



Efecto del almacenamiento a corto plazo sobre la calidad seminal y la capacidad antioxidante total en semen de cachama blanca (*Piaractus orinoquensis*)

Effect of short-term storage on semen quality and total antioxidant capacity in white cachama semen (*Piaractus orinoquensis*)

Efeito do armazenamento de curto prazo na qualidade do sêmen e na capacidade antioxidante total do sêmen de cachama branca (*Piaractus orinoquensis*)

Nicolás Felipe León-Roldán¹, Andrés Esteban Chacón-Morales², Roger Oswaldo Suárez-Martínez³, Diana Nathalie Guaje-Ramírez⁴, Owens José Barros-Barrios⁵, Víctor Mauricio Medina-Robles^{6*}

*Autor de correspondencia: vmmedinarobles@unillanos.edu.co

Resumen

La calidad del semen de cachama blanca (*Piaractus orinoquensis*) es crucial para la reproducción artificial. El deterioro temporal del semen *in vitro* limita su manejo. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del almacenamiento a corto plazo a temperatura ambiente sobre los principales parámetros de calidad y la capacidad antioxidante total (TAC) del semen de esta especie. Se colectó semen de seis machos inducidos hormonalmente. Las muestras se mantuvieron a una temperatura de laboratorio controlada de 23 °C y se evaluaron a los 0, 15, 30 y 60 minutos postcolecta. Se analizaron la movilidad masal (%), la duración de la movilidad (s), el pH y la TAC del plasma seminal. La movilidad masal se mantuvo alta (>93 %) durante los primeros 30 minutos, pero disminuyó significativamente ($p < 0,05$) a los 60 minutos (87,50 ± 6,12%). No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la duración de la movilidad ni en la capacidad antioxidante total (0,389 ± 0,17 mM Trolox) a lo largo de la hora de evaluación. El pH seminal permaneció constante en 8,5. El semen de *P. orinoquensis* mantiene su viabilidad durante al

- 1 MVZ. Grupo de Investigación Sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos - GRITOX, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Instituto de Acuicultura y Pesca de los Llanos, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1051-6847>
- 2 Zootecnista. Grupo de Investigación en Manejo y Producción de Especies con Potencial Zootécnico - GRIPEPZ, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cundinamarca, Fusagasugá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2591-743>
- 3 Zootecnista, MSc. Grupo de Investigación Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales (UDCA), Bogotá, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9647-0984>
- 4 MVZ, MSc (en curso). Grupo de Investigación Sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos - GRITOX, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Instituto de Acuicultura y Pesca de los Llanos, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6519-6372>
- 5 MVZ, MSc. Grupo de Investigación Sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos - GRITOX, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Instituto de Acuicultura y Pesca de los Llanos, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8900-7062>
- 6 MVZ, MSc, PhD. Grupo de Investigación Sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos - GRITOX, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Instituto de Acuicultura y Pesca de los Llanos, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4871-2715>

La Revista Sistemas de Producción Agroecológicos es una revista de acceso abierto revisada por pares. © 2012. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la Licencia Internacional Creative Commons Attribution 4.0 (CC-BY 4.0), que permite el uso, distribución y reproducción sin restricciones en cualquier medio, siempre que se acredeite el autor y la fuente originales.

Consulte <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

OPEN ACCESS



Como citar este artículo / How to cite this article: León-Roldan, N. F., Chacón-Morales, A. E., Suárez-Martínez, R. O., Guaje-Ramírez, D. N., Barros-Barrios, O. J. y Medina-Robles, V. M. (2025). Efecto del almacenamiento a corto plazo sobre la calidad seminal y la capacidad antioxidante total en semen de cachama blanca (*Piaractus orinoquensis*). Revista Sistemas de Producción Agroecológicos, 16(2), e-1321. DOI: <https://doi.org/10.22579/22484817.1321>

menos 30 minutos a temperatura ambiente. La disminución inicial de la calidad espermática parece ser un evento dependiente del agotamiento energético y no de un agotamiento del sistema antioxidante, el cual se mostró constante. Se establece una ventana de manejo para optimizar los protocolos de fertilización artificial en esta especie.

Palabras clave: Almacenamiento a corto plazo; Calidad seminal; Estrés oxidativo; Movilidad espermática; *Piaractus orinoquensis*.

Abstract

The quality of white-faced cachama (*Piaractus orinoquensis*) semen is crucial for artificial reproduction. The temporary deterioration of semen *in vitro* limits its handling. The objective of this study was to evaluate the effect of short-term storage at room temperature on key quality parameters and the total antioxidant capacity (TAC) of semen from this species. Semen was collected from six hormonally induced males. Samples were maintained at a controlled laboratory temperature of 23 °C and evaluated at 0-, 15-, 30- and 60-minutes postcollection. Bulk motility (%), motility duration (s), pH, and TAC of seminal plasma were analyzed. Bulk motility remained high (>93%) during the first 30 minutes, but decreased significantly ($p < 0.05$) at 60 minutes ($87.50 \pm 6.12\%$). No significant differences ($p > 0.05$) were found in motility duration or total antioxidant capacity (0.389 ± 0.17 mM Trolox) over the 1-hour evaluation period. Seminal pH remained constant at 8.5. *P. orinoquensis* semen remained viable for at least 30 minutes at room temperature. The initial decline in sperm quality appears to be due to energy depletion rather than to depletion of the antioxidant system, which remained constant. A management window is established to optimize artificial fertilization protocols in this species.

Keywords: Oxidative stress; *Piaractus orinoquensis*; Semen quality; Short-term storage; Sperm motility.

Resumo

A qualidade do sêmen de cachama-de-cara-branca (*Piaractus orinoquensis*) é crucial para a reprodução artificial. A deterioração temporária do sêmen *in vitro* limita seu manuseio. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do armazenamento de curto prazo à temperatura ambiente sobre os principais parâmetros de qualidade e a capacidade antioxidante total (CAT) do sêmen desta espécie. O sêmen foi coletado de seis machos induzidos hormonalmente. As amostras foram mantidas em temperatura controlada de laboratório de 23 °C e avaliadas em 0, 15, 30 e 60 minutos após a coleta. A motilidade volumétrica (%), duração (s) da motilidade, pH e CAT do plasma seminal foram analisados. A motilidade volumétrica permaneceu alta (>93%) durante os primeiros 30 minutos, mas diminuiu significativamente ($p < 0,05$) aos 60 minutos ($87,50 \pm 6,12\%$). Não foram encontradas diferenças significativas ($p > 0,05$) na duração da motilidade ou na capacidade antioxidante total ($0,389 \pm 0,17$ mM de Trolox) durante o período de avaliação de 1 hora. O pH seminal permaneceu constante em 8,5. O sêmen de *P. orinoquensis* permaneceu viável por pelo menos 30 minutos em temperatura ambiente. O declínio inicial na qualidade espermática parece ser devido à depleção de energia e não à depleção do sistema antioxidante, que permaneceu constante. Uma janela de manejo é estabelecida para otimizar os protocolos de fertilização artificial nesta espécie.

Palavras-chave: Armazenamento de curto prazo; Estresse oxidativo; Motilidade espermática; *Piaractus orinoquensis*; Qualidade do sêmen.

Introducción

La piscicultura en Colombia ha experimentado un crecimiento sostenido, consolidándose como un sector de importancia para la seguridad alimentaria y el desarrollo económico regional (Cuan-Barrera et al., 2021). Dentro de las especies nativas de mayor relevancia para la acuicultura nacional, se destaca la cachama blanca, *Piaractus orinoquensis* (anteriormente *P. brachypomus*), una especie originaria de la cuenca del Orinoco (Escobar et al., 2019). Su cultivo se ha extendido históricamente en los Llanos Orientales, región donde la piscicultura con especies nativas ha crecido rápidamente, convirtiéndose en una alternativa productiva (Cruz-Casallas et al., 2000). El éxito de la cachama blanca en sistemas de producción se atribuye a su rápido crecimiento, incluso con dietas de origen vegetal. A esto se suman su rusticidad y la buena aceptación de su carne en el mercado, lo que la posiciona como una de las principales especies cultivadas en el país (Cruz-Velásquez et al., 2014). De hecho, para el año 2024, el género *Piaractus* representaba el segundo renglón de la producción piscícola nacional, con una participación del 19% (MADR, 2024).

El sostenimiento y la expansión de la producción de la cachama blanca dependen fundamentalmente de la disponibilidad constante de alevinos de alta calidad, un objetivo que se alcanza principalmente a través de la reproducción artificial inducida y controlada en laboratorios o estaciones piscícolas (Chaves-Moreno et al., 2012). En este proceso, la calidad de los gametos es un factor determinante para el éxito de la fertilización y, por ende, para la eficiencia del programa reproductivo. La calidad seminal, en particular, se considera uno de los principales factores que puede limitar el éxito en la producción de juveniles en peces. Esta se evalúa mediante un conjunto de parámetros que incluyen características fisicoquímicas del plasma seminal y, de manera crucial, la cinética de los espermatozoides (Barros-Barrios y Medina-Robles, 2022).

Una vez extraído, el semen es altamente susceptible a cambios fisicoquímicos que comprometen la viabilidad espermática. La exposición al

ambiente *in vitro* inicia una cascada de eventos que conducen a una disminución progresiva de la calidad, particularmente en parámetros críticos como la movilidad y la integridad de la membrana plasmática. Este deterioro temporal representa un desafío operativo para la acuicultura, ya que la sincronización entre la máxima calidad seminal del macho y la madurez ovocitaria de la hembra no siempre es perfecta, afectando directamente las tasas de fertilización (Beirão et al., 2019).

El estrés oxidativo, un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y la capacidad de los sistemas antioxidantes del plasma seminal, es señalado como uno de los principales mecanismos subyacentes a este deterioro espermático *in vitro* (Sandoval-Vargas et al., 2021a). Aunque la cinética de la calidad seminal ha sido estudiada en varios peces teleósteos (Barros-Barrios et al., 2025; Medina-Robles, 2020), la información que relaciona la pérdida de viabilidad con los cambios en la capacidad antioxidant total (TAC) en el semen de *Piaractus orinoquensis* durante el almacenamiento a corto plazo es aún limitada. Este conocimiento es fundamental para desarrollar protocolos de manejo de gametos que preserven su capacidad fertilizante. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del almacenamiento a corto plazo (0, 15, 30 y 60 minutos) sobre los parámetros de calidad seminal (porcentaje de movilidad masal, duración de la movilidad, pH) y la capacidad antioxidant total del semen de cachama blanca (*Piaractus orinoquensis*).

Métodos

Consideraciones éticas

El manejo y todos los procedimientos experimentales con los animales se ajustaron a las directrices internacionales para el cuidado y uso de animales de laboratorio, descritas en la *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (National Research Council, 1996). Se tomaron todas las medidas necesarias para minimizar el estrés y el sufrimiento de los peces durante la manipulación y la extracción del semen.

Localización del Estudio y Material Biológico

Este estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Estación Piscícola y el Laboratorio de Reproducción y Crioconservación del Instituto de Acuicultura y Pesca de los Llanos (IALL) de la Universidad de los Llanos, ubicado en Villavicencio, Meta, Colombia ($4^{\circ}04'24.5''$ N, $73^{\circ}34'55.3''$ W). La zona presenta una altitud de 418 m s. n. m., una temperatura ambiental promedio de 27°C , una humedad relativa del 75% y una precipitación anual de 4050 mm.

Se utilizaron seis machos de cachama blanca (*Piaractus orinoquensis*), sanos y sexualmente maduros, con un peso corporal promedio de $4,08 \pm 0,42$ Kg y una longitud total de $55,4 \pm 2,46$ cm, pertenecientes al plantel de reproductores de la estación. La selección de los ejemplares se basó en su estado de madurez, el cual fue verificado por la liberación de semen tras un suave masaje abdominal. Una vez seleccionados, los machos fueron trasladados a tanques circulares de cemento de 2,5 m de diámetro, equipados con aireación constante y recambio de agua, donde permanecieron hasta el momento de la extracción del semen.

Inducción Hormonal y Obtención del Semen

La inducción de la espermatización se realizó 18 horas antes de la colecta mediante la aplicación de una dosis única de Extracto de Hipófisis de Carpa (EHC; Stoller Fisheries, EE. UU.), a razón de $4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso vivo. La hormona se administró por vía intramuscular en la base de la aleta dorsal.

Para la manipulación y colecta del semen, los machos fueron sedados en una solución de 2-fenoxietanol (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.) a una concentración de $300\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (equivalente a 300 ppm), hasta alcanzar un estado de anestesia que permitió su manipulación segura, evidenciado por la pérdida del eje de nado. Posteriormente, cada pez fue colocado sobre una superficie blanda y húmeda. Se procedió a secar cuidadosamente la superficie ventral y el área urogenital con toallas de papel para evitar la contaminación de la muestra. Previo a la extracción, se aplicó una suave presión abdominal para evacuar posibles restos de

orina, heces o sangre. Finalmente, el semen fue extraído mediante un masaje abdominal en dirección cráneo-caudal y colectado en tubos de vidrio estériles y aforados.

Evaluación de los Parámetros Seminales

Evaluación Macroscópica y Volumen Seminal: inmediatamente después de la colecta, cada muestra de semen fue sometida a una evaluación macroscópica para verificar la ausencia de contaminantes como sangre, orina o heces. Aquellas muestras que presentaron algún tipo de contaminación visible fueron descartadas. Adicionalmente, se confirmó la inactividad espermática previa a la activación, observando una alícuota de semen puro bajo el microscopio. El volumen de cada eyaculado se determinó directamente en los tubos de colecta aforados y se expresó en mililitros (mL). Solo las muestras que cumplieron con estos criterios de calidad fueron incluidas en los análisis.

Medición de pH Seminal: el pH del semen fresco se midió utilizando tiras indicadoras de pH (MColorpHast™, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania). Para ello, una alícuota de la muestra se transfirió a un microtubo de 1.5 mL, en el cual se sumergió brevemente la tira indicadora. El valor de pH se determinó inmediatamente comparando el color resultante con la escala colorimétrica provista por el fabricante.

Análisis de la Movilidad Espermática: la movilidad masal y su duración se evaluaron mediante microscopía óptica. Para ello, una alícuota de semen se activó con agua destilada en una proporción 1:10 (semen:activador) sobre una lámina de microscopía con cavidad cóncava (profundidad 1.0-1.2 mm; Premiere®, China), siguiendo la metodología adaptada de Barros-Barrios et al. (2025). Las observaciones se realizaron con un microscopio óptico (Carl Zeiss, Jena, Alemania) a un aumento de 40x.

Se evaluaron dos parámetros:

Porcentaje de Movilidad Masal: se estimó subjetivamente y se expresó como el porcentaje de

espermatozoides que presentaban movimiento activo en el campo visual inmediatamente después de la activación.

Duración de la movilidad: se midió con un cronómetro y se registró como el tiempo, en segundos (s), transcurrido desde el momento de la activación hasta que aproximadamente el 90% de los espermatozoides se volvieron inmóviles.

Determinación de la Capacidad Antioxidante

Total (TAC): para la obtención del plasma seminal, se tomaron alícuotas de 250 µL de semen de cada macho en cada uno de los tiempos de evaluación. Las alícuotas fueron centrifugadas a 14,000 x g durante 5 minutos a 4 °C (Centrífuga modelo Z326K; Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania). Posteriormente, el sobrenadante (plasma seminal) fue cuidadosamente recuperado, transferido a microtubos estériles y almacenado a -20 °C hasta su traslado para el análisis en el laboratorio.

La TAC del plasma seminal se determinó utilizando un kit de ensayo comercial basado en el método ABTS (Capacidad Antioxidante Total, Ensayo n.º MAK187; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE. UU.). Este método, descrito originalmente por Miller et al. (1993), se fundamenta en la reacción entre la met-mioglobina y el peróxido de hidrógeno para generar el radical catiónico del ABTS (ABTS^{•+}), un cromóforo de color verde. Los antioxidantes presentes en la muestra de plasma seminal inhiben la formación de este radical, provocando una reducción en la señal colorimétrica que es directamente proporcional a la capacidad antioxidant de la muestra.

La absorbancia de la reacción se midió como punto final a 405 nm en un lector de microplacas (Modelo 680; Bio-Rad, Hercules, CA, EE. UU.). La cuantificación se realizó mediante la comparación con una curva de calibración estándar de Trolox, un análogo de la vitamina E, siguiendo las instrucciones del fabricante. Los resultados de la TAC se expresaron como milimolar de equivalentes de Trolox (mM Trolox).

Diseño Experimental

El estudio se llevó a cabo bajo un diseño de medidas repetidas para evaluar el efecto del tiempo

de almacenamiento a corto plazo sobre los parámetros seminales. Inmediatamente después de la colecta y la evaluación inicial, la muestra de semen de cada uno de los seis machos ($n= 6$) se mantuvo en su tubo de colecta estéril bajo condiciones de laboratorio a una temperatura controlada de 23 °C. Se tomaron alícuotas de cada muestra para realizar los análisis en cuatro tiempos post colecta: 0 (considerado como el tiempo basal o control), 15, 30 y 60 minutos. En cada uno de estos tiempos, se evaluaron las siguientes variables de respuesta: porcentaje de movilidad, duración de la movilidad (s), pH y capacidad antioxidant total.

Análisis Estadístico

Los resultados de todas las variables evaluadas se presentan como el promedio \pm desviación estándar (DE). Para determinar el efecto del tiempo de almacenamiento sobre los parámetros seminales, se utilizó un análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas, con el tiempo (0, 15, 30 y 60 min) como factor intrasujeto.

Previamente, se verificó el supuesto de normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk. El supuesto de esfericidad, requerido para el ANOVA de medidas repetidas, se evaluó con la prueba de Mauchly. Si se violaba el supuesto de esfericidad, se aplicaba la corrección de Greenhouse-Geisser a los grados de libertad. Cuando el ANOVA mostró un efecto significativo del tiempo, se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey (o Bonferroni) para identificar las diferencias específicas entre los pares de tiempos.

Para aquellas variables que no cumplieron los supuestos, se utilizó la prueba no paramétrica de Friedman. Para todos los análisis, se estableció un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron con el entorno de programación R (ver. 3.6.1) y las gráficas se elaboraron con el software GraphPad Prism (ver. 8.3.0).

Resultados

Las muestras de semen obtenidas de los seis machos ($n= 6$) presentaron una apariencia y colora-

ción blanca homogénea, libres de contaminación visible. El volumen seminal promedio colectado por individuo fue de $9,81 \pm 2,27$ ml, con valores que oscilaron entre un mínimo de 6,5 ml y un máximo de 13,8 ml.

La evaluación de la cinética espermática mostró cambios significativos a lo largo del tiempo de almacenamiento. El porcentaje de movilidad masal se mantuvo en un valor máximo (95%) y sin cambios durante los primeros 15 minutos. Aunque se observó una ligera disminución a los 30 minutos, esta no fue estadísticamente diferente de los tiempos iniciales. Sin embargo, a los 60 minutos de almacenamiento, la movilidad masal disminuyó de forma significativa ($p < 0,05$) hasta un 87,50% (Tabla 1). Por otro lado, la duración de la movilidad espermática no presentó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre ninguno de los puntos de tiempo evaluados, a pesar de mostrar una tendencia numérica a la disminución a partir de los 30 minutos.

En cuanto a los parámetros fisicoquímicos, el pH del plasma seminal se mantuvo constante y alcalino, con un valor de 8,50 durante todo el periodo experimental de 60 minutos. De manera similar, la capacidad antioxidante total (TAC) no mostró variaciones estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los diferentes tiempos de medición, manteniendo valores estables a lo largo de la hora de evaluación (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros de calidad seminal y capacidad antioxidante total (TAC) del semen de cachama blanca (*Piaractus orinoquensis*) durante 60 minutos de almacenamiento a corto plazo.

Parámetro	0 min	15 min	30 min	60 min
Movilidad masal (%)	$95,00 \pm 0,00^a$	$95,00 \pm 0,00^a$	$93,33 \pm 2,58^a$	$87,50 \pm 6,12^b$
Duración de la movilidad (s)	$50,83 \pm 5,46$	$51,17 \pm 7,55$	$46,50 \pm 6,44$	$42,33 \pm 5,54$
pH	8,50	8,50	8,50	8,50
Capacidad antioxidante total (mM Trolox)	$0,389 \pm 0,17$	$0,388 \pm 0,16$	$0,381 \pm 0,14$	$0,408 \pm 0,15$

Nota. Valores expresados como promedio ± desviación estándar ($n=6$). Letras distintas en la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Discusión

La durabilidad del semen *in vitro* es un factor crítico para el éxito de la reproducción artificial en la acuicultura. El presente estudio revela que el semen de la cachama blanca (*Piaractus orinoquensis*) posee una notable resistencia, manteniendo la mayoría de sus parámetros de calidad estables durante la primera hora postcolecta a temperatura ambiente (23 °C). No obstante, la disminución significativa de la movilidad masal a los 60 minutos actúa como un indicador temprano del inicio de deterioro de la calidad espermática.

La movilidad espermática es un proceso biológico que consume una gran cantidad de energía, dependiente casi exclusivamente del ATP generado en las mitocondrias de la pieza media del espermatozoide (de Gómez y García, 2015). Este ATP impulsa el motor de la dineína, que provoca el deslizamiento de los microtúbulos del axonema y, en consecuencia, el movimiento flagelar. En el ambiente *in vitro*, los espermatozoides funcionan como un sistema cerrado con reservas energéticas finitas, por lo que la disminución de la movilidad con el tiempo es un indicador esperado del deterioro de la calidad seminal (Cosson, 2010). La reducción en el porcentaje de espermatozoides móviles observada en este estudio a los 60 minutos es, por tanto, interpretable como el primer síntoma de un agotamiento progresivo de las reservas de ATP. A medida que el ATP se consume para mantener la homeostasis iónica y otras funciones basales, la cantidad disponible para el movimiento flagelar se reduce, lo que resulta en un menor porcentaje de células móviles (Cosson, 2004). No obstante, el tiempo de este descenso puede variar significativamente entre especies. Nuestros resultados muestran una caída significativa a los 60 minutos, y contrastan de manera interesante con los hallazgos en *Colosoma macropomum*, en el cual la movilidad a temperatura ambiente no disminuyó significativamente hasta las 10 horas de almacenamiento (Pires et al., 2019). Esta aparente menor durabilidad del semen de *P. orinoquensis* bajo condiciones similares sugiere una posible diferencia interespecífica en el metabolismo energético espermático, con un con-

sumo de ATP potencialmente más acelerado en esta especie. Este hallazgo es consistente con la idea de que la depleción de ATP es uno de los factores limitantes primarios para la longevidad espermática *in vitro* en teleósteos (Medina-Robles et al., 2023; Barros-Barrios et al., 2025).

El volumen seminal promedio de $9,81 \pm 2,27$ mL por macho es un indicador de la alta capacidad de producción seminal de los reproductores utilizados y de la eficacia del protocolo de inducción hormonal. Este valor es notablemente superior al promedio de $7,44 \pm 2,18$ mL reportado por Suárez-Martínez et al. (2019) para la misma especie. Esta diferencia puede atribuirse a diversos factores, como una mayor talla o edad de los reproductores utilizados en el presente estudio, variaciones en el protocolo hormonal o diferencias en las condiciones de cultivo. Junto a esta característica macroscópica, un hallazgo crucial a nivel fisicoquímico fue la constancia del pH seminal en un valor alcalino de 8,5. En muchos teleósteos de agua dulce, la quiescencia espermática en el plasma seminal es mantenida por una combinación de factores iónicos (principalmente alta concentración de K^+) y un pH específico (Zhang et al., 2026). Este ambiente iónico y alcalino inhibe la actividad de la ATPasa dineína-dependiente, previniendo la movilidad y, por ende, conservando la energía (Kholodnyy et al., 2020). La estabilidad del pH observada en nuestro estudio indica una potente capacidad buffer del plasma seminal de *P. orinoquensis*, probablemente mediada por sistemas de tampones y proteínas. Esta capacidad previene la acidificación que podría resultar del metabolismo celular residual, manteniendo así las condiciones óptimas para la inactividad y la viabilidad a corto plazo (Alavi y Cosson, 2005). Un pH de 8,5 se encuentra dentro del rango reportado para otros teleósteos, considerado óptimo para la conservación de la viabilidad espermática antes de la activación (Padilla-Sánchez, 2023).

El resultado más relevante fue la estabilidad de la TAC a lo largo de la hora de evaluación. El plasma seminal está dotado de un complejo sistema de defensa antioxidante, que incluye enzimas (SOD,

CAT, GPx) y moléculas no enzimáticas (glutatión, vitaminas, ácido úrico), para neutralizar las especies reactivas del oxígeno (ROS) generadas por el metabolismo mitocondrial (Sandoval-Vargas et al., 2021b). La constancia de la TAC sugiere que, durante la primera hora, la producción de ROS fue mínima o fue eficientemente contrarrestada por el sistema de defensa existente, sin llegar a agotarlo. El valor basal de TAC medido en este estudio para *P. orinoquensis* ($0,389$ mM Trolox) es virtualmente idéntico al reportado en otro estudio para la misma especie ($0,38$ mM Trolox) (Medina-Robles et al., 2023). Cabe destacar que este valor es notablemente alto en comparación con una amplia gama de peces teleósteos. Específicamente, es sustancialmente superior al reportado para la carpa común ($0,153$ mM), e incluso para salmonidos como la trucha arcoíris ($0,009$ mM) (Słowińska et al., 2013). No obstante, este valor parece ser moderado en el contexto de los peces de la cuenca amazónica y del Orinoco, ya que para el *Brycon amazonicus* se ha reportado un valor excepcionalmente alto de $26,46$ mM Trolox (Barros-Barrios et al., 2025). Aunque las diferencias metodológicas podrían influir en esta comparación, esta disparidad sugeriría que las especies de esta región neotropical han evolucionado hacia sistemas de defensa antioxidante muy potentes.

Este hallazgo desafía la hipótesis de que el daño oxidativo es el evento inicial y principal en el deterioro del semen de *P. orinoquensis* bajo estas condiciones. Proponemos que la pérdida de movilidad observada es principalmente un evento energético-dependiente, no oxidativo-dependiente. Es decir, las células comienzan a "quedarse sin combustible" antes de que el "estrés oxidativo" cause un daño estructural y funcional significativo. Esta conclusión es de suma importancia, ya que sugiere que las estrategias para mejorar la longevidad del semen a corto plazo en esta especie deberían enfocarse tanto en la suplementación energética, como en el refuerzo de las defensas antioxidantes.

Es importante contextualizar que este estudio se realizó a una temperatura de laboratorio con-

trolada de 23 °C. Como señala la literatura, esta condición es inferior a la temperatura ambiental promedio de la región de Villavicencio (aprox. 26-27 °C). La elección de una temperatura controlada es metodológicamente necesaria para garantizar la estandarización y replicación del ensayo y de los resultados. Sin embargo, se debe reconocer que la temperatura es clave del metabolismo espermático. Una temperatura inferior, como la utilizada, reduce la tasa metabólica general, lo que probablemente contribuyó a la estabilidad observada en la mayoría de los parámetros durante la primera hora. Por lo tanto, aunque nuestros hallazgos sugieren que el agotamiento energético precede al colapso del sistema antioxidante, es plausible que, a una temperatura superior, más cercana a las condiciones de campo, ambos procesos de deterioro ocurran de manera más acelerada. Esto subraya la importancia crítica de minimizar el tiempo de manejo del semen *in vitro* en la práctica piscícola, ya que la ventana de viabilidad óptima podría ser más estrecha bajo las condiciones ambientales reales de la región.

Conclusión

El semen de cachamablanca (*Piaractus orinoquensis*), almacenado *in vitro* a temperatura ambiente, mantiene estables la duración de la movilidad, el pH seminal y su capacidad antioxidante total durante al menos 60 minutos postcolecta.

La disminución significativa en el porcentaje de espermatozoides móviles a los 60 minutos es el primer indicador del inicio del deterioro seminal, sugiriendo que la pérdida de viabilidad en esta especie está inicialmente ligada al agotamiento de las reservas energéticas antes que a un colapso del sistema de defensa antioxidante.

Desde un punto de vista práctico, estos resultados establecen una ventana de tiempo segura de aproximadamente 30 a 45 minutos para la manipulación del semen fresco de cachama blanca sin una pérdida sustancial de su calidad, lo que permite

optimizar los protocolos de manejo de gametos en los programas de reproducción artificial.

Referencias bibliográficas

- Alavi, S. y Cosson, J. (2005). Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review. *Cell Biology International*, 29(2), 101-110. <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2004.11.021>
- Barros-Barrios, O. J. y Medina-Robles, V. M. (2022). Parámetros de calidad espermática en semen crioconservado de peces dulceacuícolas. *Orinoquia*, 26(2). <https://doi.org/10.22579/20112629.764>
- Barros-Barrios, O. J., Suárez-Martínez, R. O., Gómez-Ramírez, E., Guaje-Ramírez, D. N., y Medina-Robles, V. M. (2025). Sperm Quality, Milt Biochemistry, and Cellular Ultrastructure in Fresh and Cryopreserved Sperm of *Brycon amazonicus*. *Aquaculture Research*, 2025(1). <https://doi.org/10.1155/are/6671651>
- Beirão, J., Boulais, M., Gallego, V., O'Brien, J. K., Peixoto, S., Robeck, T. R., & Cabrita, E. (2019). Sperm handling in aquatic animals for artificial reproduction. *Theriogenology*, 133, 161-178. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.05.004>
- Chaves-Moreno, L. C., Chacón-Rodríguez, L., Lozada-Morales, J., Motta-Delgado, P. A. y Murcia-Ordoñez, B. (2012). Evaluación de la reproducción inducida de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*) con acetato de buserelina. *Revista Veterinaria YZootecnia*, 6(1), 47-55. <https://revistasojos.ucaldas.edu.co/index.php/vetzootec/article/view/4425>
- Cosson, J. (2004). The Ionic and Osmotic Factors Controlling Motility of Fish Spermatozoa. *Aquaculture International*, 12(1), 69-85. <https://doi.org/10.1023/B:AQUI.0000017189.44263.bc>

- Cosson, J. (2010). Frenetic activation of fish spermatozoa flagella entails short-term motility, portending their precocious decadence. *Journal of Fish Biology*, 76, 240-279. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02504.x>
- Cruz-Casallas, P. E., Arias-Castellanos, J. A., Vázquez-Torres, W. y Eslava-Mocha, P.R. (2000). Cultivo de la cachama y el yamú en los Llanos Orientales de Colombia. *Revista Colombia Ciencia y Tecnología Colciencias*, 18, 25-29.
- Cruz-Velásquez, Y., Kijora, C., Vergara-Hernández, W. y Schulz, C. (2014). On-farm evaluation of Cachama blanca and Nile tilapia fed fermented aquatic plants in a polyculture. *Orinoquia*, 18(2), 269-277. <https://doi.org/10.22579/20112629.386>
- Cuan-Barrera, J. A., Parada-Guevara, S. L., Murillo-Pacheco, R. y Ramírez-Merlano, J. A. (2021). Parámetros productivos del cultivo de cachama blanca *Piaractus orinocoensis*, en jaulas flotantes. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 24(2). <https://doi.org/10.31910/rudca.v24.n2.2021.2068>
- de Gómez, P.M. y García, T.J. (2015). La bioenergética, las mitocondrias y la fosforilación oxidativa. *Revista Digital Universitaria*, 16(1), 1-15. <https://www.revista.unam.mx/vol.16/num1/art05/>
- Escobar L., M. D., Ota, R. P., Machado-Allison, A., Andrade-López, J., Farias, I. P. y Hrbek, T. (2019). A new species of *Piaractus* (Characiformes: Serrasalmidae) from the Orinoco Basin with a redescription of *Piaractus brachypodus*. *Journal of Fish Biology*, 95(2), 411-427. <https://doi.org/10.1111/jfb.13990>
- Kholodnyy, V., Gadêlha, H., Cosson, J. y Boryshpolets, S. (2020). How do freshwater fish sperm find the egg? The physicochemical factors guiding the gamete encounters of externally fertilizing freshwater fish. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 1165-1192. <https://doi.org/10.1111/raq.12378>
- Medina-Robles, V.M (2020). Evaluación de protocolos de crioconservación seminal en especies ícticas nativas como línea base para la conformación de un banco de semen de peces nativos con fines comerciales y de conservación [Tesis de Doctorado, Universidad de Los Llanos].
- Medina-Robles, V. M., Sandoval-Vargas, L. Y., Suárez-Martínez, R. O., Gómez-Ramírez, E., Guaje-Ramírez, D. N. y Cruz-Casallas, P. E. (2023). Cryostorage of white cachama (*Piaractus orinocoensis*) sperm: Effects on cellular, biochemical and ultrastructural parameters. *Aquaculture Reports*, 29, 101477. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101477>
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Dirección de Cadenas Pecuarias, Pesqueras y Acuícolas. (2024, 31 de diciembre). *Cadena de la acuicultura*. <https://drive.google.com/file/d/1d36uzujVugR0P-uxNnveBRUDZ0l07M/view?usp=sharing>
- Padilla-Sánchez, M. (2023). *Sperm Quality and Cryopreservation in Teleost: Effect of Seminal Plasma Component and Climate Change*. [Tesis de Doctorado, Universitat Politècnica de València]. Repositorio Institucional UPV. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/201549>
- Pires, L. B., Sanches, E. A., Romagosa, E., Corrêa Filho, R. A. C., Nass, R. A. R., Lopera-Barrero, N. M., y Povh, J. A. (2019). Sperm quality of *Colossoma macropomum* after room-temperature and cold storage. *Journal of Applied Ichthyology*, 35(3), 747-753. <https://doi.org/10.1111/jai.13864>
- Sandoval-Vargas, L., Dumorné, K., Contreras, P., Farías, J. G., Figueira, E., Risopatrón, J. y Valdebenito, I. (2021a). Cryopreservation of

coho salmon sperm (*Oncorhynchus kisutch*): Effect on sperm function, oxidative stress and fertilizing capacity. *Aquaculture*, 533, 736493. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736151>

Sandoval-Vargas, L. Y., Silva Jiménez, M., Risopatrón-González, J., Villalobos, E. F., Cabrita, E. y Valdebenito-Isler, I. (2021b). Oxidative stress and use of antioxidants in fish semen cryopreservation. *Reviews in Aquaculture*, 13(1), 365-387. <https://doi.org/10.1111/raq.12479>

Ślowińska, M., Nynca, J., Cejko, B., Dietrich, M., Horváth, Á., Urbányi, B., Kotrik, L., y Ciereszko, A. (2013). Total antioxidant capacity of fish seminal plasma. *Aquaculture*, 400-401, 101-104. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.03.010>

Suárez-Martínez, R. O., Medina-Robles, V.M. y Cruz-Casallas, P.E. (2019). Efecto de dos colectas de semen en una temporada reproductiva sobre la calidad seminal de cachama blanca (*Piaractus brachypomus*). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 30(3), 1184-1195. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i3.15515>

Zhang, S., Peng, S., Gao, Y., Ma, Z., França, T. S., Cheng, Y., Shazada, N. E., Fernández-García, F., Pérez-Sánchez, J., Asturiano, J. F., Boryshpolets, S., Rodina, M., Linhart, O. y Havlíková, Z. (2026). Species-specific responses of fish sperm to thermal incubation and activation during short-term storage. *Aquaculture*, 611, 742971. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2025.742971>