

Calidad del semen en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) lote Michoacano, a finales de su periodo reproductivo

Castro-Castellón A*, González-Villaverde P, Cortés-García A**, Martínez-Regalado D, Jiménez-Valencia J.

Laboratorio de Reproducción Genética y Sanidad Acuícola. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calzada del Hueso No. 1100, Col. Villa Quietud, C.P. 04960, Coyoacán, Ciudad de México. Licenciatura en Biología. Módulo Historias de Vida.

Email: responsables: **acortes@correo.xoc.uam.mx; *19andrescc@gmail.com *

RESUMEN

El centro acuícola el Zarco se dedica a la producción de truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), cuya época reproductiva es de septiembre a febrero, por lo tanto, la calidad de gametos influye en el porcentaje de fecundación. El objetivo de esta investigación es evaluar la calidad del semen utilizando muestras de reproductores del lote Michoacano a finales de su periodo reproductivo. Se seleccionaron siete machos y una hembra con edad promedio de tres años; fueron sedados con anestésicos económicos, una vez anestesiados se obtuvieron medidas biométricas de cada organismo, así como la extracción del semen mediante una ligera presión abdominal. Se realizaron pruebas cuantitativas y cualitativas para determinar la calidad del semen y también se determinó la tasa de fecundación. Los resultados, en cuanto al volumen de semen promedio, fue de 18.80 ± 7.77 mL. El número de espermatozoides promedio fue de $7.7 \times 10^7 \pm 1.9 \times 10^7$ con un máximo de 14×10^7 mL⁻¹ y un mínimo de 38×10^6 mL⁻¹. La motilidad promedio fue de 46.25 ± 9.08 s con una motilidad vigorosa de 22.33 ± 4.34 s. Para determinar el porcentaje de fecundación se utilizaron 421 huevos obteniendo el 98% de viabilidad. De acuerdo con los resultados obtenidos las características del semen del lote Michoacano a finales del periodo reproductivo son viables para la reproducción, siendo información relevante para el centro acuícola para mejorar los procesos de la reproducción artificial.

Palabras clave: Número de espermas, motilidad, fecundación, viabilidad.

ABSTRACT

Aquaculture center “El Zarco” is dedicated to production of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), which reproductive period is from September to February, thereby gametes quality affects percentage of fecundation. The aim of this investigation is to evaluate semen quality, using samples of spawning fish from Michoacan batch at the end of reproductive period. Seven males and a female with an average age of three years were selected; and were sedated with economic anesthetics, once anesthetized, biometric measurements of each organism were obtained and the extraction of semen through light abdominal pressure. Quantitative and qualitative tests were made to determine semen quality and fecundation rate was determined. Average obtained semen volume was of 18.80 ± 7.77 mL. Average spermatozoids number was of $7.7 \times 10^7 \pm 1.9 \times 10^7$ with a maximum of 14×10^7 mL⁻¹ and a minimum of 38×10^6 mL⁻¹. Average motility was of 46.25 ± 9.08 s. with a vigorous motility of 22.33 ± 4.34 s. To determine the percentage of fecundation, 421 eggs were used and 98% of viability was obtained. According to obtained results, semen characteristics of males of Michoacan batch at the end of reproductive period are viable for reproduction, being relevant information for aquaculture center for improvement of processes in artificial reproduction.

Key words: Sperm number, motility, fecundation, viability.

INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista biológico, la acuicultura es el intento del hombre por incrementar la productividad de los recursos acuáticos mediante la manipulación deliberada de sus procesos (Aguilera et al. 1988).

Dentro de esta labor se encuentra la producción de la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss* que es una especie de importancia que se cultiva en varios países, debido a su facilidad para aceptar alimento artificial y adaptarse a cambios de temperatura. La introducción de la trucha arco iris a México se remonta a finales del siglo XIX, trayendo consigo beneficios sociales, culturales y económicos (FAO 2009, Arredondo y Ponce 2011).

Su reproducción es sexual y externa, además es cíclica. Por este motivo uno de los objetivos primordiales de la acuicultura es aprovechar al máximo los recursos que de esta especie se pueden extraer en toda la época fuera de su pico reproductivo. No obstante, el tiempo de maduración sexual y fecundación es un proceso lento, por lo cual se han creado sistemas artificiales para inducir a los dos factores antes mencionados. Una alternativa viable y ampliamente probada para producir ovas todo el año, es la aplicación de la técnica de fotoperiodo artificial para la modificación del ciclo reproductivo, mejorar la sincronía de la maduración sexual, inducir el desove e incluso resolver problemas de sobrepoblación (Kissil et al. 2001, Campos-Mendoza et al. 2004, Biswas et al. 2005). Por otra parte, la inducción hormonal en el control artificial de la reproducción de los peces es otra alternativa para inducirlos al desove. Ya que, en el adulto, existe generalmente un tiempo de latencia entre el fin de la gametogénesis y la liberación de los gametos, la reanudación de la maduración y adelantar esta liberación, puede ser provocado mediante inyección de hormonas o de productos con actividad gonadotropas (Camacho et al. 2000, Bernabé 1996).

Muchas especies de peces como es el caso de la trucha arco iris que son mantenidas en sistemas de cultivo presentan disfunciones reproductivas importantes (Vargas 2003), entre las que destacan un desove inducido, además de atresia folicular. Es por esto, que la explotación comercial de este salmónido necesita de un suministro permanente de ovas embrionadas y/o alevines que aseguren la producción de la trucha. Para ello es necesario mantener un plantel de reproductores con una alta fertilidad que asegure la producción de huevos fértiles y alevines requeridos por este sistema productivo (Bastardo et al. 2004).

Ciereszko y Dabrowski (1995), indican que la calidad del semen (motilidad y concentración) está influenciada por el contenido de ácido ascórbico en la dieta. Scott y Baynes (1980), señalan que el semen de las truchas presenta una alta concentración, la cual oscila entre 9 y 26 x 10⁹ espermatozoos / mL. En general, el semen en los salmónidos es una secreción blanca lechosa, en algunos casos un poco viscosa, y tiene una motilidad menor a 30 segundos después del desove en agua dulce (Christen et al. 1987, Torres et al. 2014).

Por lo antes mencionado en la presente investigación, se determina la calidad del semen de los reproductores de trucha arco iris del centro acuícola el Zarco, para incrementar la producción, considerando las características cualitativas y cuantitativas del semen a finales del periodo reproductivo de la especie.

MATERIAL Y MÉTODOS

Selección de reproductores

Se seleccionaron al azar cinco machos del lote Michoacano y una hembra de aproximadamente tres años de edad, pertenecientes al centro acuícola El Zarco.

Sedación de reproductores

Para sedar a los machos, se utilizó recipientes de plástico en los cuales se vertió agua

carbonatada al 10%, en donde se colocó al organismo durante el tiempo que fuera necesario para la pérdida del equilibrio normal. Mientras que para las hembras, se utilizó recipientes de plástico la cantidad de agua, necesaria para cubrir al organismo, y se adicionó directamente 0.05 mL aceite de clavo por litro de agua, posteriormente se colocó dentro de la tina al organismo durante el tiempo que fuera necesario para la pérdida del equilibrio.

Biometría

Una vez sedados los organismos, con ayuda de un ictiómetro modificado de 90 x 18 cm., y una escuadra de 90° se obtuvo la longitud total (LT), longitud patrón (LP), longitud cefálica (LC), grosor y altura. Además, se registró el peso de cada organismo con una balanza digital marca ADAM d=1g.

Extracción de gametos

Se realizó manualmente con masajes ventrales en dirección opérculo-caudal, para la extracción del semen de los machos, y fue depositado en tubos graduados de 50 mL y etiquetados.

Para la extracción de los óvulos se manipulo a la hembra de igual manera y los óvulos fueron depositados en bandejas de plástico previamente secas, pesadas y etiquetadas.

Evaluación del semen

Se consideraron características cualitativas y cuantitativas. Entre las cualitativas se encuentra el color (blanco/amarillo) y consistencia (lechoso/cremoso/acuoso) (Navarro et al. 2004, Bustamante 2015).

Con respecto a las características cuantitativas se registró el volumen directamente de los tubos graduados, el pH se obtuvo con un potenciómetro HANNA HI900, la concentración de espermatozoides por mililitro se midió con ayuda de la cámara de Neubauer, mediante el uso de muestra mantenida en refrigeración y la motilidad observó

con la ayuda de un Microscopio de campo marca SWIFT FM-31.

Fecundación

Para la fecundación se colocó 40 g de óvulos y 800 µL de semen, por triplicado y fueron activados con 40 mL de suero fisiológico, se mezcló y se dejó en reposo por diez minutos. Transcurrido el tiempo, se enjuagó y se hidrataron por diez minutos. Durante el tiempo de incubación se contabilizó el huevo fecundado.

Número de espermatozoides

Para ello se fijaron 50 µL de semen con 950 µL de suero fisiológico, y 500 µL de formol al 10%. El conteo se realizó con la ayuda de una cámara Neubauer contabilizando cinco cuadrantes observados en un microscopio óptico SWIFT FM-31 a 40x de aumento, se utilizó una dilución de 10 µL de semen y 990 µL de diluyente y en caso de ser muy densa la muestra se utilizó una dilución de 100 µL de semen y 900 µL de diluyente.

Para ello, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{No. espermatozoides} = \Sigma(5)(5 \times 10^4)(30)(D)$$

Donde:

$\Sigma(5)$ = sumatoria de los cuadrantes contados.

(5×10^4) = volumen de la cámara Neubauer.

(30) = veces de dilución madre.

(D) = dilución.

Motilidad

Para la observación del tiempo de motilidad del espermatozoide, en un portaobjeto se colocó una gota con la ayuda de una pipeta Pasteur y fue activado con suero fisiológico al 0.9%. Se observó con la ayuda de un Microscopio de campo SWIFT FM-31 a 40x de aumento. Se registró los tiempos de actividad vigorosa y hasta el momento en que los espermatozoides dejaron de moverse. Este procedimiento se hizo por triplicado.

Calidad del semen en trucha

Castro-Castellón A, González-Villaverde P, Cortés-García A, Martínez-Regalado D, Jiménez-Valencia J.

Parámetros físicos del agua

Durante el tiempo de incubación se midió el flujo de agua por triplicado registrando el volumen por minuto y la temperatura con un termómetro de mercurio marca Brannan -4 a 50 °C. Estos parámetros se midieron cada 4 horas.

Huevo oculado

A los 18 días de incubación se determinó el número de huevos oculados, contabilizando los muertos restándole al total, para determinar el porcentaje de éstos.

RESULTADOS

Parámetros biométricos

Relación Longitud-Peso

En la Tabla 1 se muestran los registros obtenidos de los parámetros biométricos de los organismos, donde la mayoría permanecen en un rango similar de Longitud-Peso, teniendo un peso promedio de 2.03 kg y longitud promedio de 52.68 cm. Mientras que sólo el organismo M1 con 3.21 kg

y 61.8 cm de longitud, supera el rango que se estima para la mayoría de los organismos.

Motilidad espermática

En la Fig. 1 se muestran el tiempo de la motilidad espermática de cada organismo. El macho M2 fue el que presentó mayor tiempo de motilidad vigorosa con un promedio de 28 ± 6.9 s. La muestra que presentó mayor motilidad total fue el organismo M4 con un promedio de 56.3 ± 19.55 s y el que menor motilidad fue el M7 con un promedio de 27 ± 2.6 s. En promedio la actividad vigorosa del espermatozoide en las muestras fue de 22.33 ± 4.34 s mientras que la actividad hasta que decrece el movimiento fue de 46.25 ± 9.08 s.

pH espermático

El rango encontrado fue de 6.94 a 7.54. El pool del semen fue de 7.23.

Volumen y número de espermatozoides En la Tabla 2 se representa el volumen y número de espermatozoides, se observa que el macho con mayor volumen fue M1 con 30 mL de semen y el macho con menor volumen fue el M2 con 10 mL.

Tabla 1. Parámetros biométricos de los organismos estudiados.

Lote/ organismos	Longitud total (cm)	Longitud patrón (cm)	Longitud cefálica (cm)	Altura (cm)	Ancho (cm)	Peso (kg)
M1	61.80	57.30	14.70	15.10	6.30	3.21
M2	51.10	45.10	11.00	11.40	6.70	1.59
M4	53.40	48.50	13.20	14.20	7.40	2.23
M5	48.30	42.50	11.10	13.00	6.50	1.51
M7	48.80	44.60	11.60	11.20	6.00	1.61
Promedio	58.68	47.60	12.32	12.98	6.58	2.03
Desviación	± 5.48	± 5.83	± 1.59	± 1.70	± 0.52	± 0.71

Calidad del semen en trucha

Castro-Castellón A, González-Villaverde P, Cortés-García A, Martínez-Regalado D, Jiménez-Valencia J.

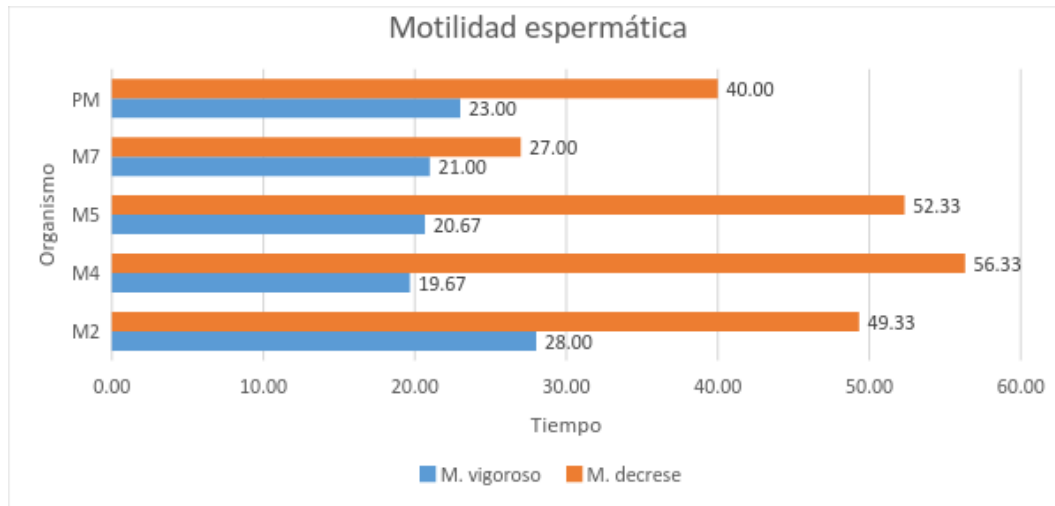


Fig. 1. Motilidad espermática promedio de las muestras de semen de los organismos estudiados

Tabla 2. Volumen y número de espermatozoides del lote michoacanos.

Organismo	A	B	X	DESVEST	mL kg ⁻¹	Volumen (mL)	Spz vol ⁻¹
M1	84x10 ⁶	45x10 ⁶	65x10 ⁶	±28x10 ⁶	9.35	30.0	19x10 ⁸
M2	99x10 ⁶	75x10 ⁶	87x10 ⁶	±17x10 ⁶	6.29	10.0	8.7x10 ⁸
M4	36x10 ⁶	39x10 ⁶	38x10 ⁶	±2.1x10 ⁶	10.09	22.5	8.4x10 ⁸
M5	66x10 ⁶	36x10 ⁶	51x10 ⁶	±21x10 ⁶	9.27	14.0	7.1x10 ⁸
M7	12x10 ⁷	16x10 ⁷	14x10 ⁷	±28x10 ⁶	10.87	17.5	25.0x10 ⁸
PM	65x10 ⁸	57x10 ⁸	61x10 ⁸	±57x10 ⁷		25.0	15.0x10 ¹⁰

NOTA: A = número de espermatozoides de la cámara A; B = número de espermatozoides de la cámara B ; X = promedio del número de espermatozoides; DESVEST = desviación estándar del número de espermatozoides; mL kg⁻¹ = relación peso por volumen; Spz = espermatozoides/mL

El volumen del semen promedio fue de 18.80± 7.77 mL. Mientras que el mayor número de espermatozoides por volumen fue M7 que obtuvo 25x10⁸ con 17.5 mL y el menor volumen fue en M5 con 7.1x10⁸ con 14 mL. El pool fue de 15 x10¹⁰ en 25 mL.

Relación peso por volumen

Como se muestra en Fig. 2, los organismos que presentaron mayor volumen de semen, son los

Calidad del semen en trucha

Castro-Castellón A, González-Villaverde P, Cortés-García A, Martínez-Regalado D, Jiménez-Valencia J.

que tienen mayor peso, ya que, de los organismos el que más volumen presentó fue el M1 con 30 mL, el cual a su vez tiene el mayor peso de todos los organismos siendo de 3.21 kg. El que menos semen produjo fue el M2 con un total de 10 mL y un peso de 1.59 kg. El organismo que presentó menor peso

fue el M5, pero produjo 14 mL de semen. En promedio el volumen de semen fue de 18.8 ± 7.76 mL, y un peso de 2.03kg. En total se obtuvo una correlación de $R^2=0.8708$ de los organismos y su relación al volumen.

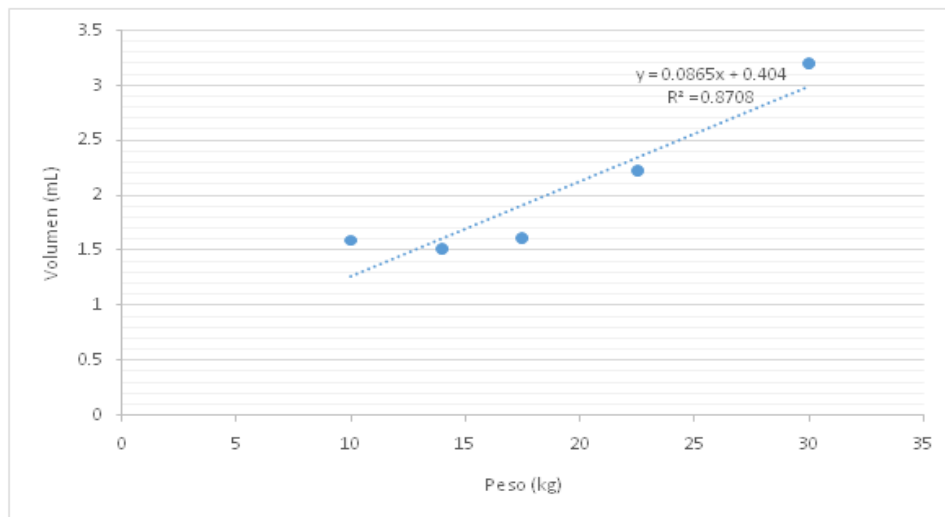


Fig. 2. Correlación del peso del organismo contra volumen obtenido de la muestra de semen del lote Michoacano.

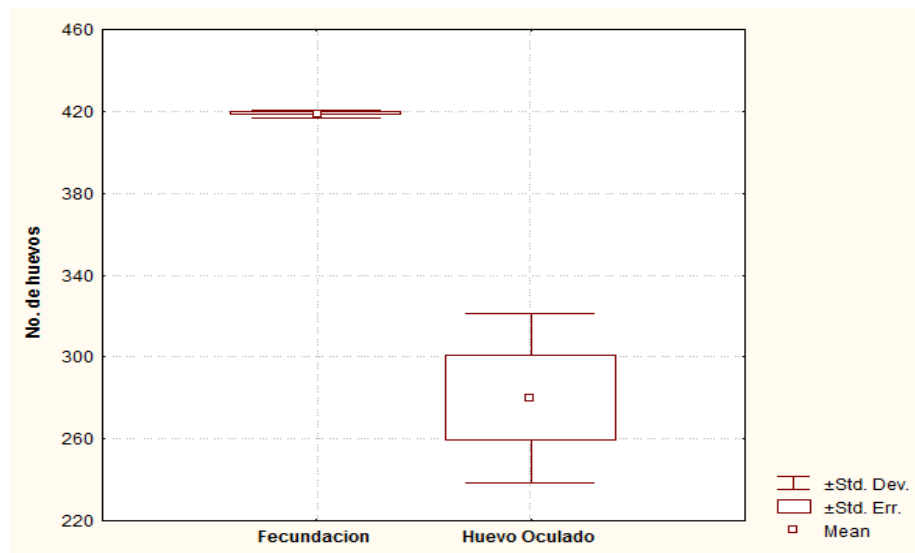


Fig. 3. Análisis de varianza de los huevos fecundados y oculados del lote Michoacano.

Calidad del semen en trucha

Castro-Castellón A, González-Villaverde P, Cortés-García A, Martínez-Regalado D, Jiménez-Valencia J.

Flujo del agua

El flujo de agua a lo largo de la incubación con un promedio de 9.22 L min^{-1} , excepto a las 11 y 16 h. donde el flujo de agua aumentó en promedio 20.36 L. De acuerdo al análisis de varianza se obtuvo diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las horas.

Viabilidad

Como se muestra en la Fig. 3, el promedio de huevos fecundados fue de 419 ± 1.82 siendo el 99.52% del total de huevos y el promedio de huevos oculados fue del 66.50%.

DISCUSIÓN

De acuerdo con la relación Peso-Longitud Olaya-Nieto (2008), en su investigación con *Salminus affinis*, una especie de la misma familia que la trucha arco iris, menciona que la relación longitud-peso está relacionado con el tipo de crecimiento, teniendo en cuenta que la talla de un pez aumenta en una dimensión, mientras que su peso lo hace en tres, esto concuerda con los datos obtenidos en esta investigación ya que el 71.42% de los organismos se concentran en un intervalo entre el peso y la longitud total, existiendo así una correlación peso-longitud, y el resto de los organismos muestran una diferencia significativa en cuanto a las medidas observadas por lo cual se puede decir que las proporciones de longitud y peso, van estrechamente relacionadas.

Con respecto a la motilidad espermática, Valdebenito (2007) obtuvo una motilidad mayor en trucha arco iris con un promedio de 80.8 s., mientras que la motilidad total obtenida en esta investigación tuvo un promedio de 46.25 s. Por otra parte, Billard y Cosson (1989) tienen una motilidad menor en semen de trucha, diluido en una solución de NaCl 125 mM y Tris 20 mM a un pH de 9.0, el esperma solo es motil de 20-30 s, es cuando se le añade 1 mM Ca^{++} , cuando su motilidad es mayor a 30 s; y Vásconez et al. (2011) en semen de cinco

reproductores de trucha arco iris obtuvo un promedio similar al de Billard y Cosson (1989) de 33.68 s de motilidad espermática, valores menores al obtenido en esta investigación. Wanger et al. (2002) obtuvo una motilidad espermática similar a la de esta investigación, donde menciona que los organismos sedados con aceite de clavo tenían una motilidad de 37 – 56 s. Cabe destacar que Piñeros y Cara (1991) mencionan que la evaluación de la motilidad mediante el uso de cubre objetos afecta negativamente el movimiento de los espermatozoides dando lugar a un movimiento de escaso cambio de posición y no uno progresivo.

Para el pH, Bastardo et al. (2004) en su investigación de la trucha arco iris durante el pico reproductivo (septiembre a enero) señala que los machos de tres años obtuvieron un pH de 8.2, al compararlo fue mayor al obtenido en la investigación realizada en los machos estudiados durante el final del periodo reproductivo, se obtuvo un pH de 7.23. Sin embargo, Ciereszko et al. (2010) mencionan que, en machos de trucha de tres años, durante el período reproductivo obtuvo un pH de 7, el cual es un valor menor al obtenido en esta investigación.

Valdebenito (2007), menciona que para determinar el número de espermatozoides en su investigación utilizó una solución salina 0.98% de NaCl para activar a los espermatozoides de trucha para el pool de semen, obtuvo $12.7 \pm 1.6 \times 10^9$ espermatozoides por mL. Por otro lado, Bastardo (2004), señala que los machos de tres años que observó durante el pico reproductivo (septiembre a enero) obtuvo una concentración de 1.2×10^6 por mL. Las investigaciones anteriormente mencionadas obtuvieron valores bajos al compararlo, con la investigación realizada de truchas arco iris al final de la época reproductiva, ya que en esta se obtuvo un número de espermatozoides de 15×10^{10} por mL. Según Bastardo (1992), esta gran diferencia del número de espermatozoides entre el pico reproductivo (septiembre a enero) y el final del periodo reproductivo puede deberse al alimento

Calidad del semen en trucha

Castro-Castellón A, González-Villaverde P, Cortés-García A, Martínez-Regalado D, Jiménez-Valencia J.

consumido y a la calidad del agua utilizada para el cultivo.

En cuanto a la relación entre el peso y volumen, en el trabajo que realizó Piñeros y Cara (1991), existe una alta relación, debido a que los organismos con más peso son los que produjeron un mayor volumen de semen, al igual que en esta investigación, ya que el organismo que más volumen presentó 30 mL, a su vez fue el que tuvo un mayor peso con 3.21 kg.

El flujo de agua de acuerdo con la SEPESCA (2000) para la incubación de trucha arco iris en incubadoras californianas el flujo debe de ser de 14 L min⁻¹, un valor relativamente alto a comparación del flujo de agua en este experimento que fue de 9.22 L min⁻¹. Pero si este se compara con los picos de flujo durante la presente investigación, es un valor menor debido a que se llegó a obtener 20.36 L min⁻¹ a lo largo del día. Por otro lado, la FAO (2009) menciona que debe de haber un flujo de agua de 7-8 L min⁻¹ promedio más cercano a lo obtenido. Mientras que Bustamante (2013) refiere que para incubar de 40 000 a 50 000 ovas fértiles se necesita un flujo de 16-18 L min⁻¹, promedio cercano a los picos de flujo obtenidos en este experimento.

La tasa de fecundación en comparación con Valdebenito (2007) cuyo promedio de ovas fecundadas es de 81.66 ± 5.7% con su muestra control, mientras que Bastardo (1994), obtuvo un porcentaje del 24%, siendo esta también menor que la que se obtuvo en esta investigación (99.52 ± 1.8%). Cabe mencionar que esta investigación se realizó a finales del pico reproductivo. Por lo que la información obtenida es relevante para el centro acuícola debido a que pueden seguir con el proceso de fecundación en las etapas finales del periodo reproductivo y así asegurar una mayor producción.

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos los reproductores del lote michoacano presentan buena

calidad y cantidad de espermatozoides, debido a que se obtuvo una tasa de fecundación alta y un 66% de huevo oculado, resaltando que fue finales del periodo reproductivo de los organismos.

AGRADECIMIENTOS

Al centro acuícola El Zarco por permitirnos efectuar esta investigación. A la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, en especial a la Licenciatura en Biología, por permitirnos utilizar sus laboratorios. A los compañeros del grupo BE03B del Trimestre 16-I por su apoyo.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera H. P. y C. P. Noriega, 1988. ¿Qué es la acuicultura? Secretaría de Pesca. México. 60 p.
- Arredondo, J., y Ponce, J. 2011. Bases biológicas para el cultivo de organismos acuáticos de México. Ed. AGT Editor, México. 131 y 134-142 p.
- Barnabe, G., 1996. Bases biológicas y ecológicas de la acuicultura. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 364-368 p
- Bastardo H. 1992. Semen de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*): Concentración y volumen durante un periodo reproductivo en Mérida, Venezuela. *Veterinaria Tropical* 17: 56-66.
- Bastardo H. 1994. Semen de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*): Concentración y volumen durante un periodo reproductivo en Mérida, Venezuela. *Veterinaria Tropical* 17: 56-66.
- Bastardo H, Guedez C y León M. 2004. Características del semen de trucha arco iris de diferentes edades, bajo condiciones de cultivo en Mérida, Venezuela. *Zootecnia Tropical* 22(3): 277-288.
- Billard R y Cosson MP. 1989. Measurement of sperm motility in trout and carp. In: De Pauw, N, Jaspers E, Ackefors H.(Ed.). *Aquaculture: a biotechnology in progress* 1: 499-503.
- Biswas, A.K., Morita, T., Yoshizaki, G., Maita, M. and Takeuchi, T. 2005. Control of reproduction in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) by photoperiod manipulation. *Aquaculture* 243: 229-239 (a).

- Bustamante JD. 2013. Evaluación del semen de la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en organismos de primera y segunda reproducción. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México. 41 p.
- Bustamante JD. 2015. Caracterización del periodo reproductivo en machos de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) bajo condiciones de cultivo. Tesis de Maestría Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. Ciudad de México. 57 p.
- Christen R, Gatti JL, Billard R. 1987. The transient movement of trout sperm is related to changes in the concentration of ATP following the activation of the flagellar movement. Eur. J. Biochem. 166: 1667-671.
- Ciereszko A, y Dabrowski K. 1995. Sperm quality and ascorbic acid concentration in rainbow trout semen are affected by dietary vitamin C: an across-season study. Biology of Reproduction, 52: 982-988.
- Ciereszko A, Dietrich GJ, Dietrich MA, Nynca J, Kuzminski H, Dobosz S y Grudniewska J. 2010. Effects of pH on sperm motility in several Salmonifers species: *Oncorhynchus mykiss*, *Salvelinus fontinalis*, *Salmo trutta*, *Salmo salar* and *Thymallus thymallus*. Applied Ichthyology 26: 665-667.
- Kissil, G.W., I. Lupatsch, A. Elizur, and A. Zohar. 2001. Long photoperiod delayed spawning and resulting increased somatic growth in gilthead seabream (*Sparus aurata*). Aquaculture 200: 363-379.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2009. La FAO en México más de 60 años de cooperación 1945- 2009. Roma, Italia. pp. 219-257.
- Olaya-Nieto C, Tordecilla-Petro MS, Segura-Guevara S. 2008. Length-weight relationship of rubio (*Salminus affinis steindachner*, 1880) in the Sinu river basin, Colombia. 13(2): 1349-1359.
- Piñeros R y Cala P. 1991. Motilidad, morfología, concentración y número de espermatozoides en reproductores de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Revista Académica Colombiana Ciencia 18: 75-81.
- Secretaría de Pesca (SEPESCA). 2000. Guía para el cultivo de trucha. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP). Ciudad de México. 30 p.
- Scott AP y Baynes SM. 1980. A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa, J. Fish Biol., 17: 707-739.
- Torres JM, Maíz RA, y Castellano JJ. 2014. Aspectos de la reproducción anual de semen de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) en los andes tropicales venezolanos. Mundo Pecuario 1: 09-14.
- Valdebenito I. 2007. Efecto de la Cafeína en la Motilidad y Fertilidad Espermática de Trucha Arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). Información tecnológica 18(2): 61-65.
- Vargas R. 2003. Evaluación de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) producida en Costa Rica. Agronomía Mesoamericana 14: 123-127.
- Vásconez MJ, Ortiz J, Giacometti (2011). Criopreservación de semen de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en el programa de mejoramiento genético de truchas en Ecuador.
- Wagner, E., R. Arndt and B. Hilton, 2002. Physiological stress responses egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil tricainemethansulfonate or carbon dioxide. *Aquaculture*, 211: 353-366.