

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN / RESEARCH ARTICLE

MADUREZ TESTICULAR Y CALIDAD
SEMINAL DE *Ichthyoelephas longirostris*
(PROCHILODONTIDAE) DEL MEDIO RÍO CAUCA

Testicular Maturity and Seminal Quality of *Ichthyoelephas longirostris* (Prochilodontidae) from the Middle Cauca River

César MONTES-PETRO¹, Juan YEPES ESCOBAR², Carlos TAPIA PACHECO¹, Diana MADARIAGA MENDOZA¹,
José ESPINOSA ARAUJO¹, Víctor ATENCIO-GARCÍA^{1*}

¹ DCA/FMVZ/CINPIC, Universidad de Córdoba, Cra 6 # 77-305, Montería, Colombia, cesarmontesp@correo.unicordoba.edu.co, ctapiapacheco03@correo.unicordoba.edu.co, dmadariagamendoza@correo.unicordoba.edu.co, jaespinosaraaju@correo.unicordoba.edu.co, vatencio@correo.unicordoba.edu.co

² DB/FCB, Universidad de Córdoba, Cra 6 # 77-305, Montería, Colombia, jyepes@correo.unicordoba.edu.co

* For correspondence: vatencio@correo.unicordoba.edu.co

Recibido: 22 de enero de 2024. **Revisado:** 26 de febrero de 2024. **Aceptado:** 12 de abril de 2024

Editor asociado: Martha Patricia Ramírez Pinilla

Citation/ citar este artículo como: Montes-Petro, C, Yepes Escobar, J., Tapia Pacheco, C., Madariaga Mendoza, D., Espinosa Araujo, J., and Atencio-García, V. (2024). Madurez testicular y calidad seminal de *Ichthyoelephas longirostris* (Prochilodontidae) del Medio río Cauca. *Acta Biol. Colomb.*, 29(3), 179-188. <https://doi.org/10.15446/abc.v29n3.112600>

RESUMEN

Ichthyoelephas longirostris es una especie endémica de Colombia distribuida en las cuencas Magdalena-Cauca y Ranchería que ha sido declarada en peligro de extinción. El conocimiento de su bioecología y en particular sus aspectos reproductivos son limitados; por tanto, el objetivo del estudio fue determinar el estado de madurez testicular y calidad seminal de *I. longirostris* del Medio río Cauca. El desarrollo testicular se estableció mediante descripción morfológica (peso, color, irrigación) e histológica de machos ($n = 28$; $0,78 \pm 0,14$ Kg; $42,1 \pm 2,5$ cm) capturados entre agosto/2020 y octubre/2021 en el Medio río Cauca (Valdivia, Colombia). Mientras que, la calidad seminal fue evaluada en machos mantenidos en cautiverio ($n = 8$, $0,7 \pm 0,1$ Kg, $40,3 \pm 1,3$ cm) que maduraron, fueron inducidos con 4 mg extracto hipofisiario de carpa/Kg de peso y seis horas post-inducción se colectó el semen y con un sistema de análisis asistido por computador (CASA) se evaluó la cinemática, concentración y duración de la movilidad espermática. Los testículos de *I. longirostris* son estructuras pares alargadas de forma sacular, de tipo lobular no restringida, con desarrollo cístico que presentan cuatro estados básicos: inmaduro, en maduración, maduro, post-liberación/regresión. Los valores de concentración ($10546,4 \pm 3344,0$ spz/mL), movilidad total ($95,2 \pm 3,8$ %), progresividad total ($72,7 \pm 15,3$ %), velocidad curvilínea ($117,6 \pm 21,8$ μ m/s), velocidad lineal ($70,1 \pm 14,3$ μ m/s) y duración de la movilidad ($39,5 \pm 2,5$ s) fueron estimados. El desarrollo de madurez testicular y calidad seminal de *I. longirostris* concuerdan con los registros en otros prochilodóntidos neotropicales.

Palabras clave: espermatoцитos, espermatogonias, espermatozoide, gónadas, movilidad.

ABSTRACT

Ichthyoelephas longirostris is an endemic species of Colombia distributed in the Magdalena-Cauca and Rancheria basins that have been declared in danger of extinction. Knowledge of its bio-ecology, particularly its reproductive aspects, is limited. Therefore, the study aimed to determine the testicular maturity stage and seminal quality of *I. longirostris* from the Cauca River Middle. The testicular development was established through the morphological and histological description of males ($n = 28$, 0.78 ± 0.14 Kg, 42.1 ± 2.5 cm) captured monthly between August/2020 and October/2021 in the Cauca River Middle (Valdivia, Colombia). Furthermore, semen quality was evaluated in males kept in captivity ($n = 8$, 0.7 ± 0.1 Kg, 40.3 ± 1.3 cm) that matured, were induced with 4 mg carp pituitary extract/Kg weight, and six hours post-induction, the semen was collected and with a computer-assisted analysis system

(CASA) the kinetics, concentration, and duration of sperm motility were evaluated. The *I. longirostris* testes are elongated paired saccular-shaped structures of unrestricted lobular type with cystic development that present four basic stages: immature, maturing, mature, and post-release/regression. Mean values of concentration (10546.4 ± 3344.0 spz/mL), total motility (95.2 ± 3.8 %), total progressivity (72.7 ± 15.3 %), curvilinear velocity (117.6 ± 21.8 μ m/s), linear velocity (70.1 ± 14.3 μ m/s) and duration of motility (39.5 ± 2.5 s) were estimated. The development of testicular maturity and seminal quality of *I. longirostris* is like those reported for other neotropical prochilodontids.

Keywords: gonads, motility, spermatocytes, spermatogonia, spermatozoa

INTRODUCCIÓN

El género transandino *Ichthyocephalus* tiene su origen en el Eoceno (~51,9 millones de años), el cual se diversificó en el Mioceno (~10,2 millones de años) en dos especies *I. humeralis* (Günther, 1860) presente en ríos del Ecuador y *I. longirostris* (Steindachner, 1879) distribuido en ríos de Colombia (Frable et al., 2022). *I. longirostris*, es un characiforme migrador de distancias medias (100-500 Km) de la familia Prochilodontidae, endémica de Colombia, distribuida en las cuencas de los ríos Magdalena-Cauca y Ranchería (Jiménez-Segura et al., 2020; Do Nascimento et al., 2023). Se le conoce comúnmente como pataló, jetudo, hocicón, besote o jetón (Mojica et al., 2012) y es considerado una especie de importancia pesquera en la cuenca Magdalena-Cauca (Sánchez et al., 2000; Galvis y Mojica, 2007; Galvis-Galindo et al., 2011).

En la década de los años 70 sus poblaciones fueron disminuidas por la pesca con métodos ilegales (dinamita) (Dahl 1971, Román-Valencia y Ortiz-Muñoz, 2001). Pero recientemente sus poblaciones están afectadas por la degradación ambiental ocasionada por la deforestación, contaminación inorgánica (minería, agricultura, ganadería) y orgánica (aguas residuales) y embalsamiento de los ríos (Galvis-Galindo et al., 2011; Marrugo-Negrete et al., 2017; Gutiérrez-Moreno y De La Parra-Guerra, 2020) por lo que ha sido categorizada en peligro (Mojica et al., 2012).

El conocimiento de su ecología y en particular sus aspectos reproductivos son escasos. Sin embargo, algunos estudios muestran que los adultos prefieren las quebradas y ríos pequeños de aguas rápidas y claras con temperaturas entre 23 y 25 °C (Román-Valencia y Ortiz-Muñoz, 2001) y pueden alcanzar tallas por encima de 50 cm de longitud total (Dahl, 1971). *I. longirostris* se le considera un detritívoro, con preferencia por el perifiton (Román-Valencia, 1993; Sánchez et al., 2000), cuyas hembras presentan alta fecundidad (> 800.000 ovocitos/hembra), con diámetro promedio de los ovocitos maduros de 0,96 mm y cuatro estados básicos de maduración testicular (inmaduro, madurando, freza y posfreza) (Román-Valencia, 1993). Recientemente se han realizado estudios que sugieren buen estado y alta variabilidad genética en las poblaciones de *I. longirostris* de los ríos Miel (cuenca Magdalena) y Ranchería (Perdomo-Aguirre et al., 2014) y se ha avanzado en estudios sobre su genoma mitocondrial y microsátélites (Landinez-García et al., 2014; Landinez-García y Márquez, 2016).

Ante las limitaciones de información sobre la biología reproductiva de *I. longirostris* es importante profundizar en

su maduración testicular y conocer sus características seminales. Los estudios de maduración testicular, formación del gameto y sus características permiten entender la biología reproductiva, las relaciones filogenéticas y la sistemática (Arantes et al., 2017), así como establecer las épocas y áreas donde realiza su ciclo reproductivo en particular los sitios de maduración y desove (Santos et al., 2006; Khasanah et al., 2019; Felicio et al., 2023). Además esta información es relevante para el desarrollo de tecnologías de reproducción en cautiverio como estrategias de conservación *ex situ* y el establecimiento de bancos de recursos genéticos que contribuyan a la conservación de especies amenazadas o en peligro de extinción como *I. longirostris*. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar el estado de madurez testicular y calidad seminal de *Ichthyocephalus longirostris* de poblaciones del Medio río Cauca.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización y material biológico

Entre agosto/2020 y octubre/2021, en las quebradas La Guamera (7°15'7,063" N, 75°26'16" W, 143,0 msnm, temperatura del agua de $25,4 \pm 1,0$ °C) y Espíritu Santo (7°14'56,267" N, 75°26'16" W, 187,0 msnm, temperatura del agua de $24,0 \pm 0,9$ °C) tributarios del Medio río Cauca (Valdivia, Antioquia, Colombia) se capturaron 36 machos de *I. longirostris* con atarraya de 4 cm de ojo de malla. Con 28 de estos ejemplares se estableció el desarrollo testicular y ocho se adaptaron al cautiverio para analizar su calidad seminal.

Estado de desarrollo testicular

Los machos (n = 28) se pesaron ($0,78 \pm 0,14$ Kg) y midieron ($42,1 \pm 2,5$ cm de longitud total), se colocaron en agua fría (~5°C), previo al sacrificio por punción craneal, luego se disecionaron las gónadas; se les realizó descripción macroscópica y se fijaron en formol 8 % buferado para posteriormente realizar cortes histológicos (3–5 μ m) en la región media del testículo y teñidos con Hematoxilina-Eosina (Arantes et al., 2017). Los cortes fueron analizados con un microscopio óptico (Leica DM500, China) con cámara incorporada (Leica ICC50 W, China) con objetivos entre 4x y 100x. Se siguieron los criterios de diversos autores para establecer el tipo de estructura de los testículos, estado de las células germinales y el estado de maduración gonadal (Freitas et al., 2013; Uribe et al., 2014; Arantes et al., 2017; Zardo et al., 2021).

La manipulación y sacrificio de los animales se realizó de acuerdo con las Normas de Conducta para el Uso de Animales en la Docencia e Investigación de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de Córdoba (Colombia) (Acuerdo 009 de 30 de noviembre de 2021).

Calidad seminal

Los reproductores con los cuales se evaluó la calidad seminal ($n = 8$) fueron capturados en estos mismos sitios y adaptados a cautiverio, por lo menos durante un año en estanques en tierra, a densidad de 1 pez/m², en la Estación Piscícola Santa Cruz (Caucasia, Antioquia, Colombia) localizada a 7°56'28,1"N y 75°08'30,2"W.

Cuando los machos maduraron ($n = 8$, 0,7 ± 0,1 Kg y 40,3 ± 1,3 cm), los cuales a ligera presión abdominal liberaron líquido seminal, fueron inducidos con extracto pituitario de carpa (Argent, USA) a dosis única de 4 mg/Kg de peso vivo (Atencio-García *et al.*, 2015). El semen fue colectado a las seis horas post-inducción, se determinó el volumen en viales (Eppendorf 1,5 mL) y previo a la colecta del semen, la papila urogenital y áreas adyacentes fue secada y limpiada para evitar la contaminación con agua, heces, orina y sangre (França *et al.*, 2020).

De cada macho se tomó una alícuota de 0,25 µL, se colocó en una cámara de conteo Makler (Sefi Medical Instruments, Israel) y se activó con 75 µL de agua destilada y con el sistema de análisis de semen asistido por computador (CASA) (Microptic SL, SCA® VET 6.5, España) y un microscopio óptico de contraste de fase (Nikon, E50i, Japón), se evaluaron parámetros de cinemática espermática como movilidad total (Mt), tipos de movilidad (rápida, media, lenta e inmóviles), progresividad total, velocidades curvilínea (VCL) y lineal (VSL). Se consideró como movilidad rápida al porcentaje de espermatozoide con velocidades mayores a 100 µm/s, movilidad media al porcentaje con velocidades menores de 100 µm/s pero mayor de 50 µm/s y movilidad lenta al porcentaje de espermatozoides con velocidades menores de 50 µm/s (Atencio-García *et al.*, 2021). También se estimaron parámetros de oscilación espermática como amplitud media de desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) y frecuencia de cruzamiento (BCF).

Para la estimación de la duración de la movilidad (Dm) se tomó una alícuota de 0,25 µL de semen y se activó con 75 µL de agua destilada, la duración se midió desde el instante en que se adicionó la solución activadora (agua destilada) hasta que aproximadamente el 90 % de los espermatozoides dejaron de moverse, con ayuda de un cronómetro y un microscopio óptico de contraste de fase (Nikon, E50i, Japón) (Atencio-García *et al.*, 2021).

Para la estimación de la concentración espermática (Ce), 1 µL de semen fue diluido en 699 µL de glucosa 6 % (dilución 1:700); esta dilución fue homogeneizada durante cinco segundos en un vortex a 1200 rpm (Velp Científica, Zxclasic, China). Seguidamente una alícuota de 10 µL se

colocó en cámara Makler (Sefi Medical Instruments, Israel) y la concentración se determinó mediante el sistema CASA (Microptic, SCA®-Vet 6.5, España) (Atencio-García *et al.*, 2021). En todos los casos el semen de cada macho fue evaluado por triplicado para obtener un valor promedio de cada parámetro analizado.

Análisis estadístico

El estudio es de tipo descriptivo y todos los parámetros de calidad espermática fueron expresados como media ± desviación estándar.

RESULTADOS

Los testículos de *I. longirostris* son estructuras pares alargadas, con formas cilíndricas, que se ubican en posición ventral al riñón, sobre la vejiga gaseosa y dorsalmente al tracto digestivo; libres en la porción anterior y media, presentando la arteria nutricia en el centro de la gónada la cual lleva los nutrientes a las gónadas. Cuando los testículos de *I. longirostris* están maduros alcanzan su máximo tamaño y peso, son de color blanco brillante y la irrigación sanguínea es visible; en esta fase a ligera presión abdominal liberan semen. La forma, peso y tamaño de los testículos de *I. longirostris* varían durante los diferentes estados del desarrollo gonadal. El compartimento germinal está formado por lóbulos que se extienden hacia la periferia del testículo y con espermatogonias a lo largo del lóbulo; por lo que su estructura es lobular espermatogonial no restringida.

El desarrollo de las células germinales mostró cuatro estados: espermatogonias (primarias y secundarias), espermatocitos (primarios y secundarios), espermatidas y espermatozoides. Las espermatogonias primarias (EPG 1) son las células primordiales y de mayor tamaño, que se localizan siempre libres, pero asociadas entre sí a una o varias células císticas durante todo el ciclo espermatogénico, periférica a todo lo largo del túbulo seminífero. Las espermatogonias secundarias (EPG 2) son muy similares a las primarias, pero se caracterizan por ser de menor tamaño, encontradas siempre en nidos de dos a cuatro células, con la particularidad de presentar dos nucléolos, siendo muy activas en los estadios de regresión y reposo.

Los espermatocitos primarios (EPC 1) sufren la primera división meiótica; mientras que los espermatocitos secundarios (EPC 2), se caracterizan por ser de menor tamaño que los EPC 1. Las espermatidas (EPD), son células haploides resultado de la segunda división meiótica de EPC 2. Los espermatozoides (Z) son las células más pequeñas del linaje, se forman a partir de la EPD al completarse la espermiogénesis, se caracteriza por presentar un núcleo completamente redondo y un flagelo alargado.

En el presente estudio con base en criterio macroscópicos e histológicos de testículos se establecieron cuatro estados de maduración básicos: a) inmaduro, b) en maduración,

en este estado se observaron dos subestadios (temprano y avanzado), c) maduro y d) post-liberación/regresión).

Inmaduro

En los machos inmaduros ($n=2$, $38,5 \pm 3,5$ cm de Lt, $0,63 \pm 0,14$ Kg) los testículos se observan como estructuras delgadas con apariencia de hilos de color blanco y peso de $0,26 \pm 0,01$ g. El largo de los testículos es similar a la longitud de la cavidad abdominal. La irrigación periférica no es evidente, pero la arteria nutricia es visible (Fig. 1a). Microscópicamente se observa que predominan las espermatogonias primarias y secundarias, las cuales se ubican en la periferia de los lóbulos seminíferos, los cuales tienen poco lumen y el tejido conjuntivo es grueso (Fig. 1b).

En maduración temprana

En los machos en maduración temprana ($n = 2$, $38,5 \pm 3,0$ cm de Lt, $0,66 \pm 0,13$ Kg) los testículos muestran un aumento del peso ($0,35 \pm 0,1$ g) con respecto al estado anterior, el blanco es más intenso, con la envoltura testicular con mayor consistencia (Fig. 2a). Microscópicamente se observa prevalencia de los espermatoцитos primarios y secundarios, hay presencia de algunas espermatogonias primarias y secundarias. Se observó poco lumen y el tejido conjuntivo es más delgado. También se observan algunos vasos sanguíneos (Fig. 2b).

En maduración avanzada

En los machos en maduración avanzada ($n = 3$, $40,3 \pm 2,3$ cm de Lt, $0,66 \pm 0,09$ Kg) los testículos tienen mayor volumen y el peso ($0,9 \pm 0,4$ g) se incrementa casi 2,5 veces con respecto al estado anterior, el color blanco es más intenso, es más evidente la irrigación sanguínea. La envoltura testicular es más consistente y compacta (Fig. 3a). Microscópicamente, predominan las espermátidas, pero

también se observan cistos de espermatoцитos primarios y secundarios, además se observa la fusión de algunos lóbulos seminíferos y la presencia de espermatoцитos libres en el lumen (Fig. 3b).

Maduro

En los machos maduros ($n = 6$, $41,9 \pm 2,7$ cm de Lt, $0,79 \pm 0,14$ Kg) los testículos alcanzan su máximo peso ($1,5 \pm 0,5$ g) y volumen, ocupando mayor espacio en la cavidad abdominal. Los testículos se caracterizan por presentar coloración blanca brillante y aspecto cremoso, se observa alta irrigación sanguínea periférica (Fig. 4a). Microscópicamente, predomina la fusión completa de los lóbulos seminíferos (anastomosis) y tejido conjuntivo delgado. Los lóbulos seminíferos y los conductos espermáticos se observan llenos de espermatoцитos (Fig. 4b).

Post-liberación/Regresión

En los machos en este estado ($n = 15$, $42,6 \pm 2,5$ cm de Lt, $0,80 \pm 0,15$ Kg) los testículos se observan flácidos y con reducción del volumen y peso ($0,5 \pm 0,08$ g) con relación al estado anterior, presentan aspecto transparente y la irrigación periférica disminuye (Fig. 5a). Microscópicamente,

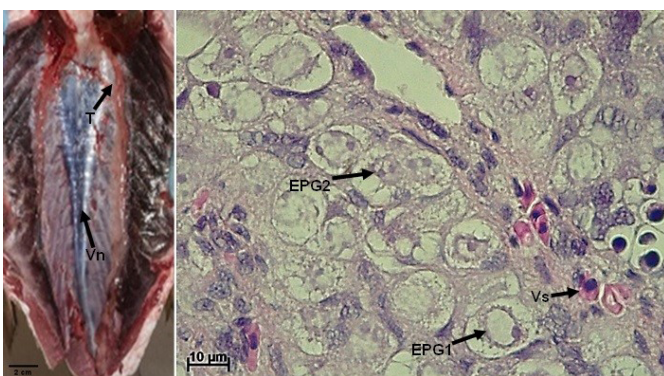


Figura 1. Testículo inmaduro de *Ichthyoelephas longirostris* a) vista macroscópica y b) vista microscópica, corte transversal, objetivo 100x. T, testículos; Vn, vejiga natatoria; EPG1, espermatogonias primarias; EPG2, espermatogonias secundarias; Vs, vaso sanguíneo.

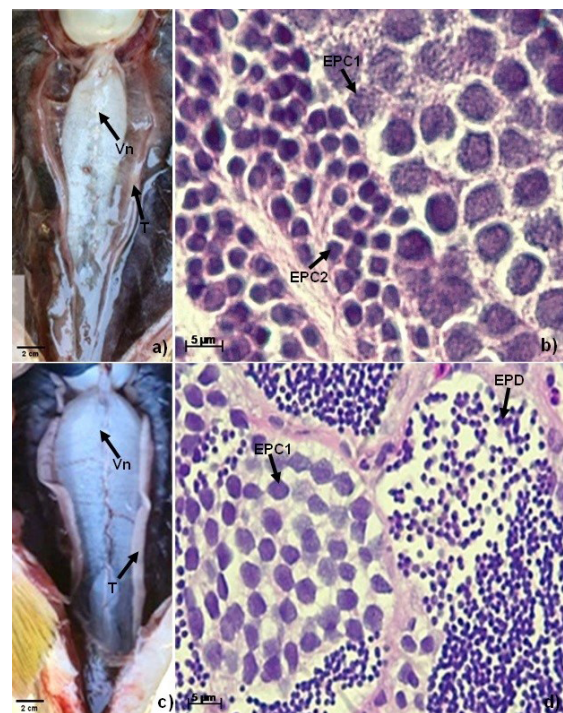


Figura 2. Testículo en maduración temprana de *Ichthyoelephas longirostris* a) vista macroscópica, b) vista microscópica, corte transversal, objetivo 100x y testículo en maduración avanzada c) vista macroscópica, d) vista microscópica, corte transversal, objetivo 100x. T, testículos; Vn, vejiga natatoria; EPC1, espermatoцитos primarios; EPC2, espermatoцитos secundarios, EPD, espermátidas.

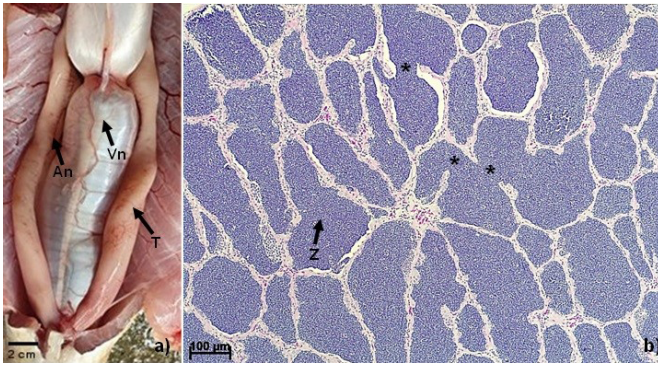


Figura 3. Testículo maduro de *Ichthyoelephas longirostris*. a) vista macroscópica y b) vista microscópica, corte transversal, objetivo 40x. An, Arteria nutriticia; Vn, vejiga natatoria; T, testículos; Z, espermatozoides; asteriscos, anastomosis lobular.

los lóbulos se observan de forma irregular, vacíos con presencia de pocos espermatozoides. En algunos casos se observa espermatogonias primarias y cistos de espermatocitos primarios. Se observa el engrosamiento del tejido conjuntivo (Fig. 5b).

La tabla 1, presenta los valores promedio de parámetros de calidad seminal de *I. longirostris*. El volumen seminal obtenido fue de $0,2 \pm 0,1$ mL, con concentración de $10546,4 \times 106 \pm 3344,0 \times 106$ spz/mL. La cinética espermática muestra una alta movilidad total ($95,2 \pm 3,8\%$) con una duración media de $39,5 \pm 2,5$ s. Además, predominaron los espermatozoides con movilidad rápida ($65,9 \pm 18,5\%$), con alta progresividad total ($72,7 \pm 15,3\%$) y bajo porcentaje de espermatozoides inmóviles ($4,8 \pm 3,8\%$). La velocidad curvilínea (VCL) osciló entre 143,1 y 75,1 $\mu\text{m/s}$ ($117,6 \pm 21,8 \mu\text{m/s}$); mientras que la velocidad lineal (VSL) entre 84,2 y 42,7 $\mu\text{m/s}$ ($70,1 \pm 14,3 \mu\text{m/s}$). Los índices de oscilación espermática registraron una amplitud lateral de la cabeza (ALH) de $1,7 \pm 0,21 \mu\text{m}$ y una frecuencia de cruzamiento (BCF) de $11,8 \pm 0,8$ Hz.

Tabla 1. Calidad seminal de *Ichthyoelephas longirostris* (n = 8) del Medio río Cauca mantenido en cautiverio. Ce, concentración espermática; Mt, movilidad total; Dm, duración de la movilidad total; Pt, progresividad total; Mr, movilidad rápida; Mm, movilidad media; MI, movilidad lenta; In, inmóviles; VCL, velocidad curvilínea; VSL, velocidad lineal; ALH, desplazamiento lateral de la cabeza BCF, frecuencia de cruzamiento.

Parámetro	Valor
Volumen (mL)	$0,2 \pm 0,1$
Ce ($\times 10^6$ spz/mL)	$10546,4 \pm 3344,0$
Dm (s)	$39,5 \pm 2,5$
Mt (%)	$95,2 \pm 3,8$
Pt (%)	$72,7 \pm 15,3$
Mr (%)	$65,9 \pm 18,5$
Mm (%)	$16,7 \pm 8,7$

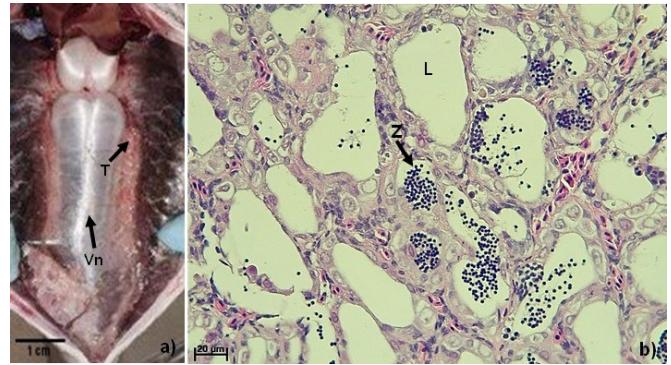


Figura 4. Testículo en post-liberación/regresión de *Ichthyoelephas longirostris*. a) vista macroscópica y b) vista microscópica, corte transversal, objetivo 40x. Z, espermatozoides; L, Lumen.

Parámetro	Valor
MI (%)	$12,5 \pm 7,3$
In (%)	$4,8 \pm 3,8$
VCL ($\mu\text{m/s}$)	$117,6 \pm 21,8$
VSL ($\mu\text{m/s}$)	$70,1 \pm 14,3$
ALH (μm)	$1,7 \pm 0,2$
BCF (Hz)	$11,8 \pm 0,8$

DISCUSIÓN

Los testículos de *I. longirostris* son órganos pareados cuya estructura es la predominante en los teleosteos, excepto en los atherinomórfidos (Schulz y Miura, 2002; Uribe *et al.*, 2014); la cual se caracteriza por estar cubiertos por una capa de tejido conjuntivo (túnica albúgina) y los lóbulos seminíferos se extienden a la periferia donde finaliza el extremo ciego. Por otro lado, debido a que las espermatogonias (primarias y secundarias) se encuentran a lo largo de los lóbulos seminíferos, entonces, los testículos de *I. longirostris* son del tipo lobular espermatogonial no restringido. Este tipo de distribución no restringido de las espermatogonias es considerado un patrón común en los órdenes Characiformes, Salmoniformes y Cypriniformes (Parenti y Grier, 2004; Schultz *et al.*, 2010).

Además, el análisis morfológico de las células germinales indican que el desarrollo de maduración testicular de *I. longirostris* se puede dividir en cuatro estados básicos (inmaduro, en maduración, maduro y post-liberación/regresión), que coincide con los estados reportados para macho de *I. longirostris* en el Alto río Cauca (Román-Valencia, 1993) y otros prochilodóntidos como *Prochilodus lineatus* (Perini *et al.*, 2013), *Prochilodus argenteus* (Domingos *et al.*, 2013). Sin embargo, en el presente estudio, la fase en maduración de *I. longirostris*, fue posible diferenciarla en dos subestadios (temprana y avanzada). Asimismo, la formación de las células

germinativas (espermatogonias, espermatocitos, espermátidas y espermatozoides) de *I. longirostris*, coinciden con los descritos para otros prochilodóntidos como *Prochilodus scrofa* (Kavamoto et al., 1998); *Prochilodus argenteus* (Domingos et al., 2013), *Prochilodus lineatus* (De Melo Dias et al., 2017) y *Prochilodus magdalenae* (Montes-Petro, 2018). En general son las fases de desarrollo del espermatozoide en los teleósteos (Freitas et al., 2013; Uribe et al., 2014; De Paiva-Camargo et al., 2017; Dos Santos et al., 2019; Rizzo y Bazzoli, 2020).

Por otra parte, los resultados muestran que la espermatogénesis de *I. longirostris* es del tipo quística; es decir todo el proceso espermatogénico, desde la proliferación de las espermatogonias hasta la diferenciación de las espermátidas en espermatozoides, ocurre dentro de los quistes y los espermatozoides son liberados a la luz de los lóbulos seminíferos. Este tipo de espermatogénesis propia de los vertebrados anamniotas (peces y anfibios), se considera tienen bajo porcentaje de apoptosis de células germinales y en consecuencia un alto rendimiento espermatogénico (Schulz et al., 2010).

En los machos, una de las disfunciones reproductivas más comunes del cautiverio es el bajo volumen y la disminución de la calidad seminal (Valdevenito, 2008; Mylonas et al., 2010; Atencio-García et al., 2014); por tanto, la aplicación de inductores hormonales se utiliza para incrementar la producción de líquido seminal (Mylonas et al., 2010). El volumen seminal ($0,2 \pm 0,1$ mL) de *I. longirostris*, colectado después de seis horas de la aplicación de la inducción hormonal, se podría considerar bajo con relación al volumen reportado para machos de *Prochilodus magdalenae* criados completamente en cautiverio ($1,3-2,3$ mL) (Atencio-García et al., 2013; 2021), *Prochilodus vimbooides* ($1,0 \pm 0,4$ mL) (França et al., 2020). Sin embargo, los parámetros de calidad seminal, incluido el volumen, pueden diferir significativamente entre especies e incluso entre individuos de una misma especie (Kowalski y Cejko, 2019).

La movilidad y las velocidades son los parámetros más utilizados para evaluar la calidad seminal en los peces (Rurangwa et al., 2004; Gage et al., 2004; Kowalski y Cejko, 2019) debido a que se ha comprobado la relación entre el porcentaje de movilidad con la capacidad fecundante del espermatozoide (Gallego y Asturiano, 2018). Se considera un semen de buena calidad, en peces, cuando la movilidad es mayor al 80 % (Kowalski y Cejko, 2019). Entonces a pesar de que se registró bajo volumen seminal la movilidad total de *I. longirostris* se estimó por encima del 80 %, lo cual sugiere que los machos se adaptaron bien al cautiverio y produjeron semen de buena calidad. Pero es necesario, mayores estudios para incrementar el bajo volumen seminal.

Asimismo, la progresividad total, tipos de movilidad y las velocidades espermáticas (Tabla 1) se encuentran en el rango reportado para otros prochilodóntidos como *Prochilodus magdalenae* (Atencio-García et al., 2013; 2015; 2021), *Prochilodus lineatus* (Di Chiacchio et al., 2017), *Prochilodus brevis* (Torres et al., 2022). También son similares a los reportes

en otros characiformidos, como *Brycon moorei* (Atencio-García et al., 2017) y *Brycon henni* (Pineda-Santis et al., 2015).

En los peces dulceacuícolas de fertilización externa, el tiempo de activación del semen es muy corto, por lo general menos de 60 segundos (Martínez y Pardo-Carrasco, 2010; Atencio García et al., 2015). En el presente estudio la duración de la movilidad de *I. longirostris* ($39,5 \pm 2,5$ s) también se encontró dentro del rango reportado para los peces migratorios continentales del neotrópico (Murgas et al., 2007).

La concentración espermática de *I. longirostris* ($10546,4 \pm 3344,0 \times 10^6$ spz/mL) es propia de peces con estrategia reproductiva periódica (r2), que invierten mucha energía en productos sexuales y no realizan cuidado parental y es similar a la concentración espermática reportada para characiformidos migratorios del neotrópico como *Prochilodus magdalenae* ($18524,0 \pm 3452,4 \times 10^6$ spz/mL) (Atencio-García et al., 2013) y *Brycon moorei* ($12393,1 \pm 1486,8 \times 10^6$ spz/mL) (Atencio-García et al., 2017).

Los índices de oscilación como frecuencia de cruzamiento (BCF = $11,8 \pm 0,8$ Hz) y amplitud lateral de la cabeza (ALH = $1,7 \pm 0,2$ μ m) del espermatozoide *I. longirostris*; fueron similares a los reportados para peces de agua dulce como *Prochilodus magdalenae* (BCF = $10,4 \pm 0,6$ Hz, ALH = $1,6 \pm 0,1$ μ m) (Madariaga-Mendoza et al., 2023), *Prochilodus lineatus* (BCF= 9.0 ± 2.0 Hz) (Motta et al., 2022), *Brycon henni* (ALH= $2,3 \pm 0,4$ μ m) (Pineda-Santis et al., 2015), *Pseudoplatystoma magdaleniatum* (BFC = $9,2 \pm 1,7$ Hz, ALH = $1,4 \pm 0,2$ μ m) (Gallego-Ríos et al., 2021) y *Cyprinus carpio* (BCF= $9,8-10,7$ Hz, ALH= $1,2$ μ m) (Cejko et al., 2013). El presente estudio es el primer reporte de parámetros de cinemática espermática (movilidad total, tipos de movilidad, progresividad y velocidades), duración de la movilidad y concentración espermática de *I. longirostris* y en general los valores se encontraron dentro del rango reportado para peces de agua dulce del neotrópico.

Los resultados sobre la calidad seminal de *I. longirostris* del presente estudio, son relevantes para el desarrollo de tecnologías de reproducción en cautiverio, protocolos de criopreservación que permitan el almacenamiento y conservación de material genético de una especie en peligro de extinción como *I. longirostris*.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio permiten concluir que *I. longirostris* presenta un desarrollo testicular de cuatro estados básicos: inmaduro, en maduración, maduro, post-liberación/regresión. El estado en maduración fue posible subdividirlo en dos: en maduración temprana, en los que predominan los espermatocitos y en maduración avanzada, en los que predominan las espermátidas. Además los parámetros de cinética espermática como movilidad, tipos de movilidad, progresividad, velocidades y oscilación espermática de *I. longirostris* son similares a los reportados para

otros characiformes migradores del neotrópico en particular los prochilodóntidos.

PARTICIPACIÓN DE AUTORES

CMP: toma de datos, análisis de calidad seminal y escritura del documento, JYE: toma de datos, análisis de datos y redacción del manuscrito, CTP: toma de datos, análisis de maduración testicular y redacción del manuscrito, DMM: toma de datos, análisis de maduración testicular y redacción del manuscrito, JEA: diseño, análisis de datos, apoyo y revisión de la redacción del manuscrito, VA-G: diseño, análisis de datos, apoyo y revisión de la redacción del manuscrito.

AGRADECIMIENTOS

A Empresas Públicas de Medellín (EPM) por la financiación de la presente investigación en el marco del Convenio EPM-Unicórdoba (CT 2019-000636).

CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés con respecto al trabajo presentado en este manuscrito.

REFERENCIAS

- Arantes, F., Silva, F., Dos Santos, J., Rizzo, E., Sato, Y. and Bazzoli, N. (2017). Comparative morphology of gonads from six species of fish belonging to the family Anostomidae (Characiformes: Anostomidae). *Rev Biol Trop*, 65(2), 713-723. <https://doi.org/10.15517/rbt.v65i2.23988>
- Atencio-García, V., Pérez, E., Espinosa-Araujo, J. y Pardo-Carrasco, S. (2013). Evaluación de dimetilacetamida como crioprotector para la crioconservación de semen de bocachico *Prochilodus magdalenae*. *Rev MVZ Córdoba*, 45(2), 151-158. <https://doi.org/10.15446/abc.v19n2.41288>
- Atencio-García, V. J., Dorado, M., Navarro, E., Pérez, F., Herrera, B., Movilla, J., and Espinosa-Araujo, J. (2014). Evaluation of ethylene glycol as a cryoprotectant in the sperm cryopreservation of trans-andean shovelnose catfish (*Sorubim Cuspicaudus*, Pimelodidae). *Acta Biol Colomb*, 19(2):271-279. <https://doi.org/10.15446/abc.v19n2.41288>
- Atencio-García, V. J., Espinosa-Araujo, J. A., Martínez, J. G., y Pardo-Carrasco, S. C. (2015). Insemination of bocachico fish (*Prochilodus magdalenae*) with fresh or cryopreserved semen: effect of spermatozoa/oocyte ratio. *Rev Colomb Cienc Pecu*, 28(4), 347-355. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v28n4a07>
- Atencio-García, V., Dorado Longas, M., Montes-Prito, C., Prieto-Guevara, M. y Espinosa-Araujo, J. (2017). Crioconservación semen de dorada *Brycon moorei* con dimetilsulfóxido. *Rev Colomb de Biotecnol*, 19(2), 81-88. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v19n2.59987>
- Atencio-García, V., Cabrales-Hessen, S. S. y Espinosa-Araujo, J. A. (2021). Efecto de etilenglicol y leche en polvo en la crioconservación de semen de bocachico *Prochilodus magdalenae*. *Rev Colomb Biotecnol*, 23(2), 25-35. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v23n2.91188>
- Cejko, B. I., Sarosiek, B., Kowalski, R., Krejszeff, S. and Kucharczyk, D. (2013). Application of computer-assisted sperm analysis in selecting the suitable solution for common carp, *Cyprinus carpio* L, sperm motility. *Journal of the World Aquaculture Society*, 4(3), 466-472. <https://doi.org/10.1111/jwas.12043>
- Dahl, G. (1971). Los peces del norte de Colombia. Bogotá: Ministerio de Agricultura, Instituto de Desarrollo de los Recursos Naturales Renovables (INDERENA), p. 391.
- De Paiva-Camargo, M., Cassel, M., De Jesús, L. W., Nóbrega, R. H., y Borella, M. I. (2017). Characterization of undifferentiated spermatogonia and the spermatogonial niche in the lambari fish *Astyanax altiparanae*. *Theriogenology*, 96, 97-102. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.03.027>
- Di Chiacchio, I. M., Almeida, I. L. G., Leal, M. C. and Viveiros, A. T. M. (2017). Sperm quality and its freezing ability throughout the spawning season in *Prochilodus lineatus* and *Brycon orbignyanus*. *Theriogenology*, 90, 284-288. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.12.011>
- De Melo Dias, G. C., Cassel, M., Oliveira De Jesus, L. W., Batlouni, S. R. and Borella, M. I. (2017). Spermatogonia, Germline Cells, and Testicular Organization in the Characiform *Prochilodus lineatus* Studied Using Histological, Stereological, and Morphometric Approaches. *Anat Rec (Hoboken)*, 300(3), 589-599. <https://doi.org/10.1002/ar.23505>
- DoNascimento, C., Agudelo-Zamora, H. D., Bogotá-Gregory, J. D., Méndez-López, A., Ortega-Lara, A., Lasso, C. A., Cortés-Hernández, M., Albornoz-Garzón, J. G., Villa-Navarro, F. A., Netto-Ferreira, A. L., Lima, F. C. T., Thomaz, A. and Arce-Hernández, M. (2023): Lista de especies de peces de agua dulce de Colombia / Checklist of the freshwater fishes of Colombia. v2.16. Asociación Colombiana de Ictiólogos. Dataset/Checklist. <https://doi.org/10.15472/numrso> <https://doi.org/10.15472/numrso>
- Domingos, F. F. T., Thomé, R. G., Martinelli, P. M., Sato, Y., Bazzoli, N. and Rizzo, E. (2013). Role of HSP70 in the regulation of the testicular apoptosis in a seasonal breeding teleost *Prochilodus argenteus* from the São Francisco River, Brazil. *Microsc Res Tech*, 76(4), 350-356. <https://doi.org/10.1002/jemt.22173>
- Dos Santos, J. E., Marcon, L., Guedes-Brito, M. F., Sales, N., Rizzo, E. and Bazzoli, N. (2019). Reproductive biology of the Neotropical catfish *Iheringichthys labrosus* (*Siluriformes: Pimelodidae*), with anatomical and morphometric analysis

- of gonadal tissues. *Animal Reproduction Science*, 209, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106173>
- Felicio, G. R., Cordeiro, J. G., Dutra-Costa, B. P., Maximino, C., Branco, G. S., Quirino, P. P. and Siqueira-Silva, D. H. (2023). Gonadal characterization of the Amazonian fish *Serrapinnus kriegi* (Characidae: Cheirodontinae). *Brazilian Journal of Biology*, 83, e249158. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.249158> <https://doi.org/10.1590/1519-6984.249158>
- Frable, B. W., Melo, B. F., Fontenelle, J. P., Oliveira, C. and Sidlauskas, B. L. (2022). Biogeographic reconstruction of the migratory Neotropical fish family Prochilodontidae (Teleostei: Characiformes). *Zoologica Scripta*, 51(3), 348–364. <https://doi.org/10.1111/zsc.12531>
- França, T. S., Motta, N. C., Egger, R. C., Oliveira, A. V. and Murgas, L. (2020). Impact of activation solutions on fresh and frozen-thawed sperm motility and fertilization success for two species of migratory freshwater fishes. *Theriogenology*, 149, 6-15. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.03.016>
- Freitas, L. J. A., Prado, P. S., Arantes, F. P., Santiago, K. B., Sato, Y., Bazzoli, N. and Rizzo, E. (2013). Reproductive biology of the characid dourado *Salminus franciscanus* from the São Francisco River, Brasil. *Animal Reproduction Science*, 139(1-4), 145-154. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.03.013>
- Gage, M. J. G., MacFarlane, C. P., Yeates, S., Ward, R. G., Searle, J. B. and Parker, G. (2004). Spermatozoal traits and sperm competition in Atlantic salmon: relative sperm velocity is the primary determinant of fertilization success. *Current Biology*, 14(1), 44-47. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2003.12.028>
- Galvis, G. and Mojica, J. (2007). The Magdalena River fresh water fishes and fisheries. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, 10(2), 127-139. <https://doi.org/10.1080/14634980701357640>
- Galvis-Galindo, I., Jiménez-Segura, L. F., González-Canon, G., Nieto-Torres, S., López-Casas, S., Valderrama Barco, M. and Alvarez-León, R. (2011). *Ichthyoelephas longirostris* (Characiformes, Prochilodontidae) Capítulo 7. pp.301-304. En: Lasso, C.A., Agudelo Cordoba, E., Jimenez-Segura, L. F., Ramirez-Gil, H., Morales-Betancourt, M., Ajiaco-Martinez, R. E., Gutierrez F. de Paula, Usma Oviedo, J. S., Munoz Torres S. E. y. Sanabria Ochoa, A.I (Eds.). Catálogo de los recursos pesqueros continentales de Colombia. IAvH: Bogotá, 715 pp.
- Gallego, V. and Asturiano, J. F. (2018). Sperm motility in fish: technical applications and perspectives through CASA-Mot systems. *Reproduction, Fertility and Development*, 30(6), 820-832. <https://doi.org/10.1071/RD17460>
- Gallego-Rios, S. E., Atencio-García, V. J. and Peñuela, G. A. (2021). Effect of ibuprofen in vivo and in vitro on the sperm quality of the striped catfish *Pseudoplatystoma magdaleniatum*. *Environ Sci Pollut Res*, 28(10), 36133-36141. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13245-6>
- Gutiérrez-Moreno, L. y De la Parra-Guerra, A. (2020). Contaminación en la cuenca del río Magdalena (Colombia) y su relación con los peces. En: Jiménez-Segura L, Lasso C, editores. XIX. Peces de la cuenca del río Magdalena, Colombia: diversidad, conservación y uso sostenible. Bogotá, D.C: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, p. 239-263.
- Jiménez-Segura, L., Herrera-Pérez, J., Valencia-Rodríguez, D., Castaño-Tenorio, I., López-Casas, S., Rios, M. I., Rondón-Martínez, Y. F., Rivera-Coley, K., Morales, J., Arboleda, M., Muñoz-Duque, S., Atencio, V., Galeano-Moreno, A. F., Valbuena, R., Escobar, J., Ospina-Pabón, J., García-Melo, L., Gualtero, D., Alonso, J. C. y Restrepo-Santamaria, D. (2020). Ecología e historias de vida de los peces en la cuenca del río Magdalena, Colombia. En: Jiménez-Segura, L. y C. A. Lasso (Eds.). Peces de la cuenca del río Magdalena, Colombia: diversidad, conservación y uso sostenible. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt. Bogotá. p. 159-203. DOI: 10.21068/B2020RRHHXIX04
- Kavamoto, E. T., Narahara, M. Y. and De Andrade-Talmelli, E. F. (1998). Mudanças morfológicas dos testículos de curimatá *Prochilodus scrofa* (Steindachner) (Teleostei, Prochilodontidae), submetido à indução hormonal. *Revta Bras Zool*, 15(1), 109–115. <https://doi.org/10.1590/S0101-81751998000100008>
- Kowalski, R. K. and Cejko, B. I. (2019). Sperm quality in fish: Determinants and affecting factors. *Theriogenology*, 135, 94-108. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.06.009>
- Khasanah, M., Kadir, N. and Jompa, J. (2019). Reproductive Biology of Three Important Threatened/Near-Threatened Groupers (*Plectropomus leopardus*, *Epinephelus polyphkadion* and *Plectropomus areolatus*) in Eastern Indonesia and Implications for Management. *Animals*, 9(9), 643. <https://doi.org/10.3390/ani9090643> <https://doi.org/10.3390/ani9090643>
- Landínez-García, R., Alzate, J. F. and Márquez, E. J. (2014). Mitochondrial genome of the Neotropical trans-Andean fish *Ichthyoelephas longirostris*, *Steindachner* 1879 (Characiformes, Prochilodontidae). *Mitochondrial DNA*, 27(3), 2194-2195. <https://doi.org/10.3109/19401736.2014.982622>
- Landínez-García, R. M. and Márquez, E. J. (2016). Development and characterization of 24 polymorphic microsatellite loci for the freshwater fish *Ichthyoelephas longirostris* (Characiformes: Prochilodontidae). *PeerJ* 4:e2419. <https://doi.org/10.7717/peerj.2419>
- Madariaga-Mendoza, D., Marrugo-Negrete, J. and Atencio-García, V. (2023). Effect of inorganic mercury on semen

- quality, embryo and larval development of bocachico *Prochilodus magdalenae*. *Fishes*, 8(445), 1-13. <https://doi.org/10.3390/fishes8090445>
- Martínez, J. y Pardo-Carrasco, S. (2010). Crioconservación de semen en peces: efectos sobre la movilidad espermática y la fertilidad. *Acta Biol Colomb*, 15(2), 3-24.
- Marrugo-Negrete, J., Pinedo-Hernández, J. and Díez, S. (2017). Assessment of heavy metal pollution, spatial distribution and origin in agricultural soils along the Sinú River Basin, Colombia. *Environmental Research*, 154, 380-388. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.01.021>
- Mojica, J., Usma, J., Lasso, C., Sánchez, P. y Álvarez, R. (2012). Libro rojo de peces dulceacuícolas de Colombia. Bogotá, Colombia. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Colombia, WWF Colombia y Universidad de Manizales, p. 104-105.
- Montes-Petro, C. (2018). Evaluación del desempeño reproductivo del bocachico (*Prochilodus magdalenae*) (Steindachner 1878), en cautiverio mediante predictores tempranos de calidad espermática y ovocitaria [Tesis de Maestría]. Universidad de Córdoba.
- Motta, N. C., Egger, R. C., Monteiro, K. S., de Oliveira, A. V. and Murgas, L. D. S. (2022). Effects of melatonin supplementation on the quality of cryopreserved sperm in the neotropical fish *Prochilodus lineatus*. *Theriogenology*, 179, 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.11.012>
- Murgas, L., Miliorini, A., Freitas, R. T. and Machado, G. J. (2007). Criopreservação do sêmen de curimba (*Prochilodus lineatus*) mediante adição de diferentes diluidores, ativadores e crioprotectores. *R. Bras. Zootec*, 36(6), 526-531. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007000300002>
- Mylonas, C. C., Fostier, A. and Zanuy, S. (2010). Broodstock management and hormonal manipulation of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 516-534. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.007>
- Parenti, L. R. and Grier, H. J. (2004). Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. *Integr. Comp. Biol*, 44(5), 333-348. <https://doi.org/10.1093/icb/44.5.333>
- Perini, V. R., Paschoalini, A. L. and Cruz, C. K. F. (2013). Profiles of sex steroids, fecundity and spawning of a migratory characiform fish from the Paraguay-Paraná basin: a comparative study in a three-river system. *Fish Physiol Biochem*, 39, 1473-1484 <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9800-z> <https://doi.org/10.1007/s10695-013-9800-z>
- Perdomo-Aguirre, Y. A., Cruz-Flor, W. R., Espinosa-León, L. P., y Carrillo-Ávila, M. (2014). Caracterización genética de *Ichthyoelephas longirostris* de los ríos La Miel y Ranchería usando marcadores microsatélites. *Orinoquía*, 18(1), 173-182. <https://doi.org/10.22579/20112629.368>
- Pineda-Santis, H., Gómez-Oquendo, J., Montoya-Páez, J., Acevedo-Villa, O., Restrepo-Betancour, G. and Toro-Rendon, V. (2015). Crioconservación de semen y calidad espermática en sabaleta *Brycon henni* (Pisces: Characidae). *Orinoquía*, 19(2), 166-173. <https://doi.org/10.22579/20112629.316>
- Rizzo, E. and Bazzoli, N. (2020). Reproduction and embryogenesis. *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*, 287-313. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815872-2.00013-0>
- Román-Valencia, C. (1993). Historia natural del jetudo *Ichthyoelephas longirostris* (Steindachner, 1879) (Pisces, Prochilodontidae) en la Cuenca del río la Vieja, Alto Cauca, Colombia. *Brenesia*, 30(40), 71-80.
- Román-Valencia, C. y Ortiz-Muñoz, V. (2001). Sobre la reproducción de *Ichthyoelephas longirostris* (Pisces, Prochilodontidae) en la cuenca del río Magdalena, Colombia. *Dahlia—Rev Asoc Colomb Ictiol*, 4, 33-35.
- Rurangwa, E., Kime, D. E., Ollevier, F. and Nash, J. P. (2004). The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, 234(1-4), 1-28. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.12.006>
- Sánchez, M., León, V. y Reyes, W. (2000). Evaluación de la pesca de especies nativas en el alto río Magdalena, departamento del Huila (Colombia). *Actualidades Biológicas*, 22(73), 15-223. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.329657>
- Santos, J. E., Padilha, G. E. V., Bomcompagni, Jr. O., Santos, G. B., Rizzo, E. and Bazzoli, N. (2006). Ovarian follicle growth in the catfish *Iheringichthys labrosus* (Siluriformes: Pimelodidae). *Tissue and Cell*, 38(5), 303-310. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2006.07.002>
- Schulz, R. W., França, L. R., Lareyre, J. J., LeGac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R. H. and Miura, T. (2010). Spermatogenesis in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 390-411. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.013>
- Schulz, R. W. and Miura, T. (2002). Spermatogenesis and its endocrine regulation. *Fish Physiology and Biochemistry*, 26, 43-56. <https://doi.org/10.1023/A:1023303427191>
- Torres, T. M., de Almeida-Monteiro, P. S., do Nascimento, R. V., Pereira, V. A., Ferreira, Y. M., Lobato, J. S., Pinheiro, R. R., Sales, Y. S., Montenegro, A. R. and Salmito-Vanderley, C. S. (2022). Sperm cryopreservation of *Prochilodus brevis* using different concentrations of non-permeable cryoprotectants. *Anim Reprod*, 19(1), e20210083. <https://doi.org/10.1590/1984-3143-ar2021-0083>
- Uribe, M. C., Grier, H. I. and Mejía-Roa, V. (2014). Comparative testicular structure and spermatogenesis in bony fishes. *Spermatogenesis*, 4(3), 1-13. <https://doi.org/10.4161/21565562.2014.983400>

Valdevenito, I. (2008). Terapias hormonales utilizadas en el control artificial de la madurez sexual en peces de cultivo: una revisión. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 40(2), 115-123. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2008000200002>

Zardo, É. L., Fornari, D. C., Gioria, J., Rotili, D. A., Gomes, I. C., Esquivel-Muelbert, J. R., and Streit, D. P. (2021).

Gonadal development period and sexual differentiation through histological analysis in *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1850) (Characiformes: Bryconidae). *Aquaculture*, 539, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736636>