigación previo a la obtención del Título de:
INGENIERO AGROPECUARIO

Viabilidad de semen de sábalo (*Brycon amazonicus*) conservado a corto plazo en soluciones protectantes como contribución a los sistemas locales de producción piscícola.

Autor:

Heras Calle Franklin Armando

Director del proyecto:

MSc. Ricardo Burgos M.

Pastaza – Ecuador

2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, FRANKLIN ARMANDO HERAS CALLE, con C.I. 160064055-9, declaro que el contenido del proyecto de investigación y desarrollo titulado: “Viabilidad de semen de sábalo (*Brycon amazonicus*) conservado a corto plazo en soluciones protectantes como contribución a los sistemas locales de producción piscícola” es de mi responsabilidad; que los resultados del mismo son propios de mi investigación y los textos asentados en este documento que provienen de otra fuente están debidamente citados y referenciados.

Como autor, asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este proyecto.

Franklin Armando Heras Calle
1600640559

CERTIFICADO DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, MSc. Ricardo Burgos Morán, Docente de la Universidad estatal Amazónica, **CERTIFICA** que el **EGRESADO FRANKLIN ARMANDO HERAS CALLE** realizó el proyecto de investigación y desarrollo previo a la obtención de Ingeniero Agropecuario, titulado: **“Viabilidad de semen de sábalo (*Brycon amazonicus*) conservado a corto plazo en soluciones protectantes como contribución a los sistemas locales de producción piscícola”**, bajo mi tutoría y dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

.....
MSc. Ricardo Burgos-Morán.
DIRECTOR DEL PROYECTO

AVAL

Master
Ricardo Burgos Morán

Docente de la Universidad Estatal Amazónica avaliza el Proyecto de investigación:

Título: “Viabilidad de semen de sábalo (*Brycon amazonicus*) conservado a corto plazo en soluciones protectantes como contribución a los sistemas locales de producción piscícola”

Autor: Franklin Armando Heras Calle

Certifico haber acompañado el proceso de elaboración del proyecto de investigación y considero que cumple los lineamientos y orientaciones establecidas en la normativa vigente de la institución.

Por lo antes expuesto se avala el proyecto de investigación para que sea presentado ante la coordinación de la carrera Ingeniería Agropecuaria como requisito de titulación como Ingeniero Agropecuario, y que dicha instancia considere el mismo a fin de que tramita lo que corresponda.

Para constancia, firmo el presente a los 16 días del mes de julio del 2018.

Atentamente,

.....
MSc. Ricardo Burgos-Morán
DOCENTE DE LA UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

INFORME FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título: **“Viabilidad de semen de sábalo (*Brycon amazonicus*) conservado a corto plazo en soluciones protectantes como contribución a los sistemas locales de producción piscícola”**

Autor: **Franklin Armando Heras Calle**

Unidad de Titulación: **Ingeniería Agropecuaria**

Director del Proyecto: **Ricardo Ernesto Burgos Morán**

Fecha: **14 de junio de 2018**

Introducción y contexto de la investigación

Actualmente los sistemas de cultivo de peces nativos, están limitados por la producción de alevines, y en este sentido, una gran limitante es la falta de sincronía entre los procesos reproductivos de hembras y machos. Este proyecto propone analizar la viabilidad de conservación de semen de Sábalo (*Brycon amazonicus*) a corto plazo, con el propósito de mejorar los procesos de fecundación artificial y así contribuir a la mayor producción de semilla de esta especie.

Cumplimiento de objetivos

Se realizaron muestreos de madurez sexual fuera del período principal de manifestación de signos reproductivos, debido a la temporalidad del proyecto, se evaluó la cantidad de semen producido, y la viabilidad de los espermatozoides post activación; además se realizó una prueba de conservación en el mes de marzo; sin embargo, no se pudieron realizar más pruebas de protocolos debido al cese de producción espermática por temporalidad reproductiva.

Principales resultados obtenidos

- Se determinó la curva de viabilidad de duración en fresco de espermatozoides de *B. amazonicus*, con activación inducida; además que con esta muestra se pudieron realizar evaluaciones de cantidad producción y estados de shock térmico para conservación de esperma.
- Se realizaron pruebas de inducción hormonal para producción de esperma con animales fuera de la temporada de reproducción; con una nula o muy limitada respuesta.

El estudiante Franklin Armando Heras Calle ha demostrado compromiso y entrega durante la implementación de su proyecto de investigación, lo cual lo condujo a una obtención de datos importantes la fisiología reproductiva de machos *B. amazonicus*, que, si bien no llegó a la obtención de un protocolo de conservación a corto plazo, son significativos para avanzar en su desarrollo.

El estudiante Heras Calle, se ha destacado por su rendimiento académico y ha mostrado la suficiente determinación en la consecución de esta investigación, lo cual lo condujo a culminar su proyecto de investigación, cumpliendo con las 400 horas establecidas en el Reglamento de Régimen Académico de la UEA.

La presentación final de trabajo cumple con las normas establecidas en la reglamentación institucional.

La redacción, ortografía, calidad de los gráficos, tablas y anexos es adecuada.

Sin otro particular.

Atentamente,

MSc. Ricardo Burgos-Morán
Docente Titular Agregado 2



Oficio No. 015-UTIC-UEA-2018
Puyo, 15 de Junio de 2018

Señores
Secretaría Académica U.E.A.
Presente.-

Por medio de presente CERTIFICO que:

El proyecto de titulación, investigación y desarrollo correspondiente a **HERAS CALLE FRANKLIN ARMANDO**, con C.I. 1600640559 con el Tema: **"VIABILIDAD DE SEMEN DE SÁBALO (*Brycon amazonicus*) CONSERVADO A CORTO PLAZO EN SOLUCIONES PROTECTANTES COMO CONTRIBUCIÓN A LOS SISTEMAS LOCALES DE PRODUCCIÓN PISCÍCOLA"**, de la Carrera de Ing. Agropecuaria, Director de proyecto. MSc. Ricardo Burgos, ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 03 %. Informe generado con fecha 14 de junio de 2018 por parte del Director, conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

Ing. Elías Jachero-Robalino MSc.
UNIDAD DE TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN DE LA UEA
ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

NOTA: Adjunto informe generada el 15 de junio de 2018 por parte del Director del proyecto.

Urkund Analysis Result

Analysed Document: Viabilidad de semen de sábalo (*Brycon amazonicus*) conservado a corto plazo en soluciones protectantes como contribución a los sistemas locales de producción piscícola.docx (D40186826)

Submitted: 6/15/2018 1:22:00 AM

Submitted By: lbravo@uea.edu.ec

Significance: 3 %

Sources included in the report:

TESIS JAVIER MEJIA.doc (D23467667)
<http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v19n2/v19n2a05.pdf>

Instances where selected sources appear:

4

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El proyecto de investigación y desarrollo titulado: “Viabilidad de semen de sábalo (*Brycon amazonicus*) conservado a corto plazo en soluciones protectantes como contribución a los sistemas locales de producción piscícola”, fue aprobado por los siguientes miembros del tribunal:

Dra. Alina Ramírez Sánchez PhD.
PRESIDENTA DEL TRIBUNAL

Dr. Francisco Lam Romero PhD.
VOCAL DEL TRIBUNAL

Dra. Carolina Bañol PhD.
VOCAL DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento va primero a Dios por darme las fuerzas y la sabiduría necesarias para terminar mi carrera y realizar este proyecto.

A mis padres, hermano y hermanas quienes han sido un pilar fundamental en el día a día de este proceso constructivo.

A mi tutor quien me ha acompañado, ha sabido guiarme de la manera más correcta e ideal durante la ejecución de este proyecto y es un ejemplo a seguir.

Quiero también agradecer a los docentes miembros del Tribunal quienes con mucho esmero me corrigieron los errores y deficiencias dentro de la elaboración de mi proyecto de investigación.

Vaya también mi agradecimiento a todos los docentes del transcurso de la carrera ya que fueron ellos quienes me dieron las herramientas necesarias para un óptimo desempeño tanto en la realización de este proyecto, como también lo serán para mi futuro profesional.

Y a la Universidad Estatal Amazónica, que me abrió las puertas para formarme como profesional de esta patria.

DEDICATORIA

Dedico este proyecto con mucho amor y cariño para mi adorada madre Elsa C. y mi querido padre José H. quienes con sacrificio y esfuerzo hicieron hasta lo imposible para verme cumplir esta meta tan anhelada y soñada durante muchos años.

RESUMEN

El proyecto se realizó durante el mes de mayo, en el Programa de Recursos Acuáticos del CIPCA, localizado en la Región Amazónica Ecuatoriana. Los estanques donde permanecían los ejemplares fueron de tierra, con alimentación constante de agua a una tasa de renovación de aproximadamente 20% diario. El propósito de este trabajo fue determinar un protocolo viable para la conservación a corto plazo de semen de sábalo mediante la comparación de sobrevivencia diaria de espermatozoides de semen conservado en cuatro diferentes soluciones protectantes y la valoración de indicadores de calidad, como contribución a los sistemas locales de producción piscícola. Para el desarrollo del presente trabajo se seleccionaron tres individuos masculinos con madurez sexual y edad superior a 34 meses, para realizar el proceso de conservación de semen a corto plazo. Los ejemplares fueron revisados periódicamente para supervisión de producción espermática y al término de 15 días de monitoreo ninguno mostró producción de semen de forma natural, por lo que se realizó la inducción hormonal, con un tratamiento de 2,2mg de EPC (Extracto de Pituitaria de Carpa – Argent ®) por kilogramo de peso vivo. A la fase final del proceso de inducción (12h y/o 310H°) sólo un animal tuvo producción espermática de 0.2 ml, la cual fue muy limitada para realizar la conservación en soluciones protectantes. De esto modo, se concluye que el mes de mayo está fuera del pico de producción espermática por lo que no es posible obtener semen de *Brycon amazonicus*, tanto natural como artificialmente bajo inducción hormonal.

Palabras claves: *Brycon amazonicus*, conservación, semen, soluciones protectantes.

ABSTRACT

The project was carried out during the month of May, in the CIPCA Aquatic Resources Program, located in the Ecuadorian Amazon Region. The ponds where the animals remained were built in ground, with constant water supply at a renewal rate of approximately 20% daily. The purpose of this work was to determine a viable protocol for the short-term conservation of shad semen by comparing the daily survival of semen sperm preserved in three different protective solutions and the assessment of quality indicators, as a contribution to local systems of fish production. For the development of the present work, three male individuals with sexual maturity and age over 34 months were selected to carry out the short-term semen conservation process. The specimens were reviewed periodically for sperm production supervision and at the end of 15 days of monitoring none showed semen production in a natural way, for which hormonal induction was carried out, with a treatment of 2.2mg of EPC (Carp Pituitary Extract - Argent ®) per kilogram of live weight. At the final stage of the induction process (12h and / or 310H °), only one animal had sperm production of 0.2 ml, which was very limited to carry out conservation in protective solutions. In this way, we can affirm that the month of May is outside the peak of sperm production so it is not possible to obtain semen from *Brycon amazonicus*, both naturally and artificially under hormonal induction.

Keywords: *Brycon amazonicus*, conservation, semen, protective solutions.

Tabla de contenido

CAPÍTULO I	16
1. Introducción	16
1.1. Problema	17
1.2. Justificación	17
1.3. Objetivos	18
1.3.1. Objetivo general	18
1.3.2. Objetivos específicos	18
CAPÍTULO II	19
2. Fundamentación teórica de la investigación	19
2.1. Antecedentes	19
2.2. El sábalo (<i>Brycon amazonicus</i>)	19
2.2.1. Descripción	20
2.3. Bases teóricas	20
2.3.1. Reproducción de peces tropicales	20
2.3.2. Fisiología de los espermatozoides de peces	21
2.3.2.1. Gametogénesis	21
2.3.2.2. Morfología	21
2.3.2.3. Movilidad espermática	21
2.3.3. Conservación del semen a corto y largo plazo	22
2.3.4. Protocolos de conservación de semen en peces	22
2.3.6. Elementos de la crioconservación seminal	23
2.3.6.1. Diluyentes	23
2.3.6.2. Agentes crioprotectores	23
CAPÍTULO III	24
3. Metodología de la investigación	24
3.1. Localización	24
3.2. Tipo de investigación	24
3.3. Diseño de la investigación	24
3.4. Métodos de investigación	25
3.4.1. Selección de ejemplares	25
3.4.2. Extracción del semen	25
3.4.3. Extracción del semen en el pico reproductivo	25
3.4.4. Evaluación macroscópica	25
3.4.5. Conservación en soluciones protectantes	26
3.4.6. Espermatocrito	26
3.4.7. Prueba de electrolitos	26
3.4.8. Evaluación microscópica	26
3.4.8.1. Evaluación de motilidad masal	26
3.4.8.2. Evaluación de motilidad individual	27

3.4.8.3. Conteo de espermatozoides en cámara neubauer	27
3.4.9. Evaluación diaria	28
3.4.10. Preparación de soluciones protectantes	28
3.4.11. Inducción hormonal	28
3.5. Análisis de datos	29
CAPÍTULO II	30
4. Resultados	30
4.1. Viabilidad reproductiva de ejemplares sábalo (<i>B. amazonicus</i>)	30
4.2 Producción espermática en el pico reproductivo	30
4.2. Producción espermática mediante inducción hormonal	31
4.3. Conservación de espermatozoides	31
4.4. Análisis de espermatozoides	32
Capítulo V	34
5. Discusión	34
CAPÍTULO VI	35
6. Conclusiones y recomendaciones	35
6.1 Conclusiones	35
6.2. Recomendaciones	35
CAPÍTULO VII	36
7. Bibliografía	36
CAPÍTULO VIII	39
8. Anexos	39

ÍNDICE DE TABLAS, FOTOGRAFÍAS, GRÁFICOS Y ANEXOS

Tablas:

Cuadro 1. Determinación de viabilidad reproductiva en ejemplares sábalo (<i>B. amazonicus</i>) durante abril.	29
Cuadro 1. Producción espermática de machos de sábalo (<i>B. amazonicus</i>) en el pico reproductivo	30
Cuadro 3. Producción espermática en machos sábalo (<i>B. amazonicus</i>) mediante inducción hormonal.	30
Cuadro 4. Supervivencia de espermatozoides de sábalo (<i>B. amazonicus</i>) en cuatro soluciones protectantes.	31

Fotografías:

Fotografía 1. Esperma de <i>B. amazonicus</i>	32
---	----

Gráficos:

Gráfico 1. Supervivencia de espermatozoides de <i>B. amazonicus</i> post activación con agua.	31
---	----

Anexos:

Anexo 1. Manejo de ejemplares	38
Anexo 2. Preparación de soluciones protectantes	38
Anexo 3. Análisis de semen en el laboratorio	38

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una de las actividades más importantes como fuente alimenticia y de ingresos económicos para las familias ecuatorianas y fundamentalmente en la Amazonía donde las condiciones del suelo y el uso de tecnología no han permitido realizar otras actividades como se hace en las regiones costa y sierra del país. Esto se da gracias a la disponibilidad y calidad de agua, así como la temperatura tanto ambiental y también del agua que favorecen un desarrollo adecuado de los peces. Además, la adaptabilidad de las especies que aquí se producen, como *Oreochromis* spp. y las especies nativas como *Piaractus* spp., *Pseudoplatystoma* spp. y *Brycon* spp. Sin embargo, la estacionalidad reproductiva dificulta una producción normal durante todo el transcurso del año, como es el caso de nuestra especie en estudio *Brycon* spp, la cual según indicios de pescadores locales y personas que se han dedicado a esta actividad solo presentan signos reproductivos entre los meses de diciembre a marzo. Esto nos lleva a la necesidad de buscar estrategias y tecnologías de reproducción que garanticen una oferta permanente de alevines con fines de comercialización y engorde para su final consumo por la población (Velasco, *et al.*, 2006).

En países como Colombia, Perú, Brasil, entre otros ya se han realizado varios estudios en lo que corresponde a reproducción de *Brycon* spp. y otras especies que han presentado dificultades en el proceso de reproducción, ya sea por sus características fisiológicas o en ocasiones también por condiciones externas como clima, alimentación, agua, etc. Los métodos utilizados más frecuentes han sido inducción hormonal y conservación o crioconservación de gametos como estrategia para la solución satisfacer la demanda de alevines. Con todo, estos no han sido estandarizados y adaptados para el *Brycon* spp. presente en nuestros sistemas locales de producción piscícola es por ello que en este proyecto se propone determinar un protocolo viable para la conservación a corto plazo de semen de esta especie mediante la evaluación de cuatro soluciones protectantes con el propósito de dar solución a los problemas que presentan dichos sistemas.

1.1. PROBLEMA

La producción de alimentos para subsistencia de las familias y generación de recursos económicos para satisfacer sus necesidades diarias han generado un fuerte impacto social y económico, que compromete a todo aquello que forma parte de los ecosistemas. Una de las actividades relacionadas con este tema es el suministro de semillas para la repoblación de especies acuáticas amenazadas o sobreexplotadas, como también especies endémicas utilizadas para el consumo de la población (FAO, 2011). El desarrollo de protocolos de conservación de semen en diversas especies de peces tropicales de agua dulce, y en especial las amazónicas con semejanzas biológicas a *Brycon* spp., son herramientas útiles para el desarrollo de estas actividades, sin embargo la complejidad de los mismos no permite aplicar de forma generalizada para todas las especies, incluyendo el sábalo, el cual denota características especiales en su función reproductiva y su protocolo es poco explorado, principalmente en zonas de la Amazonía ecuatoriana, de aquello surge la necesidad de desarrollar alguno que sea útil para los sistemas locales de producción piscícola (Martínez, 2010). Otro problema que suele presentarse muy a menudo es la falta de sincronía entre la madurez sexual de machos y hembras; por tanto, la obtención de células germinales de uno u otro género contribuye significativamente a la disminución de riesgo de asincronía y mejora las posibilidades de fecundación (Carrillo, 2009); así como otras acciones relacionadas, como procesos de selección genética.

1.2. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de peces como recurso para la obtención de proteína en las dietas de la población ha tenido un crecimiento acelerado a nivel mundial; hoy en día representa casi el 50% de los productos pesqueros mundiales destinados a la alimentación. A esto se suma la necesidad de intercambio de información confiable sobre todos los temas relacionados con la acuicultura en los sistemas locales de producción piscícola, el cual es de suma importancia para el desarrollo progresivo de la misma (FAO, 2017)

Hoy en día se han desarrollado varias técnicas biotecnológicas como es la conservación a corto y largo plazo de semen; mismas que permiten la conservación y el uso de espermatozoides en momentos en que no hay desarrollo reproductivo de estas especies principalmente amazónicas, facilitando el intercambio de material genético entre

productores, así como la utilización eficiente de parentales a través de la disolución seminal (Jiménez, 2016); sin embargo es necesario mejorar dichas tecnologías, adaptarlas a nuestro medio y ponerlas a disposición de los sistemas locales de producción piscícola.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

- Determinar un protocolo viable para la conservación a corto plazo de semen de sábalo mediante la evaluación de cuatro soluciones protectantes como contribución a los sistemas locales de producción piscícola.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Valorar indicadores de calidad (volumen, color, electrolitos, cantidad de espermatozoides, concentración espermática, motilidad masal, motilidad individual y tiempo de activación) del semen de sábalo.
- Evaluar la sobrevivencia diaria de espermatozoides de semen conservado, a través de indicadores de calidad como motilidad masal e individual.
- Comparar cuatro soluciones protectantes para la conservación a corto plazo de semen de sábalo e identificar las más idónea.

CAPITULO II

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. ANTECEDENTES

En las últimas décadas la acuicultura ha tenido un gran auge en su crecimiento con valores que van desde el 7% de producción de carne de pescado para consumo humano en 1974, 26% en 1994, 39% en 2004 y en 2014 se llegó a producir 73.8 millones de toneladas (FAO, 2016).

Ecuador es un país que cuenta con una situación geográfica y condiciones climáticas adecuadas para desarrollar actividades relacionadas con la acuicultura; como son cultivos de camarón, tilapia, cachama, trucha entre los más principales y peces nativos amazónicos como el paiche, bagre, bocachico y sábalo (Poleo, *et al.*, 2015).

El mayor interés del acuicultor que esté desarrollando un programa de reproducción inducida es estimular la ovulación. El desove no necesariamente ocurre de manera espontánea; y en el caso de especies tropicales amazónicas, debido a su característica reofílica (peces que viven y se desarrollan en un medio que experimenta cambios periódicos de luz, temperatura, salinidad, pH, O₂ disuelto, lluvias, disponibilidad de alimentos, principalmente, que influyen de manera determinante en la maduración de las gónadas) muchas veces se requiere de inducción hormonal y extracción manual de los huevos del pez (Landines, 1995); y en efecto este procedimiento es aconsejable si se ha de lograr un control total de la fecundación. Sin embargo, para ello hay que asegurar ante todo una madurez completa, normalmente mediada por la gonadotropina pituitaria (Carrillo, 2009).

2.2. EL SÁBALO (*Brycon amazonicus*)

Clasificación taxonómica del Sábalo (*Brycon amazonicus*).

Clase: Actinopterygii
Orden: Characiformes
Familia: Characidae
Subfamilia: Bryconinae

Género: *Brycon*

Especie: *Brycon amazonicus*

2.2.1. DESCRIPCIÓN

El sábalo es una especie tropical que se encuentra en la mayoría de las cuencas amazónicas ecuatorianas y de América del sur, tiene un hábito alimenticio omnívoro (se alimenta de plantas, frutos, flores, peces pequeños, piensos, etc.), su crecimiento es muy rápido, sea en condiciones naturales o en cautiverio y se adapta fácilmente a condiciones extrañas a su naturaleza. Sin embargo, su característica reofílica restringe su producción para consumo o investigaciones (Landines, 1995).

2.3. BASES TEÓRICAS

2.3.1. REPRODUCCIÓN DE PECES TROPICALES

La mayoría de las especies de peces tropicales de agua dulce, de interés comercial, son reofílicas y, por lo tanto, precisan migrar para poder reproducirse. La migración, generalmente, está asociada a los periodos de lluvias y a temperaturas elevadas. En condiciones de confinamiento estas especies no liberan sus ovocitos ni el semen, en razón de no recibir los estímulos desencadenadores del proceso reproductivo, a pesar de que estos peces muestren las gónadas desarrolladas Andrade, (1997) citado por, (Reinaylte, *et al.*, 2002).

Los peces nativos de la Cuenca Amazónica que se cultivan en América Latina, como la "gamitana" (*Colossoma macropomum*), el "paco" (*Piaractus brachypomus*), el "bocachico" (*Prochilodus nigricans*), el "sábalo" (*Brycon amazonicus*), entre otros, son reofílicos. Se desarrollan en los ambientes acuáticos laterales a los grandes ríos y cuando alcanzan su estado adulto y su madurez sexual, migran al río formando cardúmenes para desovar. La reproducción se produce cuando las aguas comienzan a subir y el ambiente acuático se expande. Por lo tanto, estos peces viven y se desarrollan en un medio que experimenta cambios periódicos de luz, temperatura, salinidad, pH, oxígeno disuelto, lluvias, disponibilidad de alimentos, principalmente, que influyen de manera determinante en la maduración gonadal y en el éxito de la reproducción. Para reproducirse, los peces necesariamente deben migrar a lo largo de los grandes ríos, por decenas de kilómetros, de

otro modo sus gónadas se reabsorben. Por esta razón, no se reproducen espontáneamente en ambiente controlado, requiriendo de la administración de extractos hormonales, para inducir la ovulación y el desove (Cruz, Velasco y Medina, 2008).

2.3.2. FISIOLOGÍA DE LOS ESPERMATOZOIDES DE PECES

2.3.2.1. GAMETOGÉNESIS

En peces óseos (teleósteos) se pueden observar dos tipos de espermatogénesis: una de tipo cístico en la cual el proceso se lleva a cabo completamente dentro de lóbulos, y una de tipo semicístico, en la cual el desarrollo ocurre parcialmente fuera del lóbulo. Dentro de los testículos de los Charácidos, que es el grupo al que pertenecen los sábalos y son los peces tropicales con mayor aptitud de cultivo, se pueden identificar: espermatogonias, espermatocitos, espermátides y espermatozoides. Durante la espermatocitogénesis, la espermatogonia se divide consecutivamente, reduce el diámetro del núcleo y culmina con la formación de células haploides llamadas espermátides, las cuales son liberadas a la luz de los túbulos seminíferos donde se lleva a cabo la espermiogénesis originando los espermatozoides (Tabares, Tarazona y Olivera, 2005).

2.3.2.2. MORFOLOGÍA

El espermatozoide de los peces con fertilización externa, tiene una estructura simple de tipo primitivo, la cabeza mide entre 2-4 micras y es casi esférica con un collar que forma la pieza media donde se encuentran los centriolos y entre 2-9 mitocondrias, el flagelo por lo general está constituido por el axonema en arreglo de nueve pares de microtúbulos periféricos y un par central, sin embargo, algunos grupos taxonómicos como los anguiliformes y elopiformes presentan solamente los nueve pares periféricos (Tabares, Tarazona y Olivera, 2005). Cabe mencionar que los espermatozoides de los peces presentan adaptaciones muy específicas a su ambiente.

2.3.2.3. MOVILIDAD ESPERMÁTICA

Los espermatozoides de peces son inmóviles en las gónadas del macho y durante el pasaje a través del conducto espermático cuyo fluido (plasma seminal) es de pH básico y rico en

bicarbonato (HCO_3^-) maduran y adquieren capacidad de activación, permaneciendo así hasta ser liberados al medio acuoso (Tabares, Tarazona y Olivera, 2005). En general presentan un fenómeno de activación osmótica y dependiendo de su adaptación a diversos tipos de salinidad, esta puede ser con soluciones hipertónicas, en el caso de peces marinos e hipotónicas en el caso de peces de agua dulce. La movilidad de estos es inducida a partir del contacto con su medio acuático exterior, donde deben responder a condiciones fisicoquímicas como: cambios en la presión osmótica, balance iónico y pH; evento que genera el encuentro con los ovocitos para la fecundación; en este proceso se genera un gasto de energía (ATP), brindado por la concentración interior de azúcares (Carrillo, 2009)

2.3.4. CONSERVACIÓN DEL SEMEN A CORTO Y LARGO PLAZO

La práctica en la conservación de gametos se basa en la criopreservación de semen, conservación a corto plazo de semen y ovocitos y resfriamiento de embriones. La criopreservación consiste en el congelamiento del semen en nitrógeno líquido para mantener su calidad por un periodo indeterminado. La conservación de gametos a corto plazo consiste en la exposición de semen y/o ovocitos a temperaturas próximas a cero durante horas o días. Puede ser realizada en condiciones de asincronismo de los reproductores durante el proceso de ovulación, cuando se realiza la desova inducida (Muñoz, 2011).

La conservación a corto plazo, es la disponibilidad rápida de semen, cuya conservación es realizada como máximo en 15 días, para procesos de optimización, intercambio y/o venta de viales con espermatozoides de calidad. El criobanco de semen a corto plazo es el depósito, congelado y almacenamiento de esperma en un banco de esperma durante menos de un año. Luego el esperma del criobanco se utiliza en inseminación artificial, fertilización in vitro (FIV) y otros procedimientos para tratamientos de fertilidad (Bank, 2018). La conservación a largo plazo, sin embargo, es un método caro, con costos de manutención elevados.

2.3.5. PROTOCOLOS DE CONSERVACIÓN DE SEMEN EN PECES

El procedimiento para la crioconservación de semen de peces en términos generales no varía mucho entre las diferentes especies. De acuerdo a la velocidad de congelamiento y descongelamiento podemos clasificarlos en: protocolos de congelación lenta-descongelación lenta; congelación lenta-descongelación rápida; en las cuales la adición del crioprotector suele hacerse por pasos y el descenso de la temperatura se realiza lentamente en un congelador programable. La descongelación rápida se hace rápidamente a temperatura ambiente o en un baño de agua a 30°C para evitar la recrystalización (Ávila *et al.*, 2006).

2.3.6. ELEMENTOS DE LA CONSERVACIÓN SEMINAL

Los procesos de conservación incluyen una serie de variables durante su ejecución, involucrando aspectos como la dilución del semen con diluyentes apropiados, concentración de las sustancias crioprotectoras, periodo de equilibrio, tasas de congelación, volúmenes de empaque, tiempos de descongelación y evaluación de la dosis seminale.

2.3.6.1. DILUYENTES

Los diluyentes son soluciones que tienen como función proteger la integridad del espermatozoide ante la acción tóxica de los productos generados por su propio metabolismo durante el proceso de crioconservación, así como los cambios bruscos de temperatura y el aumento en el volumen seminal, los cuales se han generado con ciertas características en su composición, como son, la no presencia de sustancias tóxicas, simulación con la composición y osmolaridad seminal de cada especie, capacidad amortiguadora para proteger a los espermatozoides de las variaciones de pH, poseer sustancias que favorezcan la anaerobiosis, tales como citratos, fosfatos, glucosa, fructosa yema de huevo y leche, o diluyentes a base de fructosa y la utilización de dimetil sulfóxido DMSO al 10 % (Ramírez, Medina y Cruz, 2010).

2.3.6.2. CRIOPROTECTORES

Los crioprotectores permiten mantener la viabilidad celular durante un periodo determinado, previniendo el daño celular durante el proceso de congelación y descongelación, con características tales como: solubles en soluciones acuosas de electrolitos, atravesar las membranas celulares y no ser tóxicos a altas concentraciones.

Estos se dividen en dos grupos de acuerdo a su permeabilidad en la membrana: i) sustancias de bajo peso molecular como el glicerol, metanol, etilenglicol, butanediol, acetamida y el DMSO; ii) y sustancias de alto peso molecular, que no penetran la membrana celular como el polivinil alcohol (PVA), hialuronato de sodio y la albumina (Ramírez, Medina y Cruz, 2010).

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. LOCALIZACIÓN

La ejecución del proyecto se llevó a cabo en el Programa de Recursos Acuáticos del Centro de Investigación, Posgrado y Conservación Amazónica CIPCA, ubicado en la Región Amazónica Ecuatoriana, localizada entre las provincias de Pastaza y Napo, catones Santa Clara y Arosemena Tola; a cuarenta y cinco minutos de la ciudad del Puyo; vía Puyo – Tena Km. 44, junto a la desembocadura de los ríos Piatúa y Anzu (CIPCA, 2018); a una altura de 440msnm. La temperatura oscila alrededor de los 24°C, pluviosidad de 4000mm anuales y humedad relativa entre el 80% (INAMHI, 2017). Los estanques donde se encuentran las especies son de tierra, con alimentación constante de agua y una tasa de renovación de agua de aproximadamente 20% diario.

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La investigación fue de tipo descriptiva, en la cual se determinó las principales características de producción de semen de sábalo.

3.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Debido al cese de la temporalidad reproductiva de *Brycon amazonicus* se utilizaron los datos de un muestreo realizado durante el pico reproductivo entre los meses de diciembre a marzo en el proyecto: “Adaptación a la reproducción al cautiverio de peces nativos”.

Los factores de estudio fueron cuatro soluciones protectantes de diferente composición:

- Tratamiento 1, solución protectante Kurokura (T1)
- Tratamiento 2, solución protectante Chapman (T2)
- Tratamiento 3, solución protectante de Agua de coco envasada (T3)
- Tratamiento 3, solución protectante de Agua de coco natural (T4)

3.4. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

3.4.1. SELECCIÓN DE EJEMPLARES

Para la obtención del semen se seleccionaron individuos masculinos con madurez sexual y con edad registrada de 38 meses. Los animales fueron revisados periódicamente con el fin de identificar aquellos que presenten semen en la papila urogenital después de un suave masaje abdominal en sentido cráneo-caudal (Cruz, Medina y Velasco, 2006). Debido a que el presente proyecto se inició al final del pico reproductivo de esta especie, se realizaron muestreos de producción de esperma, para determinar el estado reproductivo de los ejemplares de sábalo que se utilizarían durante el experimento. Finalmente se seleccionaron tres ejemplares con mejores características para el experimento y se registró peso, longitud y alguna observación particular sobre los mismos como el apareamiento de espícula lateral.

3.4.2. EXTRACCIÓN DEL SEMEN

La recolección del esperma fue mediante un ligero masaje y presión sobre el abdomen del pez, descartando presencia de contaminantes (Llasaca, *et al.*, 2014), actividad que se realizó sobre los tres ejemplares seleccionados. El semen fue colectado directamente en tubos Falcon de 50ml estériles y secos, evitando cualquier tipo de contaminantes en el semen tales como: sangre, bilis, orina, heces o agua para evitar que este se active (Cruz, Medina y Velasco, 2006).

3.4.3. EXTRACCIÓN DEL SEMEN EN EL PICO REPRODUCTIVO

El pico reproductivo de *Brycon amazonicus* está comprendido entre los meses de diciembre a marzo, y durante este período de tiempo se realizaron cuatro jornadas de inducción hormonal, dos el año 2017 y dos el 2018 como actividades comprendidas dentro del proyecto: “Adaptación a la reproducción al cautiverio de peces nativos” en el CIPCA.

3.4.4. EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

La evaluación macroscópica se refiere a las características que se pueden observar o medir a simple vista. De las muestras obtenidas se registró el volumen total eyaculado de cada pez, así como el color y consistencia de las mismas.

3.4.5. CONSERVACIÓN EN SOLUCIONES PROTECTANTES

Debido a la estacionalidad de la reproducción de esta especie, se realizó a manera de sondeo la conservación a corto plazo de semen de las colectas efectuadas. Este experimento se realizó en cuatro soluciones protectantes compuestas por: i) Solución Kurokura (Carrillo, 2010); ii) Solución Chapman; iii) Agua de coco envasada; y, iv) Agua de coco natural; descritas anteriormente.

De cada muestra obtenida se tomó 2,5ml de semen y se mezcló con 10ml de cada solución extendedora previamente elaborada, la misma que posteriormente fue distribuida en tubos eppendorf (100µl de la mezcla en cada uno) y se almacenó en refrigeración a 4°C. este procedimiento se realizó con las cuatro soluciones; mismas que fueron debidamente almacenadas e identificadas para su posterior evaluación.

3.4.6. ESPERMATOCRITO

El espermatocrito es un procedimiento alternativo para medir la concentración espermática, el cual ha sido utilizado por varios autores en peces quienes han reportado relaciones positivas y estadísticamente significativas (Cruz, Velasco y Medina, 2006). Para el efecto se tomó una muestra de semen de cada pez en tubos microcapilares y por medio de centrifugación a una fuerza de 1200rpm se estableció la concentración espermática.

3.4.7. PRUEBA DE ELECTROLITOS

La prueba de electrolitos nos permite conocer la concentración de potasio (K^+), sodio (Na^+), cloro (Cl^-) y calcio (Ca^{2+}) presentes en el semen obtenido. Esta se realizará en el equipo analizador de electrólitos a disposición del CIPCA; complementando este análisis con el pH de la muestra.

3.4.8. EVALUACIÓN MICROSCÓPICA

3.4.8.1. EVALUACIÓN DE MOTILIDAD MASAL

La movilidad masal se evaluó de forma subjetiva y es expresada en porcentaje (%), para este propósito se activa una alícuota de semen (20 μ l), colocada en una lámina excavada bajo microscopio óptico con 180 μ l de agua destilada. Posterior a la activación espermática, se determinó el tiempo de activación, hasta la inmovilidad del 90% de los espermatozoides y es expresada en segundos (Ramírez, Medina y Cruz, 2011).

3.4.8.2. EVALUACIÓN DE MOTILIDAD INDIVIDUAL

La motilidad individual debe ser realizada con un microscopio óptico con un aumento de 400X, ahí se observan los espermatozoides que se mueven. El porcentaje se obtiene de los espermatozoides con movimiento sobre el total de los espermatozoides observados en la placa, Curbelo y Rodríguez (2013) citados por (Gutiérrez, 2017). Debido a que hay pocos trabajos de referencia en peces se esperaba hacer ajustes en esta técnica para determinación de cualquier tipo de movimiento y realizar un análisis complementación de morfología con pruebas de tinciones.

3.4.8.3. CONTEO DE ESPERMATOZOIDEOS EN CÁMARA NEUBAUER

Para el conteo de espermatozoides se realizó una dilución con 990 μ l de suero fisiológico y 10 μ l de solución fijada, misma que fue homogeneizada con centrifuga a 2200 rpm por 25 segundos posteriormente se procedió a cargar por capilaridad una cámara de Neubauer de 0,1mm dejando reposar durante 5 minutos. Una vez transcurrido este tiempo, bajo un Microscopio Óptico, se procedió a la visualización de los espermatozoides realizando el conteo en 5 cuadrantes de la cámara (Bustamante, *et al.*, 2010), el cual sirvió para el cálculo del total de espermatozoides del semen obtenido; usando las ecuaciones recomendadas para este propósito.

$N \times 10.000 \times 5 \times 10 =$ total de espermatozoides por mililitro.

$N =$ total de espermatozoides contados en los 5 cuadraditos pequeños.

10.000= corrección para llegar al mililitro.

5= corrección para considerar los espermatozoides en 25 cuadraditos.

10 = factor de dilución.

3.4.9. EVALUACIÓN DIARIA

Se realizó una prueba diaria de motilidad masal e individual de las muestras almacenadas para verificar si el semen se está conservando, misma que nos permitió determinar cuántos días se puede conservar el semen con una viabilidad aceptable de fertilidad.

3.4.10. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PROTECTANTES

Las soluciones fueron preparadas y almacenadas en refrigeración previo a la recolección del semen, lo cual permitió realizar una conservación inmediata del mismo.

Solución protectante Kurokura

Para la preparación de la solución Kurokura se utilizó: 180mMol NaCl; 2,68mMol KCl; 1,36mMol CaCl₂ dihidratado; 2,38mMol de NaHCO₃; que fueron disueltos con agua destilada, en un balón de aforo con capacidad de 1000 mililitros.

Solución protectante Chapman

Para la preparación de la solución Chapman se utilizó: Cloruro de potasio 0,20g; Cloruro de calcio 0,05g; Sulfato de Magnesio 0,05g; Bicarbonato de sodio 0,5g; Cloruro de sodio 1g; Fosfato de sodio, monobásico 0,15g; Fosfato de sodio, dibásico 0,15g; Glucosa 9g; o Glucosa con sucrosa 17,2g, mismos que fueron depositados en un balón de aforo con capacidad de 1000 mililitros y se completó con agua destilada hasta completar los 1000 mililitros de solución. Para obtener una solución homogénea se debe disolver completamente.

Solución protectante de agua de coco envasada

Se utilizó agua coco de envasada que se expende en los comercios locales.

Solución protectante a base de agua de coco natural

El agua de coco se obtuvo directamente del fruto de coco.

3.4.11. INDUCCIÓN HORMONAL

Dado que el pico reproductivo de *Brycon amazonicus* había finalizado, se realizó una inducción hormonal, con un tratamiento de 2,2mg de EPC (Extracto de Pituitaria de Carpa – Argent ®) por kilogramo de peso vivo, con captura de los animales y registro de la producción seminal a las 12 horas posteriores al tratamiento.

3.5. ANÁLISIS DE DATOS

Se realizó un análisis de las características de producción (volumen, color, electrolitos, cantidad de espermatozoides, concentración espermática, motilidad y tiempo de activación) de semen de sábalo. Para la determinación de la viabilidad de los espermatozoides se realizó una curva de regresión entre la sobrevivencia y tiempo de conservación de cada una de las muestras bajo los diferentes tratamientos. La curva de regresión y cálculos de desviación estándar se realizaron en el programa Excel versión 16.0.930.2087, año 2016.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS

4.1. VIABILIDAD REPRODUCTIVA DE EJEMPLARES SÁBALO (*B. amazonicus*)

En las observaciones realizadas a los ejemplares durante el mes de abril, con el fin de determinar la viabilidad reproductiva de los mismos y seleccionar los más aptos para el experimento, un 28% de los machos tuvo producción seminal, mientras que el 5% de las hembras se encontraban en el proceso de reabsorción de ovas, así, es evidente un proceso de asincronía reproductiva.

Cuadro 1. Determinación de viabilidad reproductiva en ejemplares sábalo (*B. amazonicus*) durante el mes de abril.

Sexo	N total	Individuos Viabiles	Peso promedio (Kg)	Estado reproductivo
Machos	38	11	2,8 ± 0,8	Producción espermiática
Hembras	39	2	2,64 ± 1,1	Reabsorción

4.2. PRODUCCIÓN ESPERMÁTICA EN EL PICO REPRODUCTIVO

En el pico reproductivo de *Brycon amazonicus*, que está comprendido entre los meses de diciembre a marzo, se observó una variación en los volúmenes de producción espermiática, mismos que están expuestos en el Cuadro 2; esta diferencia se atribuye al tipo de manejo realizado, puesto que se realizaron mejores prácticas de manipulación a los individuos que se les aplicó el tratamiento de inducción hormonal, así se ve el incremento de los volúmenes espermiáticos en los lotes C y D, a los que se los manipuló en constante contacto con el agua a través de bolsas plásticas (manipulación indirecta). Cabe mencionar que esta inducción fue realizada durante el pico reproductivo natural de la especie.

Cuadro 2. Producción espermática de machos de sábalo (*B. amazonicus*) en el pico reproductivo.

Inducción hormonal				
	A	B	C	D
Tipo de manipulación	directa	directa	indirecta	indirecta
Machos (N)	2	2	2	9
Edad promedio (meses)	46	46	58	58
Peso Promedio (kg)	2,8 ±0,7	2,75 ±0,5	3,25 ±0,5	2,54 ±0,61
Prod. Esperma (ml)	2,4	2,6±0,9	1,8	3,06 ±2,53

4.2.2. PRODUCCIÓN ESPERMÁTICA MEDIANTE INDUCCIÓN HORMONAL

Mediante inducción hormonal, con un tratamiento de 2,2mg de EPC (Extracto de Pituitaria de Carpa – Argent ®) por kilogramo de peso vivo, la producción espermática fue casi nula; en la Cuadro 3 se muestran los volúmenes obtenidos de cada individuo al que se le aplicó el tratamiento.

Cuadro 3. Producción espermática en machos sábalo (*B. amazonicus*) mediante inducción hormonal.

Ejemplar	Longitud (cm)	Peso (kg)	Prod. Esperm. (ml)
A	55	3,8	0
B	48	2,5	0
C	45	2,2	0,2

Como se puede evidenciar solamente un individuo tuvo una producción de 0,2ml de semen, mismo que fue muy pequeño para la evaluación de sus características y la conservación en soluciones protectantes.

4.2.3. CONSERVACIÓN DE ESPERMATOZOIDES

En la conservación a corto plazo de semen realizada en cuatro las soluciones protectantes sólo se pudo observar sobrevivencia espermática en el “Agua de coco natural” hasta por 24 horas, según se muestra en la Cuadro 4.

Cuadro 4. Supervivencia de espermatozoides de sábalo (*B. amazonicus*) en cuatro soluciones protectantes.

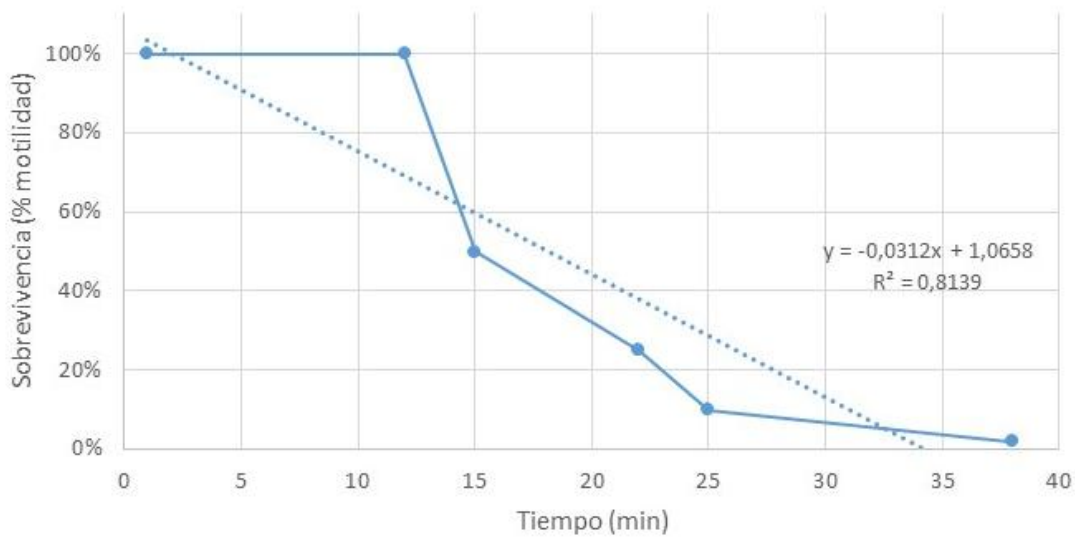
Solución protectante	Supervivencia a las 24 horas (%)
Solución Kurokura	0
Solución Chapman	0
Agua de coco envasada	0
Agua de coco natural	5

También se observa, que la solución protectante a base de agua de coco natural brinda mayor protección a los espermatozoides, alcanzando un 5% de supervivencia a las 24 horas post-conservación. Mientras que las soluciones protectantes Kurokura, Chapman y Agua de coco envasada a las mismas 24 horas no presentaron supervivencia de espermatozoides.

4.4. ANÁLISIS DE ESPERMATOZOIDEOS

La curva supervivencia de los espermatozoides se ve reflejada en el Grafico 1, donde se observa que hasta los 12 minutos hay un 100% de supervivencia y esta decae drásticamente al punto de muerte al llegar al minuto 38. Esto indica que para realizar fertilizaciones se deberían realizar durante la etapa de meseta de actividad, que es antes de los 15 minutos, con el objetivo de tener un mayor porcentaje de ovas fertilizadas.

Gráfico 1. Supervivencia de espermatozoides de *B. amazonicus* post activación con agua.



Además, en la evaluación microscópica se visualizó la estructura de los espermatozoides y sus diferentes partes, como son: cabeza, pieza media y cola. Estos detalles se muestran en la Fotografía 1.



Fotografía 1. Esperma de *B. amazonicus*
Nota: h, cabeza; mp, pieza media; t, cola

CAPITULO V

5. DISCUSIÓN

Debido a la estacionalidad reproductiva, asincronía en la maduración de gametos masculinos y femeninos y la muy baja o nula producción espermática fuera del pico reproductivo (Cruz, Medina y Velasco, 2006), se observa que la producción espermática para *Brycon amazonicus* con las condiciones ambientales de esta región, está comprendida entre los meses de diciembre a marzo, con volúmenes de semen que oscilan entre 1,8 y 5,6ml registrados, en muestreos realizados en los años 2017 y 2018 mediante inducción hormonal con EPC.

La producción espermática en los meses abril y mayo fue prácticamente nula con un solo individuo que llevo a producir 0,2ml de semen bajo tratamiento hormonal con EPC, esto a pesar de que en el muestreo inicial para la determinación de la viabilidad reproductiva de los ejemplares un 28% mostró presencia de semen en la papila urogenital; indicando una rápida absorción espermática en la fisiología reproductiva de los animales. Se muestra así, una gran diferencia en comparación con los resultados reportados por Suárez *et al.* (2014) y Jiménez (2016) que concordaron con una producción de semen que oscilo entre 5 y 9,5ml y Cruz *et al.* (2006), con un promedio de $10,6 \pm 0,6$ ml de semen; estas grandes diferencias de volúmenes se pueden deber a pérdidas ocasionadas durante la manipulación y temas de manejo alimentario.

Al considerar una especie de referencia con producción seminal muy frecuente como la tilapia (*Oreochromis* spp.), bajo similares condiciones ambientales y del agua y sin inducción hormonal se obtuvo resultados entre 1,5 y 2.5ml de semen. Esto demuestra la estacionalidad reproductiva de *Brycon amazonicus*, que no concuerda con Cruz *et al.* (2006), quien manifiesta que en Villavicencio (Colombia), la etapa reproductiva está comprendida entre los meses de marzo a mayo; aunque hay otros reportes como los de Arias (2006), quien señala que la maduración de gónadas para esta especie está en los meses abril y mayo; en este sentido es evidente un desplazamiento de la temporalidad reproductiva en las condiciones de cautividad de la Amazonía centro ecuatoriana; y por ende esto puede dificultar el manejo genético de la especie; por lo que este tema de

investigación de conservación de gametos a largo y corto plazo resalta de mayor importancia.

CAPITULO VI

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. CONCLUSIONES

En el mes de abril un 28% de los machos mostró producción seminal, mientras que el 5% de las hembras se encontraban en el proceso de reabsorción de ovas, así, es evidente un proceso de asincronía reproductiva entre los dos sexos.

La producción espermática de *Brycon amazonicus* ocurre en los meses de diciembre a marzo, ya sea para conservación como para reproducción inmediata; mientras que a partir del mes de mayo no fue posible obtener semen de esta especie, tanto de forma natural, como bajo inducción hormonal.

El agua de coco natural indica ser la más adecuada para la conservación de semen de *Brycon amazonicus*.

6.2. RECOMENDACIONES

Los procesos de fertilización se deben hacer lo más rápido posible debido a que la capacidad de los espermatozoides; que, luego de la activación con agua solo muestran una ventana de tiempo de 15 minutos con una sobrevivencia alta.

Realizar estudios posteriores con un mayor número de ejemplares, durante el pico de producción espermática en machos y la frecuencia de sincronía de desoves de hembras, con el fin de determinar las razones de la temporalidad de la época de producción de gametos masculinos y femeninos, así como los volúmenes y calidad de los mismos.

Continuar con investigaciones durante la época reproductiva de *Brycon amazonicus* sobre la conservación a corto y largo plazo de espermatozoides, en la cual se evalúe las diferentes soluciones protectantes y se determine cuál es la más adecuada para esta región.

CAPITULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

Arias, J. (2006). Estado actual del conocimiento sobre el yamú, *Brycon amazonicus*. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 19(2), 125-133.

Ávila, L.; Madero, J.; López, C.; León, F.; Acosta, L.; Gómez, C.; Delgado, L.; Gómez, C.; Lozano, J.; Reguero, M. (2006). Fundamentos de criopreservación. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología, 57(4), 291-300.

Bank, S. (2018). Criopreservación de esperma. Obtenido de Banco de esperma Centro de Fertilidad de California: <https://www.spermbankcalifornia.com/criopreservacion-de-esperma.html>

Bustamante, G.; Rodríguez, G.; Cortés, G; González, R. (2010). Producción de semen y concentración de espermatozoides en machos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mikiss*) de uno y cuatro años de edad. Coyoacán: Universidad Autónoma Metropolitana.

Carrillo, M. (2009). La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en la acuicultura. (J. E. Monteros, Ed.) Madrid: Fundación Observatorio Español de la Acuicultura.

CIPCA. (2018). Centro de Investigación, Conservación y Postgrado para la Conservación Amazónica. Puyo. Obtenido de <https://www.uea.edu.ec/cipca>.

Cruz, P.; Medina, V.; Velasco, Y. (2006). Evaluación de diferentes crioprotectores para la crioconservación de espermatozoides de yamú (*Brycon amazonicus*). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 19(2), 151-159.

Cruz, P.; Medina, V.; Velasco, Y. (2006). Protocolo para la crioconservación de semen de yamú (*Brycon amazonicus* Spix & Agassiz 1829). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 19(2), 146-151.

Cruz, P.; Velasco, Y.; Medina, V. (2006). Determinación del espermatozocito y efecto del volumen de la dosis semillante sobre la fertilidad en yamú (*Brycon amazonicus*). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 19(2), 140-145.

FAO. (2011). Orientaciones técnicas para la pesca responsable. (5ed; vol. 4). Italia. Recuperado el 29 de marzo de 2018, de <http://www.fao.org/docrep/014/i1750s/i1750s.pdf>

FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y acuicultura. Recuperado el 19 de abril de 2018, de <http://www.fao.org/3/a-i5798s.pdf>.

FAO. (2017). Acuaculture topics and activities. Acuicultura. Roma. Recuperado el 29 de marzo de 2018, de <http://www.fao.org/fishery/acuaculture/es>

Gutiérrez, J. (2017). Evaluación pre y post congelación de semen obtenido con vagina artificial y electroeyaculador en ganado criollo. Tesis de grado. Repositorio Digital de la Universidad de Cuenca. Cuenca. Recuperado el 03 de abril de 2018, de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/26940>

Harvey, B.; Hoar, W. (1980) Teoría y práctica de la reproducción inducida en los peces. Bogotá: Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo.

INAMHI. (2017). Instituto Nacional de Meteorología. Recuperado el 02 de abril del 2018, de <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/red-de-estaciones-meteorologicas/>

Jiménez, W. (2016). Evaluación de calidad seminal en yamú (*Brycon amazonicus*): relación con viabilidad postdescongelación. Fusagasugá: UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA.

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

Llasaca, E.; Napuchi, J.; Verdi, L.; Núñez, J. (2014). Tiempo de latencia para semen colectado de *Colossoma macropomum* "Gaminata" en solución sacarosa. Ciencia Amazónica, 4(2), 138-142.

Martínez, J. (2010). Efecto de la concentración de DMSO y Glucosa sobre la calidad espermática y el material genético de semen crioconservado de bocachico (*Prochilodus magdalenae*). Medellín: Universidad Nacional de Colombia.

Muñoz, M. (2011). Biotecnología aplicada a la reproducción de peces. Universidad Nacional de Colombia, 66-72.

Poleo, G.; Caicedo, F.; Poleiros, C.; Castro, F. (2015). Foro de Acuicultura de Imbabura. Universidad Técnica del Norte. Recuperado el 30 de abril de 2018, de http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/4980/2/Anexo%202._%20Memorias.pdf

Ramírez, J.; Medina, V.; Cruz, P. (2010). Crioconservación espermática en peces, un acercamiento en siruliformes. Recuperado el 03 de abril de 2018, de Orinoquia: <http://orinoquia.unillanos.edu.co/index.php/orinoquia/article/view/128/582>

Ramírez, J.; Medina, V.; Cruz, P. (2011). Variación estacional de las características seminales del bagre rayado *Pseudoplatystoma metaense* (*Telostei Pimelodidae*). Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia CÓRDOVA, 16(1), 2336-2348. Recuperado el 02 de abril de 2018 de <http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v16n1/v16n1a09.pdf>

Reinaylte, D.; Esquivel, B.; Esquivel, J.; Zaniboni, E. (2002). Reproducción inducida de Piaucu *Leporinus Macrocephalus*. Bolentim do Instituto da Pesca: Departamento de acuicultura. Sao Paulo. 28(1), 11-18.

Suárez, R.; Jiménez, W.; Sandoval, L.; Bernal, G.; Balderrama, J.; Ramírez, J.; Medina, V.; Cruz, P. (2014). Evaluación de la calidad seminal en yamú (*Brycon amazonicus*): Relación con la viabilidad posdescongelación. Revista Colombiana de Ciencias pecuarias.

Tabares, C; Tarazona, A; Olivera, M. (2005). Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce. Revista Colombiana de Ciencias pecuarias, 18(2), 149-161

Velasco, Y.; Corredor, W.; Cruz, P. (2006). Efectos del sistema de conservación sobre la fertilidad de ovocitos de yamú (*Brycon amazonicus*) durante cortos períodos de almacenamiento. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 19(2), 198.

CAPITULO VIII

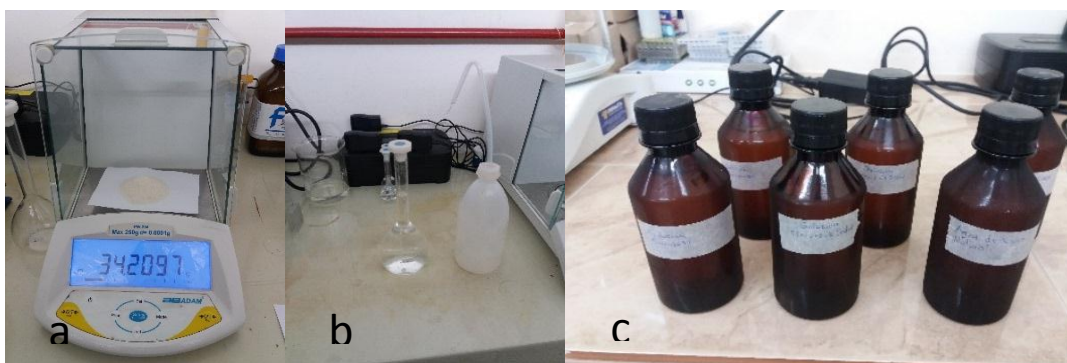
8. ANEXOS

Anexo 1. Manejo de ejemplares



Nota: a. Transporte en fundas plásticas con agua; b. Captura y selección de ejemplares

Anexo 2. Preparación de soluciones protectantes



Nota: a. Pesaje de elementos para soluciones; b. Balón aforado y agua destilada; c. Soluciones protectantes envasadas.

Anexo 3. Análisis de semen en el laboratorio

