



ARTÍCULO ORIGINAL

Ensayos preliminares sobre crioconservación de semen de bagre rayado

(*Pseudoplatystoma fasciatum* Linnaeus, 1766)

Preliminary essays on crioconservation of semen of catfish "lined bagre"

(*Pseudoplatystoma fasciatum* Linnaeus, 1766)

PINZÓN ARCINIEGAS, S. M.¹; MOJICA RODRÍGUEZ, J. E.¹; CRUZ CASALLAS, P. E.²

¹Médicos Veterinarios Zootecnistas; ²Médico Veterinario Zootecnista, MSc, PhD, profesor de Reproducción Animal, Instituto de Acuicultura, Universidad de los Llanos, Villavicencio - Colombia

Recibido en septiembre 5, 2005 – Aprobado en octubre 24, 2005



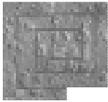
Ejemplar adulto (hembra) de *Pseudoplatystoma fasciatum*

R E S U M E N

El bagre rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) es un silúrido de las cuencas Amazónica y Orinoquense, cuyas poblaciones naturales están disminuyendo paulatinamente debido al disturbio de su hábitat, convirtiéndola en una especie en riesgo de extinción; sin embargo, pocos trabajos de investigación han sido orientados a su conservación, particularmente de sus gametos. Este trabajo pretendió caracterizar el semen de la especie, evaluar la toxicidad del crioprotector dimetil sulfóxido (DMSO) sobre la movilidad espermática y estudiar dos protocolos para su crioconservación. Fueron utilizados 6 machos adultos, inducidos a la espermiación con extracto de hipófisis de carpa. Se registraron las características seminales de 19 muestras de semen obtenidas de seis machos. Alícuotas de 250 mL de semen fueron diluidas en dos diferentes soluciones (solución de Stein y Bayrle y Glucosa - yema de huevo) con 0, 5, 10 o 15% de DMSO (n=5), luego almacenadas bajo refri-

geración y la movilidad monitoreada a las 0, 1, 2, 4, 8, 16, 24, 32, 40 y 48 h. Finalmente, semen diluido (1:4) fue crioconservado en forma de "pellets" o en pajillas de 0.5 mL, utilizando diferentes concentraciones de DMSO como crioprotector (3, 5, 7.5, 10 ó 15 %). El volumen seminal fue de $3,7 \pm 0,3$ mL, de color blanco y de apariencia lechosa; con movilidad de 95% y concentración de 23433×10^6 espermatozoides por mL. Se observó una relación inversa entre la concentración de DMSO y la duración de la movilidad espermática. Únicamente semen diluido en soluciones con 5 y 7,5% de DMSO y empaçado en pajillas mostró movilidad posdescongelación. En conclusión, concentraciones superiores a 10% de DMSO son tóxicas para el espermatozoide de bagre rayado y su protocolo de crioconservación requiere aún de estandarización.

Palabras clave: bagre, crioconservación, *Pseudoplatystoma fasciatum*, semen, dimetil sulfóxido



A B S T R A C T

The "bagre rayado" (*Pseudoplatystoma fasciatum*) is a siluridae of the Amazon and Orinoco basins whose natural population is diminishing gradually, due to disturbance of its habitat, transforming it into a species in extinction risk; however, few investigation works have been guided to their conservation, particularly of their gametes. This work sought to characterize the semen of the species, to evaluate the toxicity of the dimethyl sulfoxide (DMSO) on motility spermatic and to study two protocols for its cryopreservation. Six mature males were used, induced to the espermiation with extract of carp hypofisis. The seminal characteristics of 19 samples were registered and aliquots of 250 μ L were diluted in two different solutions with 0, 5, 10 or 15% of DMSO, then stored low refrigeration and the motility monitored at 0, 1, 2, 4, 8, 16, 24, 32, 40 and 48 h.

Finally, diluted semen (1:4) was cryopreserved in pellets form or in 0,5 mL straws using different concentrations of DMSO like cryoprotector (3, 5, 7.5, 10 o 15 %). The seminal volume was 3.7 ± 0.3 mL, white color and milky appearance; the motility and spermatic concentration were 95% and 23433×10^6 sperms for mL, respectively. An inverse relationship was observed between DMSO concentration and spermatic motility. Only semen diluted in solutions with 5 and 7.5% of DMSO and packed in straws showed motility posthawing. In conclusion, DMSO concentrations above 10% are toxic for the sperm of bagre rayado and their cryopreservation protocol still requires standardization.

Key words: bagre fish, cryopreservation, cryoprotector, dimethyl sulfoxide, *Pseudoplatystoma fasciatum*, sperm

INTRODUCCIÓN

El creciente interés por los peces de cuero, genéricamente conocidos como "bagres", radica no sólo en la gran aceptación comercial de su carne, sino también en su valor comercial como animales de ornato (Rodríguez, 1991). Por esta razón, individuos del género *Pseudoplatystoma* representan un alto porcentaje del total de las capturas de peces de las aguas continentales de Colombia, especialmente en el complejo inundable del río Magdalena y en los afluentes de las cuencas de los ríos Amazonas y Orinoco. Esta circunstancia, sumada a la captura indiscriminada y al disturbio de su hábitat, ha ocasionado que la especie *Pseudoplatystoma fasciatum*, conocida regionalmente como "bagre rayado", esté siendo considerada desde hace más de 10 años en riesgo de extinción (Moreno *et al.*, 1993).

Una forma de contribuir a la conservación de la diversidad e integridad genética de las especies es la estandarización de métodos o protocolos para la crioconservación de sus gametos, lo que permite la creación de bancos genéticos, en los cuales pueden almacenarse desde células germinales hasta embriones. En ese sentido, la tecnología de crioconservación de semen ha evolucionado considerablemente desde el descubrimiento de las propiedades crioprotectoras del glicerol (Polge *et al.*, 1949), permitiendo que semen crioconservado sea utilizado ampliamente para la reproducción asistida de varias especies animales (Fabbrocini *et al.*, 2000). Sin embargo, la crioconservación de semen de peces en Colombia es un campo relativamente nuevo, en el cual todavía no se han logrado los progresos necesarios para su utilización a gran escala y los protocolos existentes sólo son aplicables a un reducido número de especies de interés comercial (Neira *et al.*, 1991; Bernal *et al.*, 1994; Cruz-Casallas *et al.*, 2004).

La crioconservación es una técnica para el almacenamiento de tejidos, células u otros materiales biológicos a muy baja temperatura, a la cual los materiales permanecen genéticamente estables y metabólicamente inertes (Hafez, 1986). Se sabe que el daño a las células espermáticas crioconservadas es inducido por la formación de hielo intracelular, lo cual puede ocurrir tanto durante la congelación como la descongelación (Medina-Robles *et al.*, 2005). La alternativa para minimizar este fenómeno es la adición de sustancias que reemplazan el agua dentro de la célula, conocidas comúnmente como crioprotectores. Amplias revisiones de literatura sobre las sustancias crioprotectoras utilizadas para gametos de peces fueron publicadas por Scott y Baynes (1980) y Leung y Jamieson (1991).

Debido a su rápida penetración al interior de las células y a su relativa baja toxicidad, el dimetil sulfóxido (DMSO) ha sido recomendado como la sustancia crioprotectora de elección para la crioconservación de semen de peces (Leung y Jamieson, 1991). Entre los primeros trabajos reportados utilizando DMSO con semen de bagre está el realizado por Withler (1982), quien lo utilizó en concentraciones que variaron entre 5 y 20% para crioconservar espermatozoides de *catfish*. Sin embargo, los posibles efectos tóxicos del DMSO sobre espermatozoides de bagre rayado, así como experiencias sobre su crioconservación, aún no han sido publicadas.

Los objetivos del presente trabajo fueron observar los efectos de concentraciones crecientes de DMSO sobre la movilidad espermática de bagre rayado y evaluar dos diluyentes y dos sistemas de empaque (pellets o pajillas de 0,5 mL) para su crioconservación.



MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en la estación piscícola del Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos (IALL - UNILLANOS), en la ciudad de Villavicencio, capital del departamento del Meta, localizada a 418 m.s.n.m. El clima se caracteriza por presentar temperatura promedio anual de 25 °C, precipitación pluvial de 4.050 mm y humedad relativa de 75%.

Fueron utilizados 6 machos de bagre rayado, con peso corporal entre 1,0 y 6,0 kg, identificados mediante *microchips* implantados intramuscularmente en la región craneal subyacente a la aleta dorsal. La valoración del estado de madurez sexual se realizó ejerciendo leve presión, en sentido craneo - caudal, sobre la región abdominal y verificando la salida de semen a través de la papila urogenital.

La espermiación se indujo mediante la administración intramuscular de extracto de hipófisis de carpa (EHC, Stoller Fisheries, USA), empleando una dosis total de 5,5 mg.kg⁻¹ de peso corporal, dividida en dos aplicaciones de 1,0 mg.kg⁻¹ y 4,5 mg.kg⁻¹, administradas a las 0 y 12 h de tratamiento, respectivamente. Fueron recolectadas en total 19 muestras de semen, durante el periodo comprendido entre los meses de mayo a junio de 2001

El semen fue extraído ocho horas después de la última inyección y recolectado en tubos de vidrio secos aforados. Inmediatamente después de recolectadas, para cada muestra se registró el volumen, color y su aspecto o apariencia. La concentración espermática se determinó por medio de la cámara de Neubauer, previa dilución de la muestra 1:2000 con solución salina fisiológica y se expresó en millones de espermatozoides (sptz) por mL. La movilidad masal se evaluó subjetivamente en una escala de 0 - 100, con la ayuda de un microscopio óptico (100X), inmediatamente después de la activación espermática con agua destilada o bicarbonato de sodio (NaHCO₃) al 1%. La movilidad masal del semen criopreservado fue evaluada después de la activación con NaHCO₃, únicamente. El tiempo (segundos) de activación fue

registrado mediante cronómetro y fue definido como el tiempo transcurrido entre la adición de la solución activadora (activación de la movilidad espermática) y el cese del movimiento de aproximadamente el 95% de los espermatozoides. Muestras seminales con movilidad masal inferior a 80%, así como aquellas contaminadas con sangre, bilis, orina o materia fecal, no fueron procesadas.

El trabajo comprendió dos experimentos: el primero evaluó los posibles efectos tóxicos del DMSO, adicionado a dos diferentes diluyentes, en concentraciones de 0, 5, 10 y 15 %. El segundo ensayo determinó la congelabilidad del semen de bagre rayado, empacado en forma de pellets o pajillas francesas de 0,5 mL.



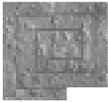
Extracción de semen.

Para el primer experimento, cinco alícuotas de 250 µL de semen, provenientes de cinco diferentes machos, fueron diluidas con 750 µL de una solución de glucosa al 5,5% o de un diluyente propuesto por Stein y Bayrle (1978), cuya composición se presenta en la Tabla 1. Para este experimento se excluyó la yema de huevo, debido a que los glóbulos de grasa dificultan la observación de la movilidad. Las muestras así diluidas fueron almacenadas bajo

condiciones de refrigeración (4 ± 1° C) en nevera convencional y la movilidad masal monitoreada a las 0, 1, 2, 4, 8, 16, 24, 32, 40 y 48 h de almacenamiento.

Para evaluar la movilidad espermática, una gota pequeña de semen (ca. 10 µL) fue colocada en una lámina excavada (1,0 - 1,2 mm de profundidad, Premiere® China) e inmediatamente después activada adicionando 190 µL de agua destilada.

Para el segundo experimento, 10 alícuotas de semen fueron diluidas 1:4 (semen: diluyente) a temperatura ambiente (25 ± 1° C) con el diluyente propuesto por Stein y Bayrle (1978) descrito en la Tabla 1 o con una solución de glucosa (5,5%) - yema de huevo de gallina (20%), adicionados de 3, 5, 7,5, 10 o 15% de DMSO. Las concentraciones de DMSO fueron determinadas con base en las experiencias de Fogli da



Silveira *et al.* (1985). Inmediatamente después se procedió a descender la temperatura hasta 5 °C, conservando una tasa de enfriamiento de 0,5 °C.min⁻¹. Este procedimiento fue realizado colocando los tubos que contenían las muestras en un recipiente con agua y adicionando gradualmente cubos de hielo. La temperatura fue monitoreada con una termocupla digital (WBrand, USA, precisión 0,001 °C). Una vez alcanzada la temperatura de 5 °C, el semen fue congelado en "pellets" o en pajillas francesas de 0,5 mL (Instrument de Médecine Vétérinaire, IMV, Minneapolis, USA). En el primer caso, alícuotas de 50 µL fueron colocadas en una placa de hielo seco, dentro de excavaciones de dos mm de profundidad, previamente preparadas para este propósito. Quince a 20 min después, los "pellets" así formados fueron empacado en recipientes plásticos pequeños (50 mL) y luego trasladados a un termo criogénico de almacenamiento (Taylor-Wharton, HC 35, Theodore, AL, USA). Para la congelación en pajillas, el semen fue aspirado manualmente al interior de las mismas e inmediatamente después éstas fueron congeladas, colocándolas sobre una rampa dispuesta horizontalmente a 4 cm del nivel de nitrógeno líquido contenido en un recipiente de icopor y luego trasladadas a un termo de nitrógeno líquido. La curva de congelación obser-

vada en este procedimiento se muestra en la Figura 1, la cual fue obtenida a partir de tres lecturas consecutivas. Posteriormente fueron almacenadas en el mismo termo criogénico de los pellets.

La movilidad fue evaluada a los 10 días. Para este propósito, pajillas y pellets fueron descongelados en un baño de agua a 35 °C. Para la descongelación de los pellets, éstos fueron previamente colocados en un tubo de reacción (1,5 mL) el cual se colocó en el baño María. Inmediatamente después, una gota pequeña de semen (10 mL) fue activada con 190 mL de NaHCO₃ al 1% y la movilidad y el tiempo de activación determinados como fue descrito anteriormente.

Para el análisis de los resultados de movilidad espermática únicamente fueron incluidos aquellos tratamientos cuyos valores de respuesta fueron diferentes de cero. En todos los casos se aplicaron pruebas estadísticas no paramétricas, es decir, "U" de Mann - Whitney o Kruskal - Wallis, según el caso. Los datos ilustrados corresponden a la media ± error estándar de la media (SEM). Todos los procedimientos se realizaron con el Software INSTAT® versión 2.01 y p<0.05 fue considerado suficiente para revelar diferencias significantes.

RESULTADOS

Las principales características del cuadro espermático, de las 19 muestras de semen recolectadas, se presentan en la Tabla 2.

Los efectos de la concentración de DMSO sobre la movilidad espermática de semen de bagre rayado, diluido en el diluyente de Stein y Bayrle (1978) o en la solución de glucosa, se presentan en las Figuras 2 y 3, respectivamente. Así mismo, los valores de movilidad y las comparaciones estadísticas, se presentan en las Tablas 3 y 4 para los dos diluyentes mencionados. El semen crioconservado en forma de pellets no registró movilidad después de la descongelación. Por su

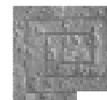
parte, los resultados de movilidad posdescongelación de semen empacado en pajillas francesas se muestra en la Tabla 5.

Como se puede observar en la información de la Tabla 5, únicamente semen diluido con el diluyente propuesto por Stein y Bayrle con 5% de DMSO o con la solución de glucosa - yema de huevo con 7,5% de DMSO, registró movilidad posdescongelación. En estos dos casos, el tiempo de activación fue de 84 ± 2 y 85 ± 2 seg, respectivamente, sin observarse diferencias estadísticas significativas (p>0.05).

Tabla 1. Composición de diluyente propuesto Stein y Bayrle (1978), utilizado para la prueba de toxicidad del dimetil sulfóxido sobre espermatozoides de bagre rayado.

Ingrediente	Cantidad	Ingrediente	Cantidad
NaCl	750 mg	C ₆ H ₁₂ O ₆	100 mg
NaHCO ₃	200 mg	Yema de huevo ^{&}	20 mL
KCl	38 mg	Agua destilada c.s.p.	100 mL

[&] Para las pruebas de toxicidad, la yema de huevo no fue adicionada

**Tabla 2.** Características de muestras seminales (n=19) obtenidas de seis reproductores de bagre rayado.

Característica		Media	SEM	Valor mínimo	Valor máximo
Volumen (ml)		3,7	0,3	2,0	6,0
Color		Blanco	—	—	—
Concentración (sptz/mL)x10 ⁶		23433	1687	13500	33100
Movilidad (%)		95	0.0	95	95
Tiempo de activación (seg)	Agua destilada	57	2	42	80
	NaHCO ₃ 1%	146	7	112	225
Apariencia		Lechosa	—	—	—

SEM = Error estándar de la media

Tabla 3. Efectos de la concentración de DMSO en el diluyente propuesto por Stein y Bayrle (1978) sobre la movilidad espermática de bagre rayado, almacenado bajo condiciones de refrigeración (4°C). Los valores corresponden a la media ± SEM. Dentro de las filas, medias con sobrescritos diferentes, indican diferencias significativas (p<0.05).

Tiempo (h)	Movilidad (%) (n= 5)			
	Control	DMSO 5%	DMSO 10%	DMSO 15%
0	95 ± 0 ^a	92 ± 2 ^a	81 ± 4 ^a	37 ± 3 ^b
1	95 ± 0 ^a	91 ± 2 ^a	52 ± 7 ^b	27 ± 3 ^c
2	95 ± 0 ^a	88 ± 2 ^a	46 ± 6 ^b	21 ± 3 ^c
4	95 ± 0 ^a	87 ± 2 ^a	43 ± 4 ^b	14 ± 2 ^c
8	88 ± 1 ^a	76 ± 4 ^b	36 ± 5 ^c	0
16	81 ± 2 ^a	66 ± 5 ^b	18 ± 4 ^c	0
24	65 ± 5 ^a	51 ± 6 ^b	7 ± 1 ^c	0
32	44 ± 6 ^a	30 ± 3 ^b	0	0
40	40 ± 5 ^a	14 ± 1 ^b	0	0
48	29 ± 5 ^a	6 ± 2 ^b	0	0

Tabla 4. Efectos de la concentración de DMSO sobre la movilidad espermática de bagre rayado, diluido en una solución de 5,5% de glucosa y almacenado bajo condiciones de refrigeración (4°C). Los valores corresponden a la media ± SEM. Dentro de las filas, medias con sobrescritos diferentes, indican diferencias significativas (p<0,05).

Tiempo (h)	Movilidad (%) (n= 5)			
	Control	DMSO 5%	DMSO 10%	DMSO 15%
0	95 0 ^a	94 ± 1 ^a	68 ± 6 ^b	33 ± 9 ^c
1	95 0 ^a	91 ± 2 ^a	57 ± 5 ^b	19 ± 8 ^c
2	95 0 ^a	91 ± 2 ^a	50 ± 5 ^b	9 ± 3 ^c
4	93 1 ^a	90 ± 3 ^a	43 ± 4 ^b	5 ± 2 ^c
8	90 1 ^a	82 ± 3 ^b	31 ± 3 ^c	0
16	74 ± 1 ^a	69 ± 1 ^b	25 ± 2 ^c	0
24	73 ± 1 ^a	66 ± 4 ^a	10 ± 3 ^b	0
32	56 ± 3 ^a	49 ± 5 ^a	0	0
40	43 ± 2 ^a	31 ± 6 ^a	0	0
48	33 ± 3 ^a	21 ± 7 ^a	0	0

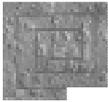


Tabla 5. Movilidad posdescongelación de semen de bagre rayado, diluido con el diluyente propuesto por Stein y Bayrle (1978) o con una solución de glucosa - yema de huevo, conteniendo diferentes concentraciones de DMSO, empacado en pajillas francesas de 0,5 mL. La congelación fue realizada en vapores de nitrógeno.

Diluyente	Crioprotector y concentración	Movilidad (%)
Glucosa -yema de huevo	DMSO 3%	0
	DMSO 5%	0
	DMSO 7,5%	35 ± 1 ^a
	DMSO 10%	0
	DMSO 15%	0
Diluyente de Stein y Bayrle	DMSO 3%	0
	DMSO 5%	31 ± 1 ^a
	DMSO 7,5%	0
	DMSO 10%	0
	DMSO 15%	0

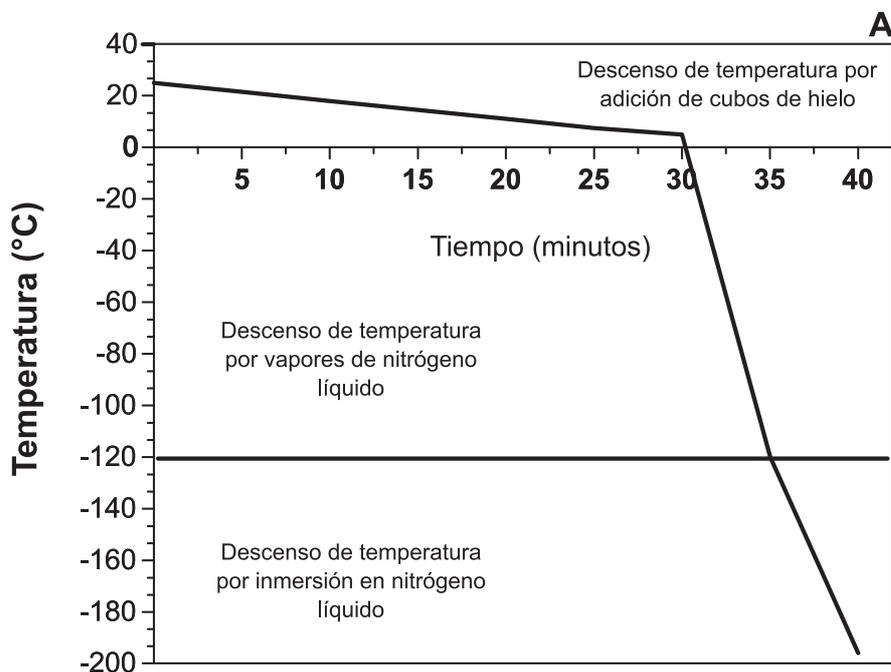


Figura 1. Curva de descenso de temperatura durante la crioconservación de semen de bagre rayado.

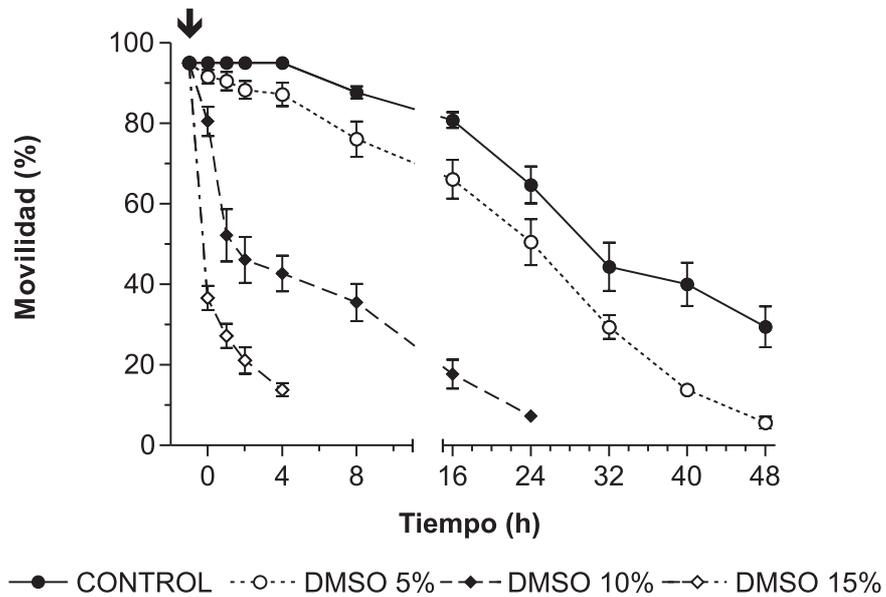
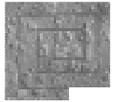


Figura 2. Efectos de la concentración de DMSO en el diluyente propuesto por Stein y Bayrle (1978) sobre la movilidad espermática de bagre rayado, almacenado bajo condiciones de refrigeración (4°C). Los puntos corresponden a la media \pm SEM (n= 5). La flecha señala la movilidad del semen fresco, determinada inmediatamente antes de la dilución del semen.

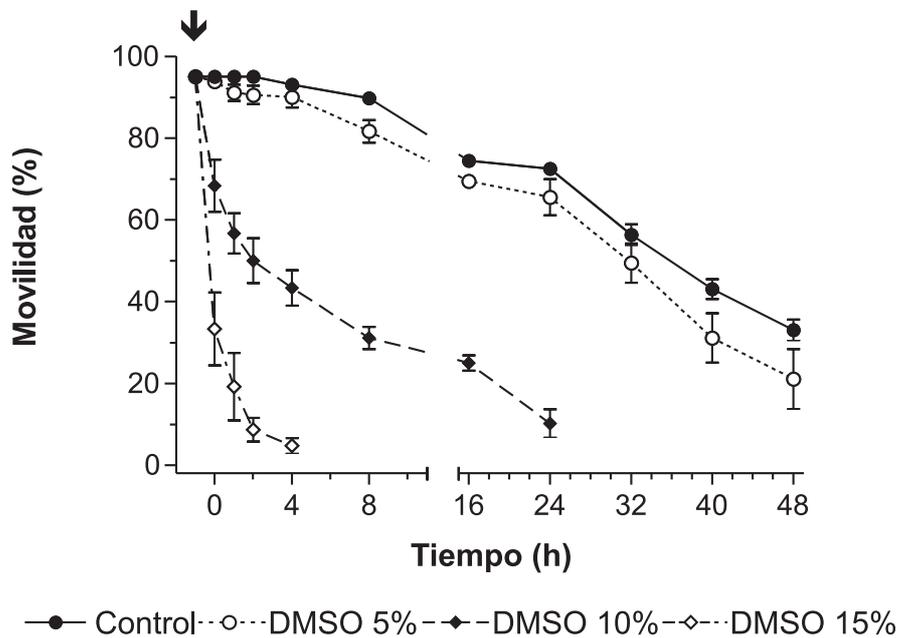
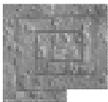


Figura 3. Efectos de la concentración de DMSO sobre la movilidad espermática del bagre rayado, diluido en una solución de glucosa al 5,5% y almacenado bajo condiciones de refrigeración (4°C). Los puntos corresponden a la media \pm SEM (n= 5). La flecha señala la movilidad del semen fresco, determinada inmediatamente antes de la dilución del semen.



DISCUSIÓN

En términos generales, las características seminales de los animales incluidos en este estudio concuerdan con los reportes realizados previamente por Brand (1996); sin embargo, la concentración espermática en el presente estudio resultó muy inferior a la publicada para otras especies de bagres. Por ejemplo, Fogli da Silveira *et al.* (1985), reportaron 55800×10^6 espermatozoides por mL para *Rhamdia hilarii* y Velasco-Santamaría *et al.* (2004) 64463×10^6 espermatozoides/mL para *Rhamdia sebae*. Estos últimos autores observaron una disminución significativa de la concentración espermática, como consecuencia del tratamiento hormonal para inducir la espermiación. Por lo tanto, la baja concentración espermática observada en las muestras seminales de *Pseudoplatystoma fasciatum*, podría atribuirse en primera instancia al efecto diluidor de la administración del EHC al ocasionar un aumento de las secreciones testiculares y por consiguiente del plasma seminal.

La duración de la movilidad espermática de semen fresco activado con NaHCO_3 1% fue casi tres veces que la observada cuando se utilizó agua destilada. Es conocido que algunos iones como Na^+ y Ca^{2+} , al aumentar su concentración intracelular a través de canales de funcionamiento independientes del cambio de potencial de membrana, pueden disparar las rutas de señalización para el inicio de la movilidad espermática. Por otra parte, las concentraciones extracelulares, especialmente de los iones Na^+ y Mg^{2+} , pueden prolongar la movilidad temporalmente, aumentando el tiempo de activación (Tabares *et al.*, 2005).

En términos generales, todas las sustancias crioprotectoras son potencialmente tóxicas para las células espermáticas, ya sea por su acción química directa o por inducir choque osmótico (Arav *et al.*, 2002). Sin embargo, la toxicidad difiere entre las diversas sustancias crioprotectoras; por ejemplo, estudios con espermatozoides de *Oreochromis niloticus* sugirieron que el DMSO tiene mayor efecto tóxico que el metanol, utilizados en concentraciones cercanas a las necesarias para lograr éxito en el proceso de crioconservación (Rana y McAndrew, 1989).

Los resultados del presente trabajo muestran que concentraciones de DMSO iguales o superiores al 10%, acortaron considerablemente la viabilidad de los espermatozoides del bagre rayado conservados bajo condiciones de refrigeración. Estudios realizados por

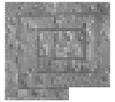
He y Curri (2001) mostraron que una concentración entre el 10 y 15% de DMSO disminuye significativamente la movilidad espermática del *striped bass* (*Morone saxatilis*), mientras que concentraciones cercanas al 5% no ocasionaron cambios significativos durante la primera hora de almacenamiento. Esta observación concuerda con los actuales resultados, ya que el DMSO al 5% no afectó la viabilidad espermática por lo menos durante las primeras cuatro horas de almacenamiento.

El mecanismo de toxicidad del DMSO no está completamente conocido; sin embargo, Shlafer, (1981) demostró que altas concentraciones de DMSO por periodos prolongados pueden desnaturalizar las proteínas celulares reduciendo la viabilidad durante la pre congelación.

La crioconservación de semen de bagre rayado en forma de pellets no mostró resultados satisfactorios, ya que no fue observada movilidad posdescongelación en ninguno de los protocolos evaluados. Sin embargo, semen empacado en pajillas, diluido con soluciones que contenían entre 5 y 7.5 % de DMSO, mostraron movilidades alrededor del 30%. Sin embargo, trabajos previos realizados en *Rhamdia hilarii* (Fogli da Silveira *et al.*, 1985) utilizando un protocolo de empacado en forma de pellets, mostraron movilidades posdescongelación cercanas a 30%. Igualmente, Cosser *et al.* (1984), habían reportado movilidades similares crioconservando semen en pellets de otra especie de bagre (*Salminus maxillosus*).

En el presente trabajo, el protocolo de crioconservación en forma de pellets difirió del empacado en pajillas únicamente en las condiciones de congelación, permitiendo talvez una tasa de congelación diferente a Es ampliamente conocido que la velocidad de congelación afecta dramáticamente la movilidad posdescongelación debido al criodañó celular, ocasionado especialmente por los cambios osmóticos momentáneos que pueden ocurrir durante el proceso de descenso o ascenso de la temperatura (Medina - Robles *et al.*, 2005). Así mismo se acepta que esta variable es la menos estandarizada en los estudios sobre crioconservación de semen de peces (Rana, 1995). Por lo tanto, son necesarias investigaciones adicionales para determinar la tasa de congelación más adecuada para crioconservar semen de bagre rayado.

En conclusión, los resultados del presente trabajo preliminar sobre crioconservación de semen de bagre

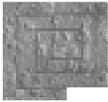


rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*) constituyen una referencia útil para futuras investigaciones, ya que demuestran la sensibilidad de sus células espermáticas

a la acción tóxica del DMSO y la necesidad de utilizar menores tasas de congelación para lograr la crioconservación exitosa del semen de la especie.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAV A, YAVIN S, SERON Y, NATAN D, DEKEL I, GACITUA H. 2002. New trends in gamete's cryopreservation. **Mol Cel Endocrinol** 187: 77 - 81.
- BERNAL W, CONTRERAS P, URIBE M. Caracterización del semen de bocachico (*Prochilodus reticulatus*, Steindachner, 1878) y evaluación de la motilidad después de la conservación en frío. VIII Congreso Latinoamericano de Acuicultura. V Seminario Nacional de Acuicultura. La acuicultura y el desarrollo sostenible. Santa Fe de Bogotá (Colombia). p. 286 - 291, (Oct. 25 - 28, 1994).
- BRAND B. Caracterización y preservación del semen de Bagre Rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*, Linnaeus, 1766). Bogotá. D.C. 1996. Trabajo de Grado (Biólogo Marino). Universidad Jorge Tadeo Lozano. Facultad de Biología Marina.
- COSER AM, GODINHO H, RIBEIRO D. 1984. Cryogenic preservation of spermatozoa from *Prochilodus scrofa* and *Salminus maxillosus*. **Aquaculture**, 37: 387 - 90.
- CRUZ-CASALLAS PE, PARDO-CARRASCO SC, ARIAS-CASTELLANOS JA, LOMBO-CASTELLANOS PE, LOMBO-RODRIGUEZ DA, PARDO - MARIÑO, JE. 2004. Cryopreservation of Yamú *Brycon siebenthalae* Milt. **J World Aquacult Soc** 35: 529-35.
- FABBROCINI A, LUBRANO S, RISPOLI S, SANSONE G. 2000. Criopreservación of Seabream (*Spaurus aurata*) spermatozoa. **Cryobiology** 40: 46-53.
- FOGLI da SILVEIRA W, KAVAMOTO ET, NARAHARA MY. 1985. Avaliação da qualidade e criopreservação em forma de "pellets" do sêmen do bagre, *Rhamdia hilarii* (Valenciennes, 1840). **Bol Instit Pesca** 12 (4): 7-11.
- HAFEZ E. 1986. Reproducción e inseminación artificial en animales. México D.F: McGraw-hill, p.483 - 493.
- HE S, CURRI L. The effect of dimetilsulfoxide and glicine on stripped bass (*Morone saxatilis*) sperm motility. Book of abstracts of the international triennial conference & exposition of aquaculture, p. 283, 2001.
- LEUNG KLP, JAMIESON BGM. 1991. Live preservation of fish gametes. Pp. 245 - 69. In: JAMIESON, BGM. (Editor). Fish Evolution and Systematics: evidence from spermatozoa. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- MEDINA-ROBLES VM, VELASCO-SANTAMARÍA YM, CRUZ - CASALLAS PE. 2005. Aspectos generales de la crioconservación espermática en peces teleósteos. **Rev Col Cienc Pec** 18: 34-48.
- MORENO TCA, VALDERRAMA B M, BELTRÁN GC. 1993. Épocas de reproducción, talla media de madurez gonadal y análisis de la problemática con referencia a las tallas de captura del Bagre Rayado (*Pseudoplatystoma fasciatum*; Linnaeus 1766) en el medio Magdalena-sector Barrancabermeja. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INPA). Bogotá D.C.
- NEIRA J, CRUZ- CASALLAS PE, JIMÉNEZ J, MUÑOZ D. 1991. Caracterización y congelación de semen de Cachama Blanca (*Piaractus brachypomus*). Estación piscícola Unillanos. IV reunión Red Nacional de Acuicultura. p. 141-46
- POLGE CA, SMITH V, PARKES AS. 1949. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. **Nature**. 164: 666.
- RANA K, McANDREW B. 1989. The viability of criopreserved tilapia spermatozoa. **Aquaculture** 76:335-4.
- RANA K. Cryopreservation of aquatic gametes and embryos: recent advances and applications. Proceedings of the fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish. University of Texas at Austin, 1995; 147 p.



- RODRÍGUEZ CA. 1991. Bagres maderos y cuerderos en el bajo río Caquetá. Estudios de la Amazonía Colombiana. Tropenbos. 2:79 - 86
- SCOTT AP, BAYNES SM. 1980. A review of the biology and handling of the storage of salmonid spermatozoa. **J Fish Biol** 17: 707- 39.
- SHLAFER M. 1981. Pharmacological considerations in cryopreservation. Organ Preservation for Transplantation. Segunda edición. p 177-212.
- STEIN H, BAYRLE H. 1978. Cryopreservation of the sperm of some freshwater teleost. **Ann Biol Anim BiochBiophy**. Paris, 18 (4): 1077 - 82.
- TABARES CJ, TARAZONA MA, OLIVERA-ÁNGEL M. 2005. Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce. **Rev Col Cienc Pec**. 18 (2):149 - 61.
- VELASCO-SANTAMARÍA Y.M., ARIAS-CASTELLANOS J.A., CRUZ-CASALLAS P.E. Efecto de la inducción hormonal con extracto de hipófisis de carpa (EHC) sobre algunas características seminales de *Rhamdia sebae* c.f. II Congreso Colombiano de Acuicultura, X Jornada de Acuicultura. Instituto de Acuicultura de la Universidad de los Llanos (IALL). 27 al 29 de Octubre de 2004. Villavicencio, Meta – Colombia.
- WITHLER FC. 1982. Cryopreservation of some freshwater fishes cultured in South and Southeast Asia. **Aquaculture** 26: 395 - 8.