

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

**ESCUELA DE POSGRADO**



**DOCTORADO EN CIENCIAS**

**MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS**

**TESIS**

**CARACTERÍSTICAS ESPERMÁTICAS Y CALIDAD DEL SEMEN DE DOS  
RAZAS DE CUYES (*Cavia porcellus*), EN EL VALLE DE CAJAMARCA**

Para optar el Grado Académico de

**DOCTOR EN CIENCIAS**

Presentada por:

**WILDER QUISPE URTEAGA**

**ASESOR:**

**Dr. CORPUS HILDEBRANDO CERNA CABRERA**

**CAJAMARCA - PERÚ**

**2018**

COPYRIGHT © 2018 by  
**WILDER QUISPE URTEAGA**  
Todos los derechos reservados

# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

## **ESCUELA DE POSGRADO**



## **DOCTORADO EN CIENCIAS**

### **MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS**

#### **TESIS APROBADA**

#### **CARACTERÍSTICAS ESPERMÁTICAS Y CALIDAD DEL SEMEN DE DOS RAZAS DE CUYES (*Cavia porcellus*), EN EL VALLE DE CAJAMARCA**

Para optar el Grado Académico de

#### **DOCTOR EN CIENCIAS**

Presentada por:

**WILDER QUISPE URTEAGA**

#### **Comité Científico:**

Dr. Corpus H. Cerna Cabrera  
Asesor

Dr. Severino Torrel Pajares  
Miembro del Comité Científico

Dr. Manuel E. Paredes Arana  
Miembro del Comité Científico

Dr. José F. Coronado León  
Miembro del Comité Científico

Cajamarca - Perú

2018



# Universidad Nacional de Cajamarca

## Escuela de Pos Grado

CAJAMARCA - PERU

### PROGRAMA DE DOCTORADO

#### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS DOCTORADO EN CIENCIAS MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

Siendo las diez de la mañana del día jueves veintidos de febrero del año dos mil dieciocho, reunidos en el auditorio de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por el Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares; Dr. Manuel Paredes Arana, Dr. José Coronado León, como integrantes del jurado titular; y en calidad de Asesor, el Dr. Corpus Cerna Cabrera. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno de la Escuela de Posgrado y el Reglamento del Programa de Doctorado de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se dio inicio a la SUSTENTACIÓN de la tesis titulada: **CARACTERÍSTICAS ESPERMÁTICAS Y CALIDAD DEL SEMEN DE DOS RAZAS DE CUYES (*Cavia porcellus*), EN EL VALLE DE CAJAMARCA**; presentada por el M.Cs. WILDER QUISPE URTEAGA con la finalidad de optar el Grado Académico de **DOCTOR EN CIENCIAS**, Mención **CIENCIAS VETERINARIAS**.

Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó ..... *Aprobado* ..... con la calificación de ..... *dieciséis (16)* ..... la mencionada Tesis; en tal virtud, el M.Cs. WILDER QUISPE URTEAGA está apto para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **DOCTOR EN CIENCIAS**, Mención **CIENCIAS VETERINARIAS**.

Siendo las *11:55*... horas del mismo día, se dio por concluido el acto.

.....  
**Dr. Manuel Paredes Arana**  
Jurado Evaluador

.....  
**Dr. José Coronado León**  
Jurado Evaluador

.....  
**Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares**  
Presidente Jurado Evaluador

## **DEDICATORIA**

### **A Dios.**

Creador de mi vida y Arquitecto de mi corazón; gracias Señor, por tener dos padres; mi padre en tu presencia y mi madre en la mía; sin el apoyo de ambos no hubiese conseguido lo propuesto.

### **A mi familia.**

Clara U., Alexa, Clara Nathaly, Christian, Anthony, Katherine, José, Gimena, Danna, Mía, Anie; gracias por ser como son, porque con su sola presencia han ayudado a construir y forjar el profesional que ahora soy.

### **A mis Padres.**

Faustina y Dionicio, por esos consejos invaluable que dejaron mella en mí ser, para poder culminar este proyecto; esto es de ustedes, es su obra, en especial para ti madre querida, por la fuerza, coraje y humildad para darme la vida; tú te lo mereces, sabes porque: eres la mujer más hermosa de este mundo.

### **A mis hermanos.**

Gracias Nora, Alfredo, Jesús, Augusto y Mercedes; porque cada uno de ustedes han motivado mis esperanzas de consolidar mis sueños. Gracias a todos los que han recorrido conmigo este camino, y me han enseñado a ser una persona más humana.

**Wilder**

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional de Cajamarca, Escuela de Post Grado-UNC y Facultad de Ciencias Veterinarias; Alma Mater, en la que me forjé como Médico Veterinario, Maestro en Ciencias y hoy como Doctor en Ciencias Veterinarias.

A la honorable plana Docente de la Escuela de Post Grado, en reconocimiento a sus valiosos consejos y enseñanzas impartidas durante muchos años.

A los Doctores, que actuaron como jurado calificador y me supieron orientar adecuadamente para la culminación de la presente investigación; así mismo, al Dr. Corpus H. Cerna Cabrera, por su apoyo incondicional como asesor del presente trabajo.

## CONTENIDO

<b>Ítem</b>	<b>Página</b>
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
CONTENIDO	vii
LISTA DE ABREVIACIONES	xvi
RESUMEN	xvii
ABSTRACT	xviii
<b>CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN</b>	
1.1. Objetivos de la investigación	4
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b>	
2.1. Antecedentes teóricos de la investigación	5
2.2. Bases teóricas	9
2.3. Marco conceptual	47
<b>CAPÍTULO III: DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS</b>	
3.1. Hipótesis de la investigación	53
3.2. Diseño metodológico	53
3.3. Localización	54
3.4. Población, tamaño de muestra, unidad de análisis	55
3.5., Descripción del diseño metodológico	55
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	61
3.7. Análisis estadístico	62

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	63
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES	82
LISTA DE REFERENCIAS	84
ANEXOS	100

## LISTA DE ILUSTRACIONES

<b>Tablas del marco teórico</b>	<b>Página</b>
<b>Tabla 1.</b> Comparación bioquímica del plasma seminal fresco y descongelado por Alpaca.....	33
<b>Tabla 2.</b> Medios de características del semen de cobaya (870 eyaculados).....	39
<b>Tabla 3.</b> Valores medios y desviaciones estándar para la longitud de la cabeza, el ancho y la longitud total de la cola en 20 especies de roedores caviomorfos. Medidas en mm. El contenido de ADN (pg ADN) también se proporciona para diferentes taxonomías....	41
<b>Tabla 4.</b> Comparación bioquímica del plasma seminal fresco y descongelado por Alpaca.....	43
<b>Tabla 5.</b> Valores mínimos y máximos de los parámetros seminales en Mazama pandora (venados).....	44
<b>Tabla 6.</b> Promedio y desviación estándar de las medidas morfométricas en espermatozoides con morfología normal de venado Tamazate café (M. pandora) en cautiverio.....	45
<b>Tabla 7.</b> Parámetros espermáticos (media±sem) obtenidos tras la evaluación de la calidad seminal de 40 eyaculados de 10 sementales fértiles.....	46
<b>Tabla 8.</b> Características del eyaculado de varias especies domésticas.....	46
<b>Tabla 9.</b> Características seminales y componentes químicos del semen de Animales de granja.....	49

<b>Tabla 10.</b>	Escala de vigor espermático de acuerdo a su movilidad.....	49
<b>Tabla 11.</b>	Escala de calificación de la motilidad masal y motilidad individual del semen fresco de bovino.....	50

## Figuras del marco teórico

<b>Figura 1.</b> Partes del espermatozoide del cuy ( <i>Caviaporcellus</i> ).....	34
<b>Figura 2.</b> Espermatozoide del cuy ( <i>Cavia porcellus</i> ), distribuidos en paquetes.....	35

## Tablas de resultados

<b>Tabla 1.</b>	Características cinéticas del semen de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ).....	63
<b>Tabla 2.</b>	Relación entre el volumen eyaculado con pH, concentración espermática, total de semen eyaculado, motilidad en masa y motilidad individual del semen de dos razas de cuyes ( <i>cavia porcellus</i> ).....	68
<b>Tabla 3.</b>	Características de los valores morfométricos del semen de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ).....	69
<b>Tabla 4.</b>	Relación entre el volumen del eyaculado con ancho cefálico, longitud del flagelo, longitud del espermatozoide, morfología normal y anormal del espermatozoide del semen de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ).....	72
<b>Tabla 5.</b>	Características de los valores bioquímicos del plasma seminal en el semen de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ).....	73
<b>Tabla 6.</b>	Relación entre el volumen eyaculado con los valores bioquímicos del plasma seminal de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ).....	78
<b>Tabla 7.</b>	Evaluación de la motilidad en masa de los espermatozoides del semen de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ).....	79
<b>Tabla 8.</b>	Evaluación de la motilidad individual de los espermatozoides en el semen de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ).....	79
<b>Tabla 9.</b>	Escala de calificación del semen de cuy ( <i>Cavia porcellus</i> ) de la raza Perú y Andina, en base a las características cinéticas, morfométricas y bioquímicas.....	80

## Figuras de resultados

<b>Figura 1.</b>	Volumen del eyaculado (ml) de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ) mostrando su intervalo de confianza al 95%.....	64
<b>Figura 2.</b>	Morfología anormal del espermatozoide (%) de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ), mostrando su intervalo de confianza al 95%.....	70
<b>Figura 3.</b>	ALT del plasma seminal de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ), mostrando su intervalo de confianza al 95%.....	74
<b>Figura 4.</b>	GGT del plasma seminal de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ), mostrando su intervalo de confianza al 95%.....	74
<b>Figura 5.</b>	Albúmina del plasma seminal de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ), mostrando su intervalo de confianza al 95%.....	75
<b>Figura 6.</b>	Proteína del plasma seminal de dos razas de cuyes ( <i>Cavia porcellus</i> ), mostrando su intervalo de confianza al 95%.....	75

## Cuadros de anexos

<b>Cuadro 1.</b>	Prueba de <b>t</b> student al 95% de probabilidad, de las características cinéticas del semen entre dos razas de cuyes: Perú y Andina.....	101
<b>Cuadro 2.</b>	Medidas de resumen de los valores cinéticos: media, mediana, coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis de la raza Perú.....	102
<b>Cuadro 3.</b>	Medidas de resumen de los valores cinéticos: media, mediana, coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis de la raza Andina.....	102
<b>Cuadro 4.</b>	Prueba de t student al 95% de probabilidad, de la característica de los valores morfométrico del semen de dos razas de cuyes: Perú y Andina.....	103
<b>Cuadro 5.</b>	Medidas de resumen de los valores morfométricos: media, median, coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis de la raza Perú.....	104
<b>Cuadro 6.</b>	Medida de resumen de los valores morfométricos: media mediana, coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis de la raza Andina.....	104
<b>Cuadro 7.</b>	Prueba de t studen al 95% de probabilidad de las características bioquímicas del plasma seminal del semen entre dos razas de cuyes: Perú y Andina.....	105
<b>Cuadro 8.</b>	Medidas de resumen de los valores bioquímicos del plasma seminal: media, mediana, coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis de la raza Perú.....	106
<b>Cuadro 9.</b>	Medidas de resumen de los valores bioquímicos del plasma seminal: media, mediana, coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis de la raza Andina.....	106
<b>Cuadro 10.</b>	Prueba no paramétrica de Mann-Whitney entre las razas de cuyes (Perú y Andina) sobre el volumen (ml), la morfología anormal del espermatozoide (%), ALT ( $\mu$ m), GGT ( $\mu$ m), Albúmina (g/dl) y Proteína (g/dl) .....	107

## Fotos

<b>Foto 1.</b>	Electroeyaculador-4.5 voltios.....	115
<b>Foto 2.</b>	Cinta del control del pH.....	115
<b>Foto 3.</b>	Microscopio Nikom-Eclipse E200, con luz incorporada.....	116
<b>Foto 4.</b>	Equipo para realizar tinciones.....	117
<b>Foto 5.</b>	Equipo de microscopios.....	118
<b>Foto 6.</b>	Estufa.....	118
<b>Foto 7,8,9.</b>	Cuyes de la raza Andina.....	119
<b>Foto 10.</b>	Aplicando el electroeyaculador-extracción del semen.....	120
<b>Foto 11.</b>	Diluyendo el semen.....	121
<b>Foto 12.</b>	Láminas porta objetos, con semen fresco y frotis teñido.....	121
<b>Foto 13.</b>	Placas de Neubauer.....	122
<b>Foto 14.</b>	Imagen del espermatozoide del cuy.....	122
<b>Foto 15.</b>	Imagen de espermatozoides agrupados.....	122
<b>Foto 16.</b>	Recuento de espermatozoides en la placa Neubauer.....	123
<b>Foto 17.</b>	Midiendo el espermatozoide.....	123
<b>Foto 18.</b>	Midiendo la cabeza del espermatozoide.....	124

## LISTA DE ABREVIACIONES

- OMS : Organización Mundial de la Salud.
- FAO : Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
- CASA : Sistema de Análisis Computarizado
- ADN : Ácido Desoxirribonucleico.
- LDL : Lipoproteína que se unen al colesterol
- VLDL : Lipoproteína que se une al colesterol
- SENA : Servicio Nacional Agraria-Holanda.
- ALT : Alanina Transaminasa.
- GGT : Gama Glutamil Transferasa.
- MMMi: Motilidad Masal microscópica.
- MMI : Movimiento masal individual.
- MM : Movimiento masal
- μm : Micrómetro.
- UNC : Universidad Nacional de Cajamarca.
- ED : Energía Digestible.
- MMI : Movimiento Masal Individual.
- INIEA : Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria.
- RAE : Real Academia Española.
- V : Voltio

## RESUMEN

La investigación fue realizada entre mayo del 2016 a noviembre del 2017 con el objetivo de determinar las características espermáticas y calidad del semen de dos razas de Cuyes (*Cavia porcellus*), en el valle de Cajamarca. Se utilizó 15 cuyes machos de la raza Perú y 15 de la raza Andina, a los que se les recolectó el semen por electroeyaculación, para establecer las características cinéticas, morfométricas y bioquímicas, relacionando los resultados entre ambas razas para valorar una escala de calidad del semen; se obtuvo los siguientes resultados: características cinéticas, volumen eyaculado, raza Perú 0,49/ ml, raza Andina 0,46/ ml; pH de 6,89 y 6,87 respectivamente; concentración espermática N°/ml, 7166666,67 y 7823333,33 para la raza Perú y Andina; total de espermatozoides eyaculados 3492766,67 para la raza Perú y 3647966,67/ml para la Andina; motilidad masal el 91 % y 91,67%; motilidad individual, 89,67% para la Perú y 88,33% para la Andina; color del semen blanco nacar. Medias de las características morfométricas, longitud cefálica, 8,69 y 8,51  $\mu\text{m}$  respectivamente; ancho cefálico 7,75 para la raza Perú y 7,8993,76 para la Andina; longitud del flagelo, 93,76  $\mu\text{m}$ -Perú y 93,18  $\mu\text{m}$  para la Andina; longitud del espermatozoide ( $\mu\text{m}$ ), 101,23 y 102,15. Al análisis bioquímico del plasma seminal, se registra un coeficiente de variación elevado del 27,29% en ALT, 24,74% en GGT y un 113,9% en proteína, referidos a la raza Perú. En la raza Andina, el elevado coeficiente de variación fue para Albúmina (21,34%) y Proteína (102,57%). Se concluye que las relaciones de nuestros resultados entre ambas razas son similares en lo cinético y morfométrico, pero si hay variación en la bioquímica del plasma seminal. Se valoró la escala de calidad del semen de ambas razas, de acuerdo a las características analizadas.

**Palabras clave:** Cuyes, cinéticas, morfométricas, bioquímicas.

## ABSTRACT

The survey was carried out between may 2016 November 2017 with the objective of determining the sperm characteristics and quality of semen from two breeds of Guinea pigs (*Cavia porcellus*), in the Valley of Cajamarca. We used 15 Guinea Pigs race Peru and Andean race 15, males who collected the semen by electroejaculation, to establish kinetic characteristics, morphometric and biochemical, relating the results between both races for rating scale of quality of semen; was obtained the following results: kinetic characteristics, ejaculate volume, race Peru 0.49 / 0.46 Andean breed, ml / ml; pH 6.89 and 6.87 respectively; N ° / ml sperm concentration, 7166666,67 and 7823333,33 for the raza Peru and Andean; total of 3492766,67 ejaculates sperm race Peru and 3647966,67/ml for the Andean; motility masal 91% and 91,67%; individual motility, 89,67% for the Peru and 88,33% for the Andean; color Pearl White semen. Characteristics, morphometric, cephalic length tights, 8.69 and 8,51  $\mu\text{m}$  respectively; cephalic 7.75 width for the Peru race and 7,8993,76 for the Andean; length of the scourge, 93,76  $\mu\text{m}$ -Peru and 93,18  $\mu\text{m}$  for the Andean and length of the sperm ( $\mu\text{m}$ ) 101,23 and 102,15. To the biochemical analysis of seminal plasma, register a high coefficient of variation of 27.29% in ALT, 24.74% at GGT and 113.9% protein, referring to the Peru race. In the Andean race, the high coefficient of variation was to albumin (21.34%) and protein (102,57%). It is concluded that the relations of our results among both races are similar in the kinetic and morphometric, but if there is variation in the seminal plasma biochemistry. Assessed the scale of semen quality of both races, according to the analyzed features.

**Key words:** Guinea pigs, kinetic, morphometric, biochemical.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

El semen (*del latín semen*) o esperma (de latín *sperma*), es el conjunto de espermatozoides y sustancias que se producen en el aparato sexual masculino de todos los animales, entre ellos la especie humana. El semen es un líquido viscoso y blanquecino que es expulsado a través de la uretra durante la eyaculación; está compuesto por espermatozoides y plasma seminal que se forma por el aporte de los testículos, el epidídimo, las vesículas seminales, la próstata, las glándulas de Cowper, las glándulas de Littre y los vasos deferentes (RAE, 2001).

La espermatobioscopía también conocido como espermiograma, semiograma; es el estudio de la calidad de una muestra de esperma. Los parámetros que se evalúan son: el volumen de la muestra, el número de espermatozoides que contiene cada mililitro de semen y el porcentaje de ellos que presentan movilidad. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1999), la calidad puede ser muy buena (tipo A), buena (tipo B) *in situ* (tipo C) y muy mala los que no se mueven, (tipo D). También se evalúa el porcentaje de espermatozoides cuya forma normal debe ser mayor del 14%. Las muestras fluctúan en un rango que varía en función de diferencias individuales, del tiempo de abstinencia y de detalles finos en la recolección, así como del intervalo transcurrido entre la obtención y el procesamiento de la muestra. Nunca se deberá establecer un diagnóstico con la evaluación de una sola muestra; son necesarias cuando menos dos o tres para establecer un diagnóstico certero (OMS, 1999).

El estudio de la motilidad, concentración, viabilidad y estado del acrosoma o las morfo anomalías nos permite evaluar todas las características funcionales espermáticas, sobre estimando o subestimando así el potencial fecundante de una muestra (Pace *et al.*, 1981; Saacke *et al.*, 1980). Las técnicas actuales exploran facetas concretas del proceso reproductivo y solo ofrecen una información parcial del potencial del espermatozoide, aunque al combinar varias pruebas “in vitro” se puede estudiar con mayor amplitud y precisión la viabilidad espermática (Graham *et al.*, 1980).

Por tanto, existe un gran número de métodos de laboratorio que intentan determinar la calidad espermática y poder predecir además la fertilidad de las muestras de una forma rápida y precisa (Boixo, 1994).

Tradicionalmente, la calidad del esperma se viene evaluando a través de una serie de parámetros macro y microscópicos, integrados en una prueba de valoración “in vitro” que podemos denominar espermiograma clásico (Hidalgo, 2003).

Las cualidades que deben tener los espermatozoides de un eyaculado fecundante son: motilidad progresiva, morfología normal, metabolismo energético activo, capacidad para desarrollar una motilidad hiperactivada, integridad estructural y funcional de la membrana, integridad de las enzimas asociadas a la fecundación, capacidad de penetración y transferencia óptima del material genético. Sin embargo, este análisis integral es muy difícil de desarrollar, debido a la enorme complejidad inherente de la función espermática (Graham, 1996).

En Cajamarca, no existe un test único de valoración de esperma del cuy que permita predecir la fertilidad potencial de una muestra de semen. Por tal motivo es necesario integrar el análisis de diferentes parámetros espermáticos que informen de la integridad y funcionalidad del espermatozoide, como son: las características cinéticas, morfométricas y bioquímicas, de la calidad del semen de dos razas de cuyes (raza Perú y Andina, existiendo una relación directa entre ellas).

## **1.1. Objetivos**

### **Objetivo general**

Determinar las características espermáticas y la calidad del semen de cuyes (*Cavia porcellus*) de las razas Perú y Andina en el valle de Cajamarca.

### **Objetivos específicos:**

1. Establecer las características cinéticas, morfométricas, y bioquímicas del semen de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*), Perú y Andina.
2. Determinar la relación entre las características espermáticas y calidad del plasma seminal de las dos razas.
3. Valorar la calidad del semen de las dos razas de cuyes, en función de sus características cinéticas, morfométricas y bioquímicas.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### 2.1. Antecedentes de la investigación.

El Perú inició los trabajos de mejoramiento en cuyes a partir de 1966, con la evaluación del germoplasma de diferentes ecotipos muestreados a nivel nacional. La población de cuyes (*Cavia porcellus*) en Latinoamérica se estima en 35 millones, siendo el Perú el primer productor con más de 27 millones de cuyes que habitan generalmente en las zonas pobres del país. Esto ha llevado que las líneas locales, de gran diversidad genética, hayan sido reemplazadas por líneas definidas de cuyes: Perú, Inti, Andina, que son destinados para la producción y que provocan un impacto para los ecosistemas tradicionales (Chauca, 1997).

En el año 1970, en la Estación Experimental Agropecuaria La Molina del INIA, se inicia un programa de selección con miras de mejorar el cuy criollo existente a nivel nacional. Se seleccionan animales por su precocidad y prolificidad, habiéndose creado las líneas Perú, Inti y Andina. La línea Perú, seleccionada por el mayor peso a la edad de comercialización se caracteriza por ser precoz, obtiene pesos de 800 g a los 2 meses de edad y conversiones alimenticias de 3,8 al ser alimentada en buenas condiciones con concentrados balanceados. Su prolificidad promedio de la raza Perú es de 2,3 crías nacidas vivas. El color de su capa es preferentemente blanco con rojo, siendo su pelo liso y pegado al cuerpo,

sin remolinos (Tipo 1). La línea Andina se selecciona por el tamaño de la camada, independientemente del peso de la misma; se caracteriza por ser prolífica, pudiendo obtener además de 3,2 crías por parto y un mayor número de crías por unidad de tiempo, como consecuencia de su mayor presentación de celo *post partum*. El color de su capa es preferentemente blanco, de pelo liso pegado al cuerpo y ojos negros (FAO, 2007).

Mejorar una especie pecuaria consiste en aprovechar su variabilidad genética, seleccionando artificialmente y apareando adecuadamente los individuos que la componen, buscando incrementar su eficiencia productiva, con el objetivo final de satisfacer las necesidades del ser humano. Desde el inicio de la domesticación el mejoramiento de la producción animal se ha logrado mediante la aplicación de conceptos biotecnológicos, modificando primero el entorno ambiental y luego la estructura genética de las especies (Raymondi, 2007).

La limitada disponibilidad de reproductores de razas y líneas genéticas para producción en crianza comerciales y familiares hizo necesario el estudio del mejoramiento genético del cuy. Un cuy mejorado es hoy día un cuy más prolífico, más fuerte y con una menor mortalidad sobre todo de los gazapos. Cuy mejorado significa además más producción, más producción significa poder satisfacer una demanda de carne de cuy siempre más grande en el Perú y en todo el mundo. Por eso ese tema es de verdad importantísimo en la crianza de los cuyes y en el estudio genético de esos animales. No confundan el mejoramiento genético con la manipulación genética (Kajjak, 2007).

El Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIEA), mediante un trabajo por más de 30 años, ha realizado investigaciones con resultados halagadores en las áreas de mejoramiento genético, nutrición, alimentación y manejo, liderando esta actividad, tanto a nivel nacional como internacional. Como resultado de los trabajos de investigación, pone a disposición de los productores la raza de cuyes PERÚ, de alta productividad, precoz y excelente calidad, que representa una alternativa para el mejoramiento genético de cuyes, mediante cruzamientos, en productores familiares y comerciales (INIEA, 2007).

Para ello, se incluyen una serie de pruebas que evalúan diversos factores o funciones de la célula espermática. Aunque no hay un consenso sobre la eficacia de las diferentes pruebas utilizadas en andrología, en cuanto a predicción de la fertilidad del macho, el espermiograma sigue siendo, sin embargo, una prueba fidedigna que permite valorar la calidad de las muestras seminales correspondientes a diferentes especies. No obstante, en ocasiones, los resultados de los parámetros espermáticos del espermiograma clásico pueden no ser suficientes para determinar con exactitud la capacidad fecundante de un eyaculado (Butler y Roberts, 1975; Pace *et al.*, 1981; Rodríguez-Martínez, 2000; Saacke *et al.*, 1980).

El objetivo de una investigación fue evaluar las características cuali-cuantitativas de espermatozoides de cuyes extraídos de la cola del epidídimo según su fenotipo y edad reproductiva. Se realizó en la granja Irquis de la Universidad de Cuenca en 20 reproductores identificados por sus características fenotípicas y dispuestas en cuatro grupos: 5 criollos

jóvenes (CJ), 5 criollos adultos (CA), 5 mejorados jóvenes (MJ), y 5 mejorados adultos (MA). Los cuyes fueron hemicastrados y de los epidídimos fueron disectados la cola sobre una caja petri. Se recuperó los espermatozoides por Swim up, diluidos en 1ml de medio (18% rafinosa y 3% leche descremada), procesados con Triladyl®, refrigerados a 5°C/1 hora, y equilibrados por 0, 2, 24, 48, 96, 192, y 360 horas para su análisis de viabilidad espermática (Tapia y Tello, 2016).

Se utilizó 30 animales machos adultos, se aplicó la técnica de slicing epidydimis para la recolección de los espermatozoides y analizarlas mediante las pruebas macroscópicas y microscópicas como el color, pH, motilidad individual, vitalidad espermática y la concentración espermática; se realizó la medición mediante el programa infinity analysis. El espermatozoide del cobayo presenta una cabeza ovalada en algunos se presenta con el extremo distal achatado y su acrosoma se visualiza claramente, presenta una pieza media larga y su cola es larga, presentando una media de 102,53  $\mu\text{m}$ , la cabeza mide 8,81  $\mu\text{m}$  de largo y 7.41  $\mu\text{m}$  de ancho, se nota claramente el acrosoma en la cabeza el cual tiene una media de 1,95  $\mu\text{m}$ , la pieza intermedia tiene una media de 9,31  $\mu\text{m}$  y la cola mide aproximadamente 84,41  $\mu\text{m}$ . Se determinó que el color de semen de cobayo es blanco cremoso con una media de pH de 7,3%, un 86,7% de espermatozoides vivos, una movilidad espermática de 73,5% y un 32% de espermatozoides anormales (Loor, 2015).

Varias son las formas de colectar semen en las diferentes especies, en una investigación en toros mencionan la vagina artificial y electroeyaculador como técnicas para la obtención de semen; (Duchi *et al.*, 2000) hablan de la colección de semen de gallo con un masaje en la cloaca; mientras que detallan la extracción de espermatozoides de la cola del epidídimo en roedores (León *et al.*, 1991).

Se mencionan tres métodos para la recogida de esperma en ratones; electro eyaculación, inyección de drogas y el lavado del útero de hembras pero éstos únicamente adecuados para situaciones experimentales, ya que no han encontrado su camino en la práctica habitual, pues la electro eyaculación se ha aplicado con éxito en granja, zoológicos y en animales domésticos más grandes; pero en animales pequeños como roedores en algunos casos ha conllevado a disfunción eréctil, lesiones o incluso la muerte (Boersma *et al.*, 2015).

## **2.2. Bases teóricas**

### **Espermatozoides**

Los espermatozoides se forman dentro de los túbulos seminíferos de los testículos. Estas estructuras contienen una serie compleja de células germinales en crecimiento, las que al final forman los gametos masculinos altamente especializados. Los espermatozoides ya formados son células alargadas que constan de una cabeza aplanada que contiene el núcleo, una cola que contiene el aparato necesario para la motilidad celular. La célula espermática está cubierta por completo por una membrana llamada plasmalema o membrana plasmática. El acrosoma o cubierta acrosómica

es una estructura delgada, de doble pared, situada entre la membrana plasmática y la porción anterior del núcleo. Un cuello corto, conecta la cabeza del espermatozoide con su larga cola (flagelo), el cual se divide en tres porciones: media principal y terminal (Duane, 1999).

### **Estructura del espermatozoide**

Los espermatozoides varían de forma y tamaño según las especies; mediante el microscopio óptico, el espermatozoide parece consistir en dos porciones esenciales: la cabeza y la cola. Mediante el microscopio electrónico se observa, además, que la cola está sub dividida en cuello, pieza media, pieza principal y pieza terminal (Duane, 1999).

**Cabeza.** La forma del núcleo determina la forma de la cabeza del espermatozoide, que a su vez es específico de la especie y está sujeto a grandes variaciones. El polo anterior del núcleo está cubierto del acrosoma presentando una membrana externa e interna que se fusiona en el extremo caudal. El acrosoma tiene enzimas hidrolíticas y proteolíticas (acrosina), que son liberados durante la reacción acrosómica por espermatozoides capacitados, en el tubo uterino. Estas enzimas son necesarias para la penetración de la zona pelúcida durante la fertilización. La región caudal del acrosoma de caracteriza por el estrechamiento del mismo y la condensación de su contenido; llamada área del segmento ecuatorial del acrosoma. La base del núcleo está rodeada por la vaina post acromosómica, que consiste en proteínas fibrosas ricas en azufre. La

membrana plasmática de la región post acromasal de la cabeza contiene receptores moleculares necesarios para el reconocimiento del oocito.

En el extremo caudal de la cabeza, la envoltura nuclear dibuja un surco de implantación donde se inserta la cola como si fuera una articulación (Duane, 1999).

La cabeza del espermatozoide de cobayo es oval y mide alrededor de 8 micras, mientras que el flagelo o cola mide 108,3 micras. La forma de la cabeza se determina en gran parte por la forma del núcleo, pero en el conejillo de indias el gran tamaño del acrosoma es el que lo caracteriza. La función del acrosoma no es muy clara, pero se le ha correlacionado con el aumento de la capacidad fertilizante de los espermatozoides, mientras que la propiedad del núcleo está relacionada con ADN (Aliaga et al., 2009).

**Cuello.** El cuello es corto y estrecho entre la cabeza y la pieza media. Consta de un centriolo localizado centralmente y nueve fibras periféricas, orientadas longitudinalmente comunicándose con las fibras exteriores de la pieza media (Duane, 1999).

**Pieza media.** En el centro presenta estructura característica de un flagelo, dos micro túbulos centrales y nueve parejas de micro túbulos periféricos que constituyen el complejo del filamento axial. Los micro túbulos están rodeados por nueve fibras exteriores en forma de huso, orientadas longitudinalmente y conectadas a las fibras del cuello. Estas fibras, a la vez, están rodeadas por las mitocondrias dispuestas según un patrón helicoidal. Un engrosamiento en forma de anillo de la membrana

plasmática de la pieza media señala el límite entre ésta y la pieza principal (Duane, 1999).

**Pieza principal.** Es la porción más larga del espermatozoide. Su estructura es idéntica a la de la pieza media, también rodeada de fibras exteriores que continúan de la pieza media; estas fibras varían en tamaño y forma estrechándose al final de la pieza principal. La característica vaina fibrosa periférica de la pieza principal se forma mediante la fusión de dos de las fibras exteriores con bandas semicirculares de proteínas estructurales según un patrón helicoidal (Duane, 1999).

**Pieza terminal.** El final de la vaina fibrosa marca el inicio de la pieza terminal, que contiene solamente el complejo del filamento axial. En la parte proximal de la pieza, este complejo tiene una disposición característica en nueve micro túbulos periféricos más dos centrales; en la parte distal, las parejas de micro túbulos periféricas se reducen gradualmente a unidades, terminando a diferentes niveles (Dieter, 1994).

La estructura de un espermatozoide presenta: Cabeza donde se sitúan el núcleo y el capuchón acrosómico, todo envuelto en la membrana celular. En el cuello se encuentra el anillo posterior y la placa basal. La cola está dividida en pieza intermedia, pieza principal y pieza final; en la intermedia se puede apreciar la disposición de las mitocondrias y el retículo endoplasmático liso. En la principal se muestra la vaina fibrosa y la columna fibrosa, en la pieza final los micro túbulos ciliares 9+2 (Vásquez *et al.*, 1997).

## **Características organolépticas y microscópicas del semen**

**pH.** Dentro de los diferentes parámetros rutinarios a evaluar en el espermiograma clásico se encuentra la valoración del pH del eyaculado. Hasta la fecha existen numerosos estudios que hacen diferentes apreciaciones sobre el pH del eyaculado de diferentes especies animales, variando desde ligeramente ácido a ligeramente básico; así mismo, ha sido descrito que las variaciones en estos valores de referencia pudieran ser indicativos de algún tipo de patología (Setchell *et al.*, 1993).

Se considera que el pH del eyaculado completo oscila entre un 7,2 a 7,7 en el caballo adulto fértil, datos que son ligeramente superiores a los nuestros. (Pickett *et al.*, 1988).

**Color.** El color y la opacidad de la muestra de semen debe observarse inmediatamente después de la recolección seminal. El color rojo indica presencia de sangre, ya sea de la superficie del pene o de la próstata. El color amarillo indica presencia de orina y partículas blancas puede ser indicativa de la presencia de leucocitos (Root, 2005).

### **Volumen y Concentración espermática**

El volumen del eyaculado habitualmente se determina en recipientes calibrados en mililitros (ml). Los équidos, en condiciones normales y a diferencia de otras especies, presentan un gran volumen eyaculado, al estar conformado éste por dos fracciones bien diferenciadas: 1) una fracción rica en espermatozoides, formada por los espermatozoides almacenados fundamentalmente en la cola del epidídimo junto con las

secreciones de las glándulas prostáticas y bulbo uretrales; 2) otra fracción pobre en espermatozoides, formada principalmente por gel seminal procedente de las glándulas vesiculares. Los valores medios para el volumen total se encuentran entre 60-120 ml y para el volumen libre de gel entre 30-100 ml (Samper, 2009); si bien, estos valores pueden variar en función de la estacionalidad, la edad del semental, la frecuencia de recogida, así como por las diferencias entre sementales (Dorado *et al.*, 2010; Dowsett y Knott, 1996; Dowsett y Pattie, 1987; Gamboa *et al.*, 2010; Muiño *et al.*, 2008b; Sieme *et al.*, 2002; Sieme *et al.*, 2004).

El volumen varía con la cantidad recolectada. El volumen debe registrarse antes de eliminar ninguna muestra; este valor se necesita para calcular el número total de espermatozoides en el eyaculado (Root, 2005).

En cuanto a la concentración, al igual que el volumen, presenta una gran variabilidad y está fuertemente influida por un mayor número de variables, entre ellas, tamaño testicular, método de recogida (completa o fraccionada), edad de los sementales o la raza (Dowsett y Knott, 1996).

Su valor medio habitualmente oscila entre  $50-150 \times 10^6$ , en cuanto a la concentración, al igual que el volumen, presenta una gran variabilidad y está fuertemente influida por un mayor número de variables, entre ellas, tamaño testicular, método de recogida (completa o fraccionada), edad de los sementales o la raza (Dowsett y Knott, 1996).

En la determinación de la concentración espermática del eyaculado del caballo se pueden utilizar diversos métodos, como por ejemplo el hemocitómetro, el espectrofotómetro, los sistemas CASA, la citometría de flujo y los contadores espermáticos basados en fluorescencia (Christensen *et al.*, 2005; Love, 2012). La técnica del hemocitómetro permite determinar el número de espermatozoides presentes en una cámara de recuento celular como la cámara de Thomas, Neubauer o Bürker-Türk. Su bajo coste hace de este método uno de los más empleados; sin embargo, puede presentar una variabilidad entre replicas causada por las diluciones previas, la falta de homogeneidad en la distribución de la muestra en la cámara o la influencia del observador (Lu *et al.*, 2004).

Más rápido y de fácil uso es del espectrofotómetro, el cual realiza una medición de forma indirecta, relacionando el grado de absorción o dispersión de la luz que provocan los espermatozoides de una muestra de esperma con su concentración. Sin embargo, para que este método se muestre preciso requiere una calibración previa mediante una curva determinada por recuento microscópico en cámara, debido a que la transmitancia varía de acuerdo a la concentración espermática. Además, depende también del tamaño y forma del espermatozoide o del índice de refracción, factores que son variables entre individuos (Mocé y Graham, 2008).

Asimismo, pueden realizarse recuentos muy rápidos, aunque a mayor coste, mediante contadores espermáticos basados en fluorescencia o sistemas CASA. Igualmente, para que el recuento de partículas sea

correcto, los equipos deben de estar correctamente calibrados. Además, estos métodos se ven influenciados por los componentes de los distintos diluyentes (Love, 2012).

Finalmente, la evaluación del volumen y de la concentración espermática son fundamentales en la estimación del número total de espermatozoides eyaculados (volumen por concentración), parámetro empleado en la determinación del número de dosis destinadas a inseminación artificial y, por tanto, en la evaluación del rendimiento de un eyaculado y/ o del semental (Petrunkina y Harrison, 2011).

### **Viabilidad espermática**

Los espermatozoides de mamíferos adquieren la capacidad de movimiento durante el transporte por el epidídimo. La motilidad flagelar es estimulada tras la eyaculación y se modula durante el tránsito del espermatozoide a través del aparato reproductor de la hembra (Davis, 1992).

El tránsito de los espermatozoides implica cambios secuenciales importantes en los patrones de movimiento espermático, mostrando diferencias en cuanto a la longitud de la onda flagelar (movimiento asimétrico) o cambios en el desplazamiento lateral de la cabeza (Muiño, 2008), sugiriendo que el espermatozoide necesita primero sufrir una activación en la motilidad que le permita atravesar el tracto genital de la hembra y, posteriormente, una hiper activación del movimiento para llegar al punto de fecundación y penetrar la pared del ovocito (Turner y

McDonnell, 2003). Por todo ello, la motilidad del espermatozoide es una característica fundamental a tener en cuenta en la evaluación de la calidad seminal. Así, ha sido considerado tradicionalmente un indicador de la capacidad fecundante del eyaculado del caballo (Varner, 2008).

Según algunos autores, el desarrollo de la capacidad fecundante y la movilidad del espermatozoide ocurren de forma paralela, de ahí que se haya utilizado como medida indirecta del potencial fecundante de la población espermática (Vantman *et al.*, 1989; Vantman *et al.*, 1994).

Para la evaluación del movimiento espermático se han descrito numerosos métodos, desde la valoración subjetiva bajo microscopio de campo claro hasta los sistemas CASA, capaces de realizar evaluaciones objetivas tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo (WHO, 1999). Es sabido que cada especie animal cuenta con un patrón propio de movimiento, en función a múltiples características del espermatozoide como el tamaño de la cabeza, longitud de la cola y frecuencia de batido, entre otros (Gomendio *et al.*, 2007). El caballo cuenta con un tipo de movimiento espermático circular o semicircular muy característico debido principalmente a la inserción abaxial de la pieza intermedia en la cabeza del espermatozoide, que en otras especies no se catalogaría como progresiva (Samper, 2009).

Primer criterio examinado; la porta y cubre objetos deben estar a temperatura corporal y la valoración seminal debe realizar inmediatamente de colocada la gota de semen. Para valorar la motilidad se la debe examinar

a 100x-200x aumentos, evaluando la velocidad y dirección de movimiento de los espermatozoides; el porcentaje de viabilidad en los caninos es de 70%. Los espermatozoides dañados se ven de color rosa, (Root, 2005).

### **Morfometría espermática**

**La cabeza** de los espermatozoides de mamíferos presenta importantes variaciones en la forma entre las diferentes especies, por ejemplo, es ovoide y discoidal en conejo, toro y cerdo, falciforme en ratón, rata y hámster, algo aplanado y elipsoide en el hombre. En cambio, es elíptica en el caballo (Samper, 2009).

En cuanto al tamaño, también existen considerables diferencias, mientras que el espermatozoide del humano presenta 5-6  $\mu\text{m}$  de longitud y 2,5-3,5  $\mu\text{m}$  de ancho (WHO, 1999), el del caballo tiene una longitud de 6,62  $\mu\text{m}$  y una anchura de 3,26  $\mu\text{m}$  (Hidalgo *et al.*, 2005; Samper, 2009).

En general se podría aceptar que la mayoría de los mamíferos presentan una población espermática morfológicamente homogénea; en el hombre y el caballo es característica la variabilidad morfológica en la población espermática del eyaculado, incluso en individuos fértiles, lo que dificulta la determinación de la morfología normal de un espermatozoide. El eyaculado de la mayoría de animales domésticos se caracteriza por presentar un bajo porcentaje de morfo anomalías, como por ejemplo el macho cabrío (5-15% de morfo anomalías) (Roca *et al.*, 1992).

La forma de los espermatozoides es una característica importante porque afecta a la motilidad. Esta parte del examen se realiza mejor empleando una tinción como la eosina-nigrosina y un microscopio óptico con una lente de inmersión de aceite (1000x aumentos). Una muestra fresca también puede emplearse, con un microscopio de contraste de fase. Para utilizar el método de eosina-nigrosina, se coloca una gota de tinción en una porta objetos de cristal templado y se añade una gota de semen. Se hace la mezcla de las dos gotas, para luego hacer el extendido como si fuera un frotis sanguíneo; permitir el secado del frotis, para luego observarlo al microscopio. Otra técnica de tinción emplea la tinción de Guiensa modificado; se extiende una gota de semen en la porta objeto, se deja secar. Luego esta lámina con el frotis se sumerge en las tres soluciones de tinción durante 5 minutos en cada una, se enjuaga y se deja secar. La porta objetos teñido para la valoración morfológica debe examinarse con aceite de inmersión, por permitir una clara visualización de las anomalías espermáticas; los espermatozoides se clasifican como normales o con anomalías primarias o secundarias. Las muestras aceptables deben contener un 70% o más de espermatozoides morfológicamente normales. Estos caracteres se dan en proceso de producción de los espermias a nivel testículos. Las anomalías incluyen tamaño y forma inusual de la cabeza, encurvamiento de la parte media, presencia de gotas citoplasmáticas proximales y cabezas separadas. Las anomalías secundarias se producen a nivel del epidídimo durante la maduración, estas incluyen colas curvadas o enrolladas y gotas citoplasmáticas distales. En cambio, el eyaculado del caballo no presenta

un porcentaje de morfo anomalías tan bajo, llegando a superar el 20% de anomalías en sementales fértiles (Love et al., 2003), debido, al menos en parte, a la escasez de selección en función a su capacidad reproductiva a la que se ha sometido la especie equina, a diferencia de lo que ocurre en rumiantes y cerdos. De esta manera, el porcentaje de espermatozoides con morfología normal presente en un eyaculado de caballo es extremadamente variable. Posiblemente, la morfología espermática sea uno de los parámetros más importantes, junto con la motilidad, a evaluar en el eyaculado de nuestras especies domésticas. Existen numerosos trabajos de investigación que ponen de manifiesto la importancia de este parámetro, correlacionándolo con la motilidad espermática y con la fertilidad; concretamente, algunas morfo anomalías han sido asociadas con una fertilidad reducida, como las anormalidades de la pieza intermedia y las colas dobladas o enrolladas en espiral (Varner, 2008).

En cuanto a los defectos secundarios, son considerados como menos graves al producirse éstos durante la migración espermática a través del epidídimo o durante su almacenamiento (Samper, 2009).

En cambio, las anomalías terciarias se producen de forma iatrogénica o como consecuencia del manejo del semen durante su procesado y/o evaluación. A pesar de su gran utilidad, este método presenta una gran limitación debido a que de algunas alteraciones morfológicas no se conoce su origen, como ocurre con las cabezas sueltas, lo que induce a que se produzca una mala interpretación de los resultados (Samper, 2009).

Además de las descritas, existe otro tipo de clasificación de las anomalías del espermatozoide, y aceptada por varios autores, que clasifica los defectos espermáticos en mayores y menores, propuesta por Blon (1973). Los defectos mayores, como las alteraciones en el acrosoma o los defectos nucleares, son aquellos que causan muerte embrionaria temprana o impiden que se produzca la fertilización, mientras que los defectos menores, como las anomalías de la cola, alteran la motilidad espermática, impidiendo que el espermatozoide pueda alcanzar al ovocito (Saacke *et al.*, 2000).

Recientemente, se ha sugerido una evaluación de los defectos morfológicos más precisa, teniendo en cuenta la posibilidad de la presencia de más de una anomalía en un mismo espermatozoide (alteraciones del acrosoma, gota citoplasmática proximal, pieza intermedia engrosada, cola enrollada, etc.). Esta metodología, al valorar las diversas anomalías presentes en un espermatozoide de forma conjunta, aporta una información más precisa de la muestra evaluada (Samper, 2009) evitando además errores en la determinación del origen de estos defectos (Varner, 2008).

No obstante, otros autores consideran que una muestra seminal puede ser considerada apta cuando presenta al menos un 60% de espermatozoides con morfología normal (Hurtgen, 1992) ya que una muestra que presentara menos de un 50% se esperaría que presentara un valor de fertilidad reducido (Brito, 2007).

Aunque la valoración de las morfo anomalías utilizando estos métodos ha demostrado ser un importante indicador de la determinación del descenso en la fertilidad en diversas especies incluyendo los équidos (Brito, 2007; Jasko et al., 1990), su subjetividad condiciona la interpretación de los resultados. Además, estos métodos subjetivos de valoración espermática presentan una gran variabilidad intra e inter-laboratorios (Cooper et al., 1999), haciendo necesario la utilización de métodos de valoración morfológicos más objetivos (Hidalgo, 2003).

### **Método de recolección de semen-electroeyaculador**

Se diseñó un electroeyaculador con controles para la selección y ajuste de los estímulos eléctricos, tales como: forma de onda (sinusoide, rectangular o triangular), frecuencia (10 a 100 Hz), voltaje de salida (0 a 50 V), controles de modulación de amplitud, duración, "slope", e intervalo entre estímulos sucesivos. Este electroeyaculador permite el pre establecimiento de estímulos eléctricos definidos, que pueden ser controlados automáticamente por controles incorporados en los circuitos electrónicos del aparato, o que pueden ser controlados manualmente por el operador. Los circuitos de este electroeyaculador permiten, con ajustes menores, la conexión a computadoras para la programación de la aplicación automática de series de estímulos variables o constantes en sus características y número, de acuerdo a las necesidades del régimen de electroeyaculación que se desee aplicar. Este potencial de ajuste otorga versatilidad al electroeyaculador para su uso experimental o de rutina en varias especies. De hecho, además del gato, el eyaculador diseñado, ha sido usado con éxito en la electroeyaculación de carneros, toros, verracos,

perros, zorros y guanacos (Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias-Chile-2004).

Para obtener semen en gatos, se usó una probeta rectal bipolar, manufacturada en el laboratorio y que posee tres electrodos de níquel-plata, (Facultad de ciencias Veterinarias y pecuarias- Chile-2004).

### **Protocolo de electroeyaculación**

La electroeyaculación debe efectuarse con el gato anestesiado para prevenir injurias al gato y al operador. Los gatos se anestesian con una inyección intramuscular de hidrocloreto de ketamina, en dosis de 30 a 35 mg por kilogramo de peso vivo. Una vez que el gato se encuentra en un plano quirúrgico de anestesia, se posiciona en un soporte de madera que le mantiene inmovilizado, con la cabeza más baja que el resto del cuerpo; posición que previene la aspiración y paso a los pulmones de la saliva secretada copiosamente por la acción de la ketamina. Algunos autores recomiendan el uso de atropina para controlar la hipersecreción salivar. Nosotros hemos preferido evitar el uso de atropina, ya que no se han realizado estudios que definan la influencia que la atropina pueda tener en la respuesta electroeyaculatoria (Facultad de ciencias Veterinarias y pecuarias- Chile-2004).

Con el gato en el soporte de madera, se introduce la probeta lubricada con gelatina en el recto, hasta una profundidad de alrededor de 6 cm. La posición de la probeta rectal debe verificarse periódicamente para asegurar que los electrodos estén dirigidos ventralmente durante todo el

proceso electroeyaculatorio. El protocolo de electroeyaculación que se describe a continuación produce electroeyaculados comparables a los que se obtienen con una vagina artificial. Para inducir la electroeyaculación, cada gato recibe un total de 240 estímulos eléctricos, divididos en 4 conjuntos de 60 estímulos cada uno, con un período de 5 min de descanso entre cada conjunto de estímulos. Los estímulos se dan con una onda sinusoidal, a una frecuencia de 30 Hz y un voltaje de 6 V. Para cada conjunto de estímulos, el intervalo entre estímulos es de 3,0 seg. La duración de cada estímulo eléctrico, desde 0 a 6 V y desde 6 a 0 V, es de 1,5 seg y el "slope" de 0 V a 6 V es 0,4 seg. El amperaje en el área de contacto de los electrodos de la probeta con la mucosa rectal, para el voltaje de 6 V, fluctúa entre 46 y 95 mA. Miliamperajes mayores o menores que los indicados para los 6 V son posibles, ya que el amperaje depende del grado de contacto de los electrodos con la mucosa rectal y de la cantidad y características de la materia fecal presente en el recto. El volumen de fluido seminal y el número de espermatozoa obtenido con las 240 estimulaciones constituyen el volumen y número de espermatozoa del electroeyaculado, (Facultad de ciencias Veterinarias y pecuarias- Chile- 2004).

### **Cantidad de semen por eyaculación**

La electroeyaculación es un método más rápido de recolección de espermatozoa para el análisis genético y ofrece el beneficio adicional de usar menos animales. Esta columna describe una técnica de electroeyaculación refinada para ratas quiméricas utilizando anestesia con gas ligero y una plataforma a medida para colección de espermatozoa. quienes dicen que existe

un promedio de espermatozoides de 5-233 millones por eyaculado obtenido con electro eyaculación (Scott y Dziuk, 1964).

Los espermatozoides del cobayo coheren en la formación del rouleau en el epidídimo antes de la eyaculación. En otras especies, la formación y disociación del rouleau ocurre completamente dentro del tracto reproductivo masculino, mientras que, en el cobayo, no es hasta que los espermatozoides llegan al tracto de la hembra después de la cópula cuando ocurre la disociación completa de los rouleau (Martan y Sheperd, 1973; Sisk, 1976). Los espermatozoides de cobayos tienen un movimiento curvilíneo con progresión hacia adelante irregular y la formación de rouleau puede causar dificultades en la clasificación de la motilidad espermática en esta especie (Sisk, 1976). El volumen de eyaculación es de aproximadamente 0,5 ml (0,1-1,2 ml) con un promedio de  $13.376 \times 10^6$  espermatozoides por eyaculación y un tiempo de tránsito desde la cópula hasta llegar al oviducto es de aproximadamente 15 minutos (Freund, 1969; Martan y Shepherd, 1973).

### **Bioquímica del semen**

El semen pasa por el conducto eyaculador y se mezcla con fluidos de la vesícula seminal, la próstata y de las glándulas bulbo-uretrales. Las vesículas seminales producen un fluido viscoso rico en fructosa. Este fluido conforma desde un 65% hasta un 75% de la base del semen. El color blanco del semen es debido al líquido segregado de la próstata que contiene enzimas, ácido cítrico, lípidos y fosfatasa ácida. Esta forma un 25-30% de la base del semen. Por cada eyaculación los testículos liberan entre 200 y

500 millones de espermatozoides. Esto supone aproximadamente entre un 2 y un 5% de la composición semen (Sally, 2015).

Las glándulas bulbo-uretrales producen una secreción clara. Esto facilita la movilidad del esperma en la vagina y en la cervix. Además, esta secreción reduce el grosor del canal por el que tiene que nadar el esperma y le da al semen una consistencia más gelatinosa. La secreción de las glándulas contribuye menos del 1% al contenido del semen. El semen también contiene más de 50 compuestos, entre los cuales se encuentran hormonas, endorfinas, neurotransmisores e inmunosupresores. Entre las varias sustancias presentes en el semen se encuentran las siguientes: fructuosa, ácido ascórbico, Zinc, colesterol, proteínas, calcio, cloro, antígenos de grupos sanguíneos, ácido cítrico, ADN, magnesio, vitamina B12, fósforo, sodio, potasio, ácido úrico, ácido láctico, nitrógeno, vitamina C. El semen también contiene varias proteínas anti-microbio para combatir las bacterias, los virus y los hongos (Sally, 2015).

### **Glucosa**

En la fisiología reproductiva el producto de secreción de la vesícula seminal contiene hexosas de gran importancia (glucosa entre otros) para la conservación de la motilidad de los espermatozoides. La secreción prostática también contiene hexosas, y entre ellas la glucosa. La glucosa puede tener una acción estimuladora o inhibitoria en la capacitación, este es un punto controversial y aparentemente independiente de las especies. El efecto inhibitorio en la capacitación es por el aumento de la fosforilación de la proteínasa observado en los espermatozoides al ser

incubados en presencia de heparina. La concentración de glucosa en plasma seminal de alpacas de 3 años es significativamente superior a las de alpacas de 6 años (7,0 + 0,4 y 5,0 + 0,3 mg/dl. respectivamente) (Garnica et al., 1993). Dentro de los constituyentes carbohidratos del plasma seminal se encuentra trazas de glucosa. La glucosa sanguínea es precursora de la fructosa seminal (Dukes y Swenson, 1981b).

## **Lípidos**

La síntesis del colesterol ocurre virtualmente en todas las células siendo esta capacidad mucho mayor en el hígado, intestino, corteza suprarrenal y tejidos de reproducción que incluyen ovarios, testículos y placenta (Villavicencio, 1996).

El colesterol es una sustancia de muy baja solubilidad en el agua, y de alta solubilidad en el plasma sanguíneo gracias a la presencia de lipoproteínas (principalmente LDL y VLDL) que se unen al colesterol y que la concentración en plasma es de 150 a 200 mg/dl (Murray, 1988).

El colesterol es importante por presentarse en diferentes procesos biológicos, como precursor de ácidos biliares, precursor de hormonas esteroideas, tales como la progesterona, testosterona, estrógeno, cortisol, corticosterona y aldosterona, pero su principal función es ser parte constituyente de todas las membranas celulares e intracelulares (Bohinski, 1998).

El colesterol puede actuar para sensibilizar a la membrana haciéndola menos permeable, con menos flujo y susceptible a la fusión. En

suma, estos efectos directos sobre la bicapa lipídica y alteración en las propiedades físicas de la membrana, pueden influir en la movilidad, conformación y activación de las enzimas de la membrana y el transporte molecular (Cross, 1998).

Se ha puesto atención en el colesterol de la membrana del espermatozoide, ya que ocasiona una variedad de efectos profundos en las características biológicas de la membrana (por ejemplo, la permeabilidad iónica activa y pasiva) por la orientación reguladora y en el flujo de la membrana lipídica (Cross, 1998).

Las células pierden lípidos en el plasma seminal como consecuencia de su almacenamiento prolongado en la cola del epidídimo y ampolla del conducto deferente (McDonald, 1981).

El paso de los espermatozoides a través del tracto reproductivo de la hembra es acompañado por una pérdida de colesterol de la membrana del espermatozoide. Este proceso está involucrado en la capacitación espermática, la cual toma varias horas. El colesterol también media la fusión de la membrana plasmática del espermatozoide con la membrana acrosomal (Davis y Hungund, 1976).

### **Proteínas**

Las proteínas y aminoácidos del plasma seminal ejercen acción protectora sobre los espermatozoides, neutralizando el efecto perjudicial de los metales pesados y previniendo la aglutinación de sus células.

El semen de toro y carnero contiene niveles relativamente altos de proteínas y aminoácidos libres. Los valores de proteína en el semen de toro son de 7,3 (6,3-8,4) g/dl y en el carnero de 4.9 (4,1-6,2) g/dl (Dukes y Swenson, 1981a).

Por lo menos del 30 al 39 % de las proteínas del plasma seminal son distintas a cualquiera de las presentes en la sangre (Salisbury *et al.*, 1978). La remoción y adsorción de proteínas de la superficie espermática es generalmente reconocida como un prerrequisito para la capacitación. La unión de ciertas proteínas a la superficie se ha asociado con la maduración epididimal o a la eyaculación, y ocurre durante la capacitación. In vivo estas sustancias pueden prevenir la capacitación, pre maduración y la hiperactivación en la movilidad y/o que la reacción acrosomal ocurra sin estar en contacto con el ovocito. Existen datos de que en la capacitación in vitro con los lavados solo remueven una parte de estas proteínas, por lo que solo se logra una disminución de la motilidad (Salisbury *et al.*, 1978).

### **Albumina**

Las albúminas son sintetizadas en el hígado y están constituidas por una sola cadena de 610 aminoácidos. Contribuye a la presión osmótica coloidal, actúa como molécula transportadora para bilirrubina, ácidos grasos, oligoelementos y numerosos medicamentos (Murray *et al.*, 1988).

Se cree que la función de las albúminas séricas durante la capacitación in Vitro es la eliminación del colesterol de la membrana plasmática del espermatozoide. Algunos experimentos han demostrado

que el colesterol unido a otras proteínas de transferencia de lípidos que están presentes en el líquido folicular o los fluidos de las trompas de Falopio, pueden ser reemplazados por las albúminas en la fertilización in Vitro; estos resultados sugieren el desarrollo en la activación en el colesterol (Dragilva *et al.*, 1999).

### **Calcio**

El rol del calcio en la iniciación y/o regulación de la capacitación es un punto controversial. Se observa que no hay un cambio intracelular de calcio en los eventos de la maduración. En los espermatozoides de ratón se ha visto al calcio como un requerimiento en la capacitación, sin embargo, no se han medido la concentración intracelular de calcio. Las acciones del calcio en los niveles de enzimas efectores desarrollan en el espermatozoide una señal de transducción (por ejemplo, adenilciclase, nucleótido fosfodiesterasa cíclica) (Dragilva *et al.*, 1999). El calcio y los iones bicarbonatos tienen una forma común de activación en la estimulación de iones de la adenilciclase del espermatozoide maduro, dado que posee enzimas con propiedades únicas (Herrero *et al.*, 1999).

En diversos trabajos se han presentado algunos de los cambios fisiológicos producidos en el espermatozoide que se requieren para la reacción acrosomal. Por ejemplo, en la capacitación espermática en ausencia de calcio, la reacción acrosomal no se realiza de forma adecuada, si subsecuentemente se le adiciona calcio la reacción acrosomal se realiza de forma sincronizada (Frase, 1998).

En particular, el calcio y el pH son involucrados en la capacitación y en la reacción acrosomal. El aumento del calcio y de protones en la capacitación, tienen como resultado un decremento en la longevidad con reacción acrosomal prematura. La concentración anormal de calcio, pH y/o AMPc pueden inhibir la fertilización por alteración de la capacitación y la reacción acrosomal, ocasionando defectos intracelulares en la movilidad espermática (Zabludovsky *et al.*, 1999).

### **Enzimas del plasma seminal**

Gamma glutamiltransferasa ( $\gamma$ -GT) en el líquido seminal es secretada principalmente desde la glándula de la próstata, y es aproximadamente 200 veces mayor que la de la sangre (Heite, 1977).

Estudios recientes han demostrado que la enzima  $\gamma$ -GT en sí misma no es necesaria para la función reproductiva, pero juega un papel importante en el sistema de glutatión peroxidasa que está implicado en la protección de los espermatozoides contra los radicales libres de oxígeno (Zalata *et al.*, 1995).

Una gran variedad de enzimas está presente en el plasma seminal, pero en muchos casos no se ha identificado la glándula responsable de su producción. Los niveles de las enzimas en plasma seminal son muy importantes para el metabolismo del esperma, así como la función del esperma (Brooks, 1990). La Fosfatasa alcalina es una enzima que se encuentra en una gran cantidad de tejidos y órganos, incluyendo los huesos, hígado, riñón, intestino, pulmón y placenta (Hoffmann *et al.*, 1989).

También se han detectado niveles variables de fosfatasa alcalina en el fluido seminal de algunos mamíferos, incluyendo el de gallo y el pavo (Bell y Lake, 1962)

Mejorar una especie pecuaria consiste en aprovechar su variabilidad genética, seleccionando artificialmente y apareando adecuadamente los individuos que la componen, buscando incrementar su eficiencia productiva, con el objetivo final de satisfacer las necesidades del ser humano. Desde el inicio de la domesticación el mejoramiento de la producción animal se ha logrado mediante la aplicación de conceptos biotecnológicos, modificando primero el entorno ambiental y luego la estructura genética de las especies (Raymondi, 2007).

La limitada disponibilidad de reproductores de razas y líneas genéticas para producción en crianza comerciales y familiares hizo necesario el estudio del mejoramiento genético del cuy. Un cuy mejorado es hoy día un cuy más prolífico, más fuerte y con una menor mortalidad sobre todo de los gazapos. Cuy mejorado significa además más producción más para poder satisfacer una demanda de carne de cuy siempre más grande en el Perú y en todo el mundo. Por eso, ese tema es de verdad importantísimo en la crianza de los cuyes y en el estudio genético de esos animales. No confundan el mejoramiento genético con la manipulación genética (Kajjak, 2007).

El objetivo del estudio fue determinar y comparar las características bioquímicas del plasma seminal de alpacas en fresco y descongelado. Se recolectó semen, mediante electroeyaculación, de cuatro

alpacas adultas, una vez por semana por cuatro semanas. El semen se centrifugó y el plasma seminal fue separado. Una parte se analizó en fresco y la otra parte se almacenó en nitrógeno líquido por un mes. Se les hizo el análisis bioquímico a ambos juegos de muestras (Tabla 1). Se determinaron los niveles de glucosa, colesterol total, colesterol-HDL, triglicéridos, proteínas totales, albúmina, calcio, fosfatasa alcalina, ALT y  $\gamma$ -GT. Solo los valores de triglicéridos descendieron significativamente por el proceso de congelación/descongelación ( $p < 0.05$ ), siendo los valores de  $44,12 \pm 7,38$  y  $27,31 \pm 4,65$  mg/dl en fresco y descongelado, respectivamente (Díaz *et al.*, 2015).

Cuadro 1. Comparación bioquímica del plasma seminal fresco y descongelado por alpaca

	Macho 1		Macho 2		Macho 3		Macho 4	
	F <sup>1</sup>	C/DC	F	C/DC	F	C/DC	F	C/DC
Glucosa (mg/dL)	9.07	7.37	7.49	8.67	8.43	9.45	7.88	8.64
Colesterol (mg/dL)	81.13	81.39	78.97	80.15	77.67	84.8	81.35	80.64
Triglicéridos (mg/dL)	47.33 <sup>a</sup>	24.84 <sup>b</sup>	49.57 <sup>a</sup>	27.83 <sup>b</sup>	40.61	29.41	38.97	27.17
HDL colesterol (mg/dL)	4.56	4.64	4.91	4.96	4.79	5.17	4.67	5.09
Proteína total (g/dL)	2.3	2.16	2.5	2.41	2.27	2.16	2.37	2.42
Albúmina (g/dL)	1.09	0.74	1.13	0.85	0.82	0.81	0.86	0.84
Calcio (mg/dL)	11.66	11.04	11.27	11.71	11.83	11.1	12.31	11.91
ALT (U/L)	12.22	6.05	20.31	16.8	18.62	12.74	20.54	33.72
F. alcalina (U/L)	319.15	59.36	230.59	481.82	328.64	265.39	276.65	312.86
Gama-GT (U/L)	95.65	54.86	81.62	150.24	102.64	172.82	78.56	80.83

<sup>a,b</sup> Superíndices diferentes dentro de filas y por animal indican diferencia estadística ( $p < 0.05$ )

<sup>1</sup> F: plasma seminal fresco; C/DC: plasma seminal congelado/descongelado

Fuente: Díaz V. 2015.

## Morfometría y estructura del espermatozoide de cuy

Los espermatozoides son muy diversos en tamaño y forma, cuya evolución está impulsado por dos fuerzas principales: la competencia de esperma y la biología reproductiva femenina (Varea *et al.*, 2013).

En el caso de los mamíferos como el cobayo sus espermatozoides están estructuralmente conformados por dos partes principales, la cabeza y la cola (Tulsiani y Abou-Haila, 2012).

La cola está subdividida en cuatro regiones; el cuello, pieza media, pieza principal y pieza final. Mientras que los principales componentes de la cabeza son el acrosoma y el núcleo (Fawcett, 1965).

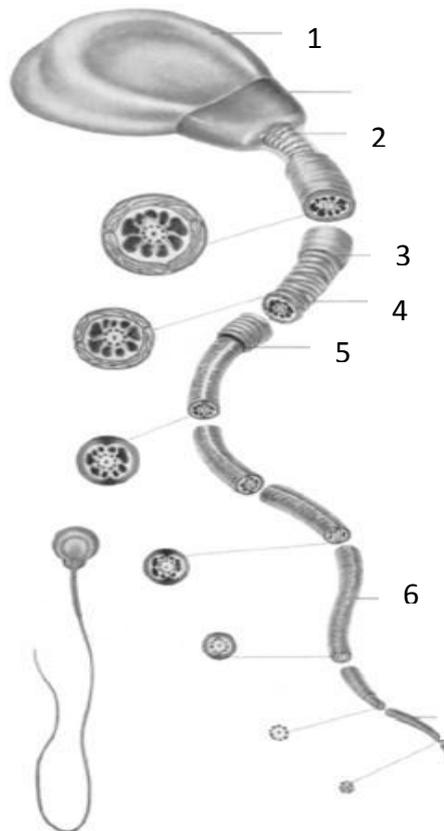


Fig. 1 Partes del Espermatozoide del cuy (*Cavia porcellus*)

1. ACROSOMA y NÚCLEO, que conforman la cabeza.
2. PIEZA DE CONEXIÓN, que conforma el cuello.
3. MEMBRANA CELULAR, que la forma la pieza intermedia.
4. VAINA MITOCONDRIAL, considerada dentro de la pieza media.
5. ANILLOS y VAINA FIBROSA, considerada como pieza principal.
6. FILAMENTO AXIAL, viene a ser la pieza terminal (Fawcett, 1965).

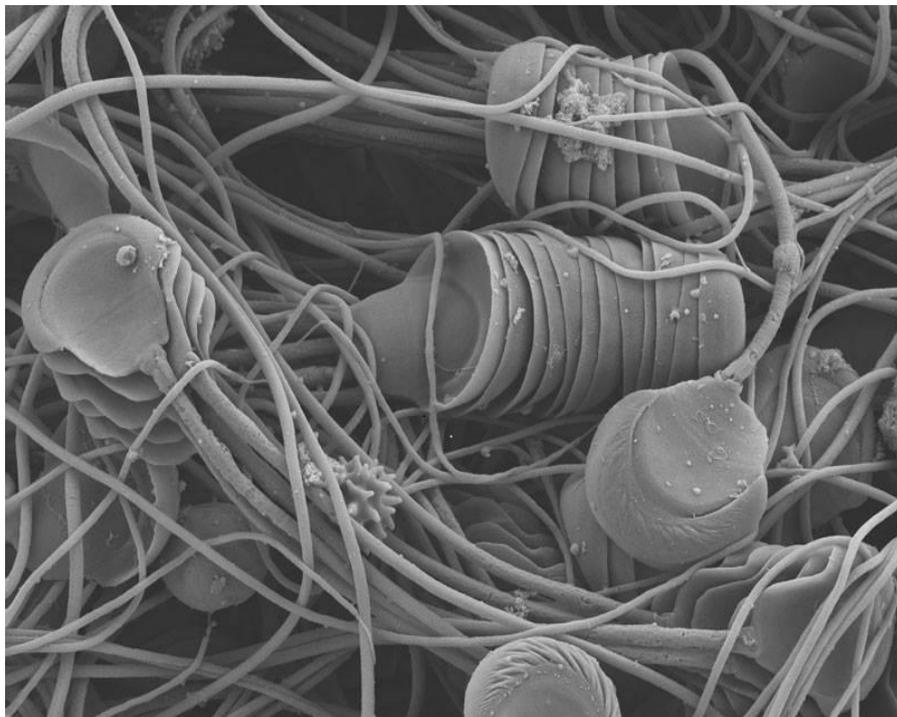


Fig. 2 Espermatozoides del cuy (*Cavia porcellus*), distribuidos en paquetes.

La cabeza del espermatozoide de cobayo es oval y mide alrededor de 8 micras, mientras que el flagelo o cola mide 108,3 micras. La forma de la cabeza se determina en gran parte por la forma del núcleo, pero en el conejillo de indias el gran tamaño del acrosoma es el que lo caracteriza. La función del acrosoma no es muy clara, pero se le ha correlacionado con el aumento de la capacidad fertilizante de los espermatozoides, mientras que la propiedad del núcleo está relacionada con ADN (Aliaga *et al.*, 2009).

El cuello es la región estrecha entre la cabeza y el comienzo de la vaina mitocondrial. El componente principal del cuello es la pieza de conexión cuya función es fijar la cola a la cabeza (Fawcett, 1965).

La pieza intermedia está relacionada con la vaina mitocondrial, se dice que existe alrededor de 80-85 mitocondrias por espermatozoide. La pieza principal se caracteriza por una vaina compuesta de elementos fibrosos, es así que también es denominada, la hélice de la cola. La última estructura de la cola es la pieza final, ésta es muy parecida a un cilio y está compuesta de varios filamentos pequeños que dan la impresión de uno solo (Afzelius, 1959).

### **Evaluación del semen fresco (Cuy)**

Las amplias variaciones en las características del semen, particularmente la concentración de espermatozoos y el volumen de la muestra, son evidentes. Los medios para la concentración de espermatozoos por eyaculación en este estudio oscilaron entre  $2,875 \times 10^6$  a  $35,003 \times 10^6$  y el promedio fue de  $13,376 \times 10^6$ . Esta variabilidad en un grupo de cobayos no seleccionados confirma el trabajo previo con grupos de hombres no seleccionados (Freund, 1969). Sin embargo, la morfología normal media fue del 95% para los 870 especímenes y el valor medio más bajo fue del 92%. Esto contrasta fuertemente con la amplia variación en las morfologías medias reportadas para donantes humanos no seleccionados (Freund, 1969) y apoya la impresión histológica de que la espermatogénesis en el roedor es un proceso más preciso y bien ordenado que en el hombre:

Concentración de espermatozoides ( $10^6/\text{ml}$ ) = 41,872

Volumen eyaculado (ml)= 0,5

Concentración de espermatozoides ( $10^6/\text{eyaculación}$ ) =13,376

Motilidad (%)=66

Motilidad espermática ( $10^6/\text{eyaculación}$ ) = 9,268

Morfología normal (%)= 95

La valoración macroscópica implica evaluar el volumen, pH y color, mientras que la microscópica permite determinar la concentración, motilidad, morfología, vitalidad, e integridad de las membranas (Lucio *et al.*, 2009).

En un estudio realizado en cobayos utilizando electroeyaculador determinó el volumen del eyaculado está entre 0,6 a 0,8cc, con un color blanquecino y una acidez de 7 (Durrant, 1984)

Para la determinación de la concentración espermática se utiliza las cámaras hemocito métricas o espectrofotómetros (Ortiz, 2000) y se prepara una dilución 1:20, 1:10 o 1:50 con cada muestra homogenizando bien el semen con el diluyente dividiendo el promedio del recuento para el factor 1+9, 1+19 o 1+49 (OMS, 2013).

Para determinar las características del semen de cobayas se recogieron 30 muestras a intervalos semanales de veintinueve cobayas no seleccionadas para determinar las interrelaciones entre las características del semen y comparar la variabilidad en las características del semen entre los eyaculados repetidos del mismo animal y entre los medios para las

características del semen entre animales. Los medios para las características del semen de los 870 especímenes se presentan en la Tabla 2. Por razones de abundancia, sólo los medios para los cuatro cobayos con los más altos (Números 1 a 4), los cuatro con los más bajos a 29), y los cuatro con las concentraciones medias de esperma por eyaculación se incluyen. Son evidentes amplias variaciones en las características del semen, particularmente la concentración de esperma y el volumen de muestra, (Tabla 2). Los medios para la concentración de esperma por eyaculación en este estudio oscilaron entre  $2,875 \times 10^6$  a  $35,003 \times 10^6$  y el promedio fue de  $13,376 \times 10^6$ . Esta variabilidad en un grupo de cobayas no seleccionadas confirma el trabajo previo con grupos de hombres no seleccionados (Freund, 1969) y otros. Sin embargo, la morfología normal media fue del 95% para los 870 especímenes y el valor medio más bajo fue del 92%. Esto contrasta fuertemente con la amplia variación en las morfologías medias reportadas para los donantes humanos no seleccionados (Freund, 1969) y apoya la impresión histológica de que la espermatogénesis en el roedor es un proceso más preciso y bien ordenado que en el hombre. En el caso de la motilidad, no hubo mucha variabilidad entre los valores medios de los animales (Tabla 2), mientras que los datos en bruto indican una gran variabilidad entre los índices de motilidad realizados en especímenes repetidos del mismo animal. Esta distribución anómala de la varianza puede deberse al tipo inusual de motilidad que se encuentra en el semen de cobayo, que se describió previamente (Freund, 1969) en el resultando dificultades para hacer estimaciones precisas del porcentaje de motilidad. Los patrones de natación de los espermatozoides

de cobayas son curvilíneos y se caracterizan por una progresión progresiva irregular, en comparación con el toro o los espermatozoides humanos. Por otra parte, la frecuente formación de "cabeza a cabeza" rouleaux, como se ha descrito anteriormente (Freund, 1969), hace la clasificación de motilidad difícil, (Laboratorio de Farmacología Reproductiva, Nueva York, EE.UU. 1969).

Tabla 2. Medias de las características del semen de cobayas (870 eyaculados)

No. animal	Conc. de esperm. (10 <sup>6</sup> ml)	Volumen eyaculado (ml)	Conc de Esper. 10 <sup>6</sup> /Eyacul)	Motilidad %	N° esperm. móviles 10 <sup>6</sup> / Eyacul.	Morofología normal %	peso corporal (g)
1	51-323	1.0	35-003	71	25-099	94	956
2	110-371	0.3	29.000	67	22-15		802
3	97-863	0.2	18-409	52	9-346	94	932
4	67-703	0.3	17-570	60	11-742	96	731
13	25-587	0.6	11-472	71	8-426	96	951
14	37-687	0.5	11-470	68	7-878	95	756
15	25-291	0.5	11-249	74	8-505	96	870
16	21-344	0.7	10-570	67	7-532	93	1212
26	14-271	0.6	5-448	70	3-949	92	858
27	28-010	0.3	4-426	59	2-612	96	686
28	10-753	0.3	3-023	72	2-192	97	885
29	13-181	0.6	2-875	59	1-775	97	864

Valores medios \* 41-782 0-5 13-376 66 9-268 95875

\* Medios para todos los veintinueve animales en el estudio.

Fuente: MATTHEW FREUND (Received 24:th June 1968, accepted 8th January 1969)

Realizaron estudios en ratones y obtuvieron un concentrado espermático promedio de  $7,0 \pm 5,9 \times 10^6$  ml colectado por microcirugía epididimal (Boersma *et al.*, 2015)

En tanto a motilidad, las células espermáticas del cuy tienen un movimiento curvilíneo y se caracterizan por una progresión hacia adelante irregular (Wagner y Manning, 1976). La motilidad espermática es un indicador de vitalidad y ésta a su vez es un reflejo de integridad de las membranas y funcionamiento del metabolismo celular (Ortiz, 2000). Según (Yanagimachi, 1994) la motilidad del espermatozoide no es esencial para

la fusión espermatozoide-ovocito, pero es definitivamente necesaria para la penetración del esperma con éxito a través de la zona pelúcida. La evaluación de la motilidad espermática se divide en motilidad masal y motilidad individual progresiva. La motilidad masal se determina por la observación microscópica de los movimientos en ondas de los espermatozoides de un eyaculado antes de su dilución, utilizando una escala de 0 (sin movimiento) al 5 (vigoroso movimiento) (Páez, 2012).

El objetivo de un estudio fue determinar la presencia de subpoblaciones espermáticas con pautas específicas de motilidad en semen de caballo, cerdo y conejo. Se utilizó para este fin el análisis computarizado de la motilidad espermática (CASA). La optimización de las variables que mejor explican el movimiento espermático se realizó mediante un análisis de agrupamiento de variables basado en el estudio de su matriz de covarianza. La investigación demostró que tres subpoblaciones espermáticas en semen de cerdos y cuatro en semen de caballo y conejo coexisten en los eyaculados. Se encontraron diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) en la distribución de estas subpoblaciones en todas las especies, sobretodo en caballos y en conejos (Quintero, 2004).

La motilidad individual se evalúa por medio de observaciones microscópicas de los espermatozoides en una dilución iso osmótica (Caycedo, 2000). Se menciona una motilidad individual de 90% en espermatozoides de cobayo (OMS, 2013).

Las evaluaciones microscópicas de motilidad son en su mayor parte subjetivas por lo que pueden estar sujetas a variaciones según el observador (Rubio *et al.*, 2007).

Tabla 3. Valores medios y desviaciones estándar para la longitud de la cabeza, el ancho y la longitud total de la cola en 20 especies de Roedores caviomorfos. Medidas en mm. El contenido de ADN (pg ADN) también se proporciona para diferentes taxonomías.

(Gallardo et al. 2002, En prensa).

TAXONOMIA		Longitud Media de la cabeza	Ancho medio de la cabeza	Longitud media de la cola	Contenido de ADN del gameto
ABROCOMIDAE					
	(1)	6,4 ± 0,3	4,4 ± 0,1	3,0 ± 1,2	
<i>Abrocoma bennetti</i>					
CAVIIDAE					
<b><i>Cavia porcellus</i></b>	<b>(1)</b>	<b>7,5 ± 0,3</b>	<b>6,6 ± 0,1</b>	<b>92,3 ± 0,9</b>	
<i>Dolichotis salinicola</i>	(1)	5,5 ± 0,3	3,3 ± 0,2	47,3 ± 0,8	
<i>Galea musteloides</i>	(3)	5,3 ± 0,2	4,9 ± 0,4	47,2 ± 1,0	
<i>Microcavia australis</i>	(4)	5,3 ± 0,2	4,8 ± 0,4	44,5 ± 0,7	
CTENOMYIDAE					
<i>Ctenomys coyhaiquensis</i>	(2)	7,6 ± 0,4	4,3 ± 0,3	66,3 ± 2,2	
<i>Ctenomys eremicus</i>	(2)	9,7 ± 1,4	5,8 ± 0,5	70,6 ± 1,8	
<i>Ctenomys haigi</i>	(6)	8,1 ± 0,6	5,5 ± 0,2	61,7 ± 1,6	
<i>Ctenomys sociabilis</i>	(1)	6,7 ± 0,3	5,4 ± 0,2	61,8 ± 1,2	
OCTODONTIDAE					
<i>Aconaemys fuscus</i>	(2)	5,6 ± 0,3	3,3 ± 0,2	35,2 ± 2,3	
<i>Aconaemys porteri</i>	(2)	5,5 ± 0,2	3,1 ± 0,1	33,2 ± 0,8	2,1 ± 0,3
<i>Aconaemys sagei</i>	(2)	5,5 ± 0,4	3,3 ± 0,2	40,9 ± 1,4	
<i>bridgesi</i>	(3)	7,0 ± 0,7	4,4 ± 0,4	39,1 ± 1,7	
<i>Octodon degus</i>	(7)	6,0 ± 0,7	4,6 ± 0,4	40,9 ± 1,6	2,7 ± 0,1
<i>Octodon lunatus</i>	(1)	7,7 ± 0,6	5,3 ± 0,4	35,8 ± 2,4	
<i>Octomys mimax</i>	(2)	5,4 ± 0,8	3,9 ± 0,7	33,4 ± 0,8	4,1 ± 0,3
<i>Octodontomys gliroides</i>	(2)	6,5 ± 0,3	4,7 ± 0,5	39,7 ± 1,0	
<i>Spalacopus cyanus</i>	(5)	5,2 ± 0,6	3,4 ± 0,5	36,0 ± 1,6	3,3 ± 0,5
<i>Tympanoctomys barrerae</i>	(7)	14,2 ± 0,3	13,7 ± 0,3	69,5 ± 1,0	8,7 ± 0,5
MYOCASTORIDAE					
<i>Myocastor coypus</i>	(1)	4,4 ± 0,2	3,3 ± 0,1	31,1 ± 1,5	

Fuente: Milton H. Gallardo, F.C. Mondaca, R.A. Ojeda, N. Köhlerand O. Garrido-Año 2002

La vitalidad o viabilidad espermática indica la proporción de espermatozoides totales vivos de acuerdo al criterio de inclusión del colorante. Para ésta técnica se utiliza eosina sola o combinada con nigrosina y se cuentan cien espermatozoides con el microscopio, diferenciando los vivos (no coloreados) de los muertos (coloreados) (Lucio *et al.*, 2009).

Según la (OMS, 2013) HOS es un test simple y brinda información sobre la integridad y función de la membrana de la cola de los espermatozoides. Está basado en el principio de la semipermeabilidad de la membrana plasmática, en donde el influjo de agua o “hinchazón” se produce al exponer a las células espermáticas a un medio hiposmótico. Los parámetros tradicionales no son lo suficientemente sensibles para evaluar la capacidad de los espermatozoides para realizar con eficacia la reproducción en el tracto productivo femenino. Sin embargo, cuando son combinados con la evaluación de la fertilidad espermática utilizando óvulos homólogos se ha mejorado la evaluación. Pero esta sigue siendo incompleta ya que, la evaluación integral del semen también involucra su capacidad para llegar al sitio de la fertilización, su capacitación y la reacción del acrosoma, la penetración a la zona pelúcida, la fusión con el ooplasma y descondensación de la cromatina (Durrant, 1984).

El volumen del semen de conejo oscila notablemente, si bien se consideran normales las eyaculaciones entre 0,4 y 0,8 cc., variación que obedece a la secreción de las glándulas anexas. La cantidad de espermatozoides por cc., oscila entre 150,000,000 y 300,000,000, si bien hay notables oscilaciones entre los individuos e incluso en un mismo animal puede variar según el ejercicio de la época del año. El semen de conejo es muy rico en fructosa —0,4 a 4 mg/CC., procedente de la próstata y en ácido cítrico —0,5-6 mg/cc, procedente de la glándula vesicular (SENA-Holanda, 2010)

El objetivo del presente estudio fue determinar los niveles de los componentes energéticos (glucosa y triglicéridos) en el plasma seminal y la motilidad espermática de 10 cobayos, los cuales fueron alimentados por un período de 2 meses con una dieta 10% mayor en energía digestible (ED). El nivel de glucosa encontrado en plasma seminal fue de  $11,59 \pm 0,5$  mg/dL y el valor de triglicéridos fue de  $55,95 \pm 3.2$  mg/dL, mientras que la motilidad promedio fue de 95%. Concluimos que en cobayos los niveles de glucosa y triglicéridos se incrementan al aumentar el nivel de energía digestible (ED) en la dieta sin producir alteraciones en la motilidad espermática (Rodríguez *et al.*, 2016).

Tabla 4. Comparación bioquímica del plasma seminal fresco y descongelado por alpaca

Componente	Macho 1		Macho 2		Macho 3		Macho 4	
	F1	C/DC	F	C/DC	F	C/DC	F	C/DC
Glucosa (mg/dL)	9,07	7,37	7,49	8,67	8,43	9,45	7,88	8,64
Colesterol (mg/dL)	81,13	81,39	78,97	80,15	77,67	84,8	81,35	80,64
Triglicéridos (mg/dL)	47, 33 <sup>a</sup>	24,84 <sup>b</sup>	49, 57 <sup>a</sup>	27,83 <sup>b</sup>	40,61	29,41	38,97	27,17
HDL colesterol (mg/dL)	4,56	4,64	4,91	4,96	4,79	5,17	4,67	5,09
Proteína total (g/dL)	2.3	2.16	2.5	2.41	2.27	2.16	2.37	2.42
Albumina (g/dL)	1,09	0,74	1,13	0,85	0,82	0,81	0,86	0,84
Calcio (mg/dL)	11,66	11,04	11,27	11,71	11,83	11,1	12,31	11,91
ALT (U/L)	12,22	6,05	20,31	16,8	18,62	12,74	20,54	33,72
F. alcalina (U/L)	319,15	59,36	230,59	481,82	328,64	265,39	276,65	312,86
Gama-GT (U/L)	95,65	54,86	81,62	150,24	102,64	172,82	78,56	80,83

a,b Superíndices diferentes dentro de filas y por animal indican diferencia estadística ( $p < 0.05$ ) 1 F: plasma seminal fresco; C/DC: plasma seminal congelado/descongelado. Rev. Inv. Vet. Perú 2015; 26(1): 43-4846H. (Díaz *et al.*, 2015).

Tabla 5. Valores mínimos y máximos de los parámetros seminales en Mazama pandora (Venados)

<b>PARÁMETROS SEMINALES</b>	<b>VALORES MÍNIMOS Y MÁXIMOS</b>
Volumen eyaculado	0,2 a 1,5 ml
pH	6 a 7
Concentración espermática	120 a 1510 x 10 a la sexta Esp/ml
Total de espermatozoides por eyaculado	69 a 1583x10 a la sexta esp/ml
Motilidad masal	1 a 5
Motilidad individual	10 a 80 %
Morfología normal (%)	81 a 92%
Acrosoma intacto (%)	92 a 100%

William Jesús Ríos Martínez<sup>1</sup>, María del Carmen Basto Segovia<sup>2</sup>, Conrado Solís Rojas<sup>2</sup> y José Manuel Mukul Yerves<sup>2</sup>. 2015.william.rios@impi.gob.mx-

Para la morfometría espermática se seleccionaron y analizaron 50 espermatozoides morfológicamente normales. Las medidas obtenidas para la longitud cefálica oscilaron 7 a 10  $\mu\text{m}$ , para el ancho cefálico entre 4 y 5  $\mu\text{m}$ , longitud total del espermatozoide entre 54 a 63  $\mu\text{m}$ , longitud del flagelo entre 45 a 55  $\mu\text{m}$ , el área cefálica varió de 21,99 a 39,76  $\mu\text{m}^2$  y perímetro cefálico entre 17,60 a 24,22  $\mu\text{m}$ . En la tabla 6 se presenta el promedio y desviación estándar de las medidas obtenidas (Ríos *et al.*, 2015).

Tabla 6. Promedio y desviación estándar de las medidas morfométricas en espermatozoides con morfología normal de venado Temazate café (*M. pandora*) en cautiverio.

<b>Parámetro morfométrico</b>	<b>X ± DE</b>
Longitud cefálico (µm)	8,92 ± 0,66
Ancho cefálico (µm)	4,58 ± 0,49
Área cefálica (µm <sup>2</sup> )	32,10 ± 4,34
Perímetro cefálico (µm)	21,77 ± 1,39
Longitud del flagelo (µm)	50,8 ± 1,81
Longitud total del espermatozoide (µm)	59,72 ± 1,84

William Jesús Ríos Martínez<sup>1</sup>, María del Carmen Basto Segovia<sup>2</sup>, Conrado Solís Rojas<sup>2</sup> y José Manuel Mukul Yerves<sup>2</sup>. 2015. [william.rios@impi.gob.mx](mailto:william.rios@impi.gob.mx)-

Por todo ello la clasificación morfométrica y morfológica espermática se ha convertido en parte integral de la rutina del análisis seminal (Ríos et al., 2015).

Las cualidades que deben tener los espermatozoides de un eyaculado fecundante son: motilidad progresiva, morfología normal, metabolismo energético activo, capacidad para desarrollar una motilidad hiperactivada, integridad estructural y funcional de la membrana, integridad de las enzimas asociadas con la fecundación, capacidad de penetración y transferencia óptima del material genético. Sin embargo, este análisis integral es muy difícil de desarrollarlo, debido a la enorme complejidad inherente a la función espermática (Graham, 1996).

Tabla 7. Parámetros espermáticos (media  $\pm$  sem) obtenidos tras la evaluación de la calidad seminal de 40 eyaculados de 10 sementales fértiles

PARÁMETROS	RAZAS				TOTAL
	PARA	PSI	A-a	PRE	
Volumen (ml)	45,88 $\pm$ 9,38 <sup>b</sup>	65,00 $\pm$ 10,40 <sup>a</sup>	79,75 $\pm$ 5,20 <sup>a</sup>	69,00 $\pm$ 3,24 <sup>a</sup>	65,74 $\pm$ 3,52
Concentración (x10 <sup>6</sup> spz/ml)	255,87 $\pm$ 50,17 <sup>a</sup>	175,5 $\pm$ 20,53 <sup>a</sup>	211,25 $\pm$ 22,62 <sup>a</sup>	162,81 $\pm$ 24,66 <sup>a</sup>	193,65 $\pm$ 15,82
Espermatozoides totales (x10 <sup>9</sup> spz/ml)	8,46 $\pm$ 0,97 <sup>b</sup>	10,67 $\pm$ 1,03 <sup>b</sup>	16,58 $\pm$ 1,97 <sup>a</sup>	11,54 $\pm$ 1,87 <sup>ab</sup>	11,79 $\pm$ 0,99
Movimiento total (%)	95,86 $\pm$ 1,91 <sup>a</sup>	93,37 $\pm$ 2,20 <sup>a</sup>	91,88 $\pm$ 2,27 <sup>a</sup>	93,50 $\pm$ 1,73 <sup>a</sup>	93,67 $\pm$ 0,99
Movimiento progresivo (%)	82,59 $\pm$ 2,77 <sup>a</sup>	72,34 $\pm$ 3,28 <sup>b</sup>	70,24 $\pm$ 2,82 <sup>b</sup>	76,97 $\pm$ 2,26 <sup>ab</sup>	75,96 $\pm$ 1,49
Morfología normal (%)	84,23 $\pm$ 2,45 <sup>a</sup>	60,93 $\pm$ 4,35 <sup>c</sup>	66,97 $\pm$ 1,19 <sup>bc</sup>	75,74 $\pm$ 2,14 <sup>ab</sup>	72,61 $\pm$ 2,14
Morfoanomalías (%)	16,51 $\pm$ 2,59 <sup>b</sup>	39,07 $\pm$ 4,35 <sup>a</sup>	33,02 $\pm$ 1,19 <sup>a</sup>	28,02 $\pm$ 3,11 <sup>ab</sup>	29,60 $\pm$ 2,50
Anomalías de la cabeza (%)	8,45 $\pm$ 3,11 <sup>a</sup>	9,67 $\pm$ 1,50 <sup>a</sup>	5,77 $\pm$ 2,04 <sup>a</sup>	9,25 $\pm$ 3,27 <sup>a</sup>	8,69 $\pm$ 1,35
Anomalías de la cola (%)	2,82 $\pm$ 0,85 <sup>b</sup>	1,87 $\pm$ 0,51 <sup>b</sup>	3,52 $\pm$ 0,81 <sup>b</sup>	6,42 $\pm$ 0,87 <sup>a</sup>	3,96 $\pm$ 0,59
Anomalías de la pieza intermedia (%)	5,22 $\pm$ 1,25 <sup>b</sup>	25,84 $\pm$ 4,67 <sup>a</sup>	24,31 $\pm$ 4,03 <sup>a</sup>	12,34 $\pm$ 2,07 <sup>b</sup>	16,76 $\pm$ 2,45
Espermatozoides íntegros (%)	68,20 $\pm$ 9,81 <sup>a</sup>	52,27 $\pm$ 6,48 <sup>a</sup>	47,25 $\pm$ 14,72 <sup>a</sup>	48,75 $\pm$ 4,70 <sup>a</sup>	54,34 $\pm$ 4,08
Espermatozoides activados (%)	24,71 $\pm$ 4,10 <sup>b</sup>	41,69 $\pm$ 16,09 <sup>ab</sup>	50,93 $\pm$ 16,09 <sup>a</sup>	42,67 $\pm$ 6,69 <sup>a</sup>	39,24 $\pm$ 3,72
Espermatozoides desnudos (%)	17,55 $\pm$ 13,37 <sup>a</sup>	7,07 $\pm$ 2,14 <sup>a</sup>	7,42 $\pm$ 4,82 <sup>a</sup>	8,58 $\pm$ 2,24 <sup>a</sup>	8,90 $\pm$ 1,88
pH	7,52 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	7,68 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	7,57 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	7,58 $\pm$ 0,03 <sup>a</sup>	7,59 $\pm$ 0,03

PRA= Pura Raza Árabe; PSI= Pura Sangre Ingles; A-a= Anglo-Árabe; PRE= Pura Raza Español; SEM= error estándar de la media.

Diferentes letras (a-d) para la misma fila indican diferencias estadísticamente significativas entre razas (P<0,05).

(Buzón, 2014).

Tabla 8. Características del Eyaculado de varias especies domésticas

Especie	Eyaculado Volumen (ml)	Concentración Espermática (X 10 <sup>9</sup> /ml)	Total	%	%
			Espermatozoides por Eyaculado (10 <sup>9</sup> )	Motilidad	Normales
Toro	8,0	1,5	12	75	95
Carnero	1,0	3,0	3	95	95
Verraco	200	0,25	50	70	90
Potro	80	0,15	12	70	40-90
Hombre	2-6	0,15	0-9	65	30-70

Fuente: J. Parrish, Department of Animal Science, University of Wisconsin-Madison

## **2.3. Marco conceptual**

### **Espermiograma Clásico**

Los científicos y especialistas en reproducción animal se enfrentan a un gran reto a la hora de poder valorar la calidad seminal y comparar sus resultados con los de otros estudios o laboratorios. Esto es debido, en parte, a la ausencia de un protocolo estándar de valoración, existe así una gran variabilidad de resultados, equiparable a la variedad de métodos empleados en la valoración espermática, que limitan el valor de los métodos de evaluación de la calidad seminal en caballos (Gravance *et al.*, 1998b).

Otro problema es la falta de consenso entre los laboratorios a la hora de interpretar los resultados (Vázquez *et al.*, 1997) y, por tanto, si bien el espermiograma clásico aporta una información válida de la calidad seminal ésta no es suficiente como para poder permitirnos una mayor comprensión de todos los procesos que determinan la calidad espermática (Davis y Siemers, 1995).

El semiograma clásico evalúa de una forma rutinaria diversos parámetros espermáticos como el pH, el volumen, la concentración, el movimiento espermático y la morfología, entre otros. Estos parámetros individualmente no presentan una correlación definitiva con la fertilidad, si bien su interpretación global nos permite una primera evaluación y control rutinario de la calidad seminal. Así, como resultado del análisis seminal, podemos calificar a la muestra como “apta” o “no apta” para su uso en inseminación artificial o en determinados programas de reproducción asistida (Hidalgo, 2003).

Para ello, se incluyen una serie de pruebas que evalúan diversos factores o funciones de la célula espermática. Aunque no hay un consenso sobre la eficacia de las diferentes pruebas utilizadas en andrología, en cuanto a predicción de la fertilidad del macho, el espermiograma sigue siendo, sin embargo, una prueba fidedigna que permite valorar la calidad de las muestras seminales correspondientes a diferentes especies. No obstante, en ocasiones, los resultados de los parámetros espermáticos del espermiograma clásico pueden no ser suficientes para determinar con exactitud la capacidad fecundante de un eyaculado (Butler y Roberts, 1975; Pace *et al.*, 1981; Rodríguez, 2000.; Saacke *et al.*, 1980).

### **Semen**

El semen es un líquido o suspensión celular semigelatinosa que contiene los gametos masculinos o espermatozoides y las secreciones de los órganos accesorios del aparato reproductor masculino.

La porción líquida de esta suspensión, formada durante la eyaculación, se llama plasma seminal. En el siguiente cuadro se muestran las características del semen de algunas especies domésticas.

Tabla 9. Características seminales y componentes químicos del semen de animales de granja.

Caracteres del componente	Toro	Carnero	Verraco	Garañón	gallo
Volumen del eyaculado (ml)	5-8	0.8-1.2	150-200	60-100	0.2-0.5
Concentración espermatozoides /ml/ml)	800-2000	2000-3000	200-300	150-300	3000-7000
Espermatozoide/eyaculado (miles-millones)	5-15	1.6-3.6	30-60	5-15	0.6- 3.5
Motilidad del espermatozoide (%)	40-75	60-80	50-80	40-75	60-80
Espermas morfolog. Normales (%)	65-95	80-95	70-90	60-90	85-90
Proteína (G/100 ml)	6.8	5.8	3.7	1.0	1.8- 8
pH	6.4-7.8	5.9-7.3	7.3-7.8	7.2-7.8	7.2-7.6
Fructuosa	460-600	250	9	2	4
Sorbitol	10-140	26-170	6-18	20-60	0-10
Ácido cítrico	620-806	110-260	173	8-53	Nil
Inositol	25-46	7-14	380-630	20-47	16-20
Glicerilfosforilcolina (GPC)	00-500	1100-2100	110-240	40-100	0-40
Ergotioneína	0 0	17	40-100	0.2	
Sodio	225+-13	178+-11	587	257	352
Potasio	155+-6	89+-4	197	103	61
Calcio	40+-2	6+-2	6	26	10
Magnesio	8+-3	6+-8	5-14	9	14
Cloro	174-320	86	260430	448	147

Fuente: Adaptado de Foote *et al.*, 1980; Gilbert, 1980; Lake, 1971; White 1980. Valores promedios de componentes químicos (mg/100ml+- DE a menos que se indique lo contrario. Valores en rangos.

Tabla 10. Escala de vigor espermático de acuerdo a su movilidad.

- 0 Espermatozoides inmóviles o muertos.
- 1 Espermatozoides sin movimiento progresivo, girando sobre si mismos.
- 2 Espermatozoides con movimiento anormal o eventualmente Progresivo.
- 3 Espermatozoides con movimiento progresivo lento y sinuoso
- 4 Espermatozoides con movimiento progresivo muy rápido
- 5 Espermatozoides con movimiento progresivo energético.

Fuente: Tomada de (Aisen y Venturino, 2004).

Tabla 11. Escala de clasificación de la motilidad masal y motilidad individual del semen fresco de bovino.

<b>Valor Motilidad masal</b>	<b>Clasificación</b>	<b>Descripción</b>
1	Excelente	Olas rápidas (+++)
2	Bueno	Olas lentas (++)
3	Regular	Olas irregulares (+)
4	Malo	Movimientos esporádicos (-)
<b>Motilidad individual</b>		
1	Excelente	> 70%
2	Bueno	50-70%
3	Regular	30-50%
4	Malo	< 30%

Fte. Rosenberger 1981.

### **Valoración de la calidad del semen de dos razas de cuyes relacionadas con las características cinéticas, morfométricas y bioquímicas.**

La calidad seminal esta descrita a través de un amplio rango de variables; características cualitativas del eyaculado, caracteres ligados a la composición bioquímica del plasma seminal, características cualitativas del espermatozoide o caracteres relacionados con el volumen eyaculado y la concentración espermática, (Ducrocq y Humblot, 1997).

Las cualidades que deben tener los espermatozoides de un eyaculado fecundante son: motilidad progresiva, morfología normal, metabolismo energético activo, capacidad para desarrollar una motilidad hiperactiva, integridad estructural y funcional dela membrana, integridad de las enzimas asociadas con la fecundación, capacidad de penetración y transferencia óptima del material genético. Sin embargo, este análisis integral es muy difícil de desarrollarlo, debido a la enorme complejidad inherente a la función espermática (Graham, 1996).

Los espermatozoides pueden tener dos tipos de movimiento: movimiento de rotación (alrededor de su eje), movimiento progresivo (desplazamiento de la célula) el cual a su vez puede ser lineal o circular. Dentro de la motilidad total un caso especial hace referencia a la denominada “motilidad masal” que es únicamente evaluable en eyaculaciones de mamíferos con concentraciones espermáticas elevadas, como es el caso de los rumiantes. Primero se estima el porcentaje de espermatozoides que muestran algún tipo de movimiento o “motilidad total”; segundo el porcentaje de espermatozoide motiles que presentan un movimiento progresivo o “motilidad progresiva”. En la motilidad individual (caracteres cinéticos) se considera: MB (muy bueno) =80-100% de células móviles, B (bueno) =60-79%, R (regular) =40-59%, P (pésimo) =menos del 40%. El porcentaje que se indica es el de los espermatozoides con movimiento rectilíneo progresivo del total de los espermatozoides aceptados, siendo el valor mínimo aceptable del 50%, (Gómez *et al.*, 2005).

En la motilidad masal, la escala que se toma para el movimiento es de 1 a 5, evaluando como 1 al semen que no presenta ondas, y 5 cuando las ondas se mueven rápidamente formando remolinos. Dentro de estos parámetros se consideran los puntos intermedios, además se considera como un valor mínimo de aceptación de 3 de (MMMI) motilidad masal microscópica (Gómez *et al.*, 2005).

La concentración espermática, es una de las pruebas de análisis seminal más importante. Existe variabilidad muy grande en la concentración de un eyaculado a otro, siendo importante conocer el número de

espermatozoides por eyaculado, ya que de este parámetro depende el número de hembras a inseminar (Paulenz y Hofino, 1996).

En conejos varios autores han estudiado la relación entre caracteres clásicos de calidad del semen (volumen, concentración y motilidad) y la fertilidad; sin embargo, la relación entre las variables relacionadas con la viabilidad espermática y las anormalidades morfológicas con la fertilidad apenas han sido, hasta el momento consideradas, (Farrel *et al.*, 1993; Alvariño *et al.*, 1996).

## **CAPÍTULO III**

### **DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS**

#### **3.1. Hipótesis de la investigación**

Según las características cinéticas, morfométricas y bioquímicas; la calidad del semen de cuyes de la raza Perú y Andina es de buena calidad y no existe diferencia significativa entre ambas razas.

#### **Consecuencias contrastables de la hipótesis**

3.1.1 Si se compara el semen de una muestra de cuyes de raza Perú, entonces no existe diferencias significativas en sus características cinéticas y morfométricas, respecto de la raza Andina.

3.1.2 Si se compara el semen de una muestra de cuyes de raza Perú, entonces existe diferencias significativas en Alanina Transaminasa (ALT), Gama Glutamil Transferasa (GGT) y Proteína, respecto a la raza Andina.

#### **3.2. Diseño metodológico**

El estudio corresponde a un diseño no experimental de nivel analítico descriptivo y transversal.

### 3.3. Localización

Para poder determinar las características espermáticas y calidad del semen de dos razas de cuyes en el valle de Cajamarca; la investigación se realizó en las instalaciones de animales menores de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca. Para el proceso de la determinación de las características cinéticas y morfométricas del semen; se utilizó el Laboratorio de Inmunología e Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias-UNC.

En lo referente a la bioquímica del plasma seminal, se contó con el apoyo del Laboratorio de Diagnóstico Sta. María, FONAVI I, ciudad de Cajamarca.

Cajamarca, presenta las siguientes características climatológicas y geográficas: (\*)

Altitud	: 2536 msnm,
Latitud sur	: 7°10',
Longitud oeste	: 78  30',
Clima	: templado seco
Temperatura promedio anua	: 8,9°C,
Temperatura máxima promedio anual	: 22,04°C,
Temperatura promedio anua	: 15,4°C,
Precipitación pluvial anua	: 707,4 mm
Humedad relativa anual	: 62,9% y
Presión barométrica	:740,5 milibares

---

(\*) Datos proporcionados por el Servicio de Meteorología e Hidrología, Cajamarca, 2015.

### **3.4. Población, tamaño de muestra y unidad de análisis**

#### **Población de estudio**

Los animales en estudio se los obtuvo de diferentes sitios, del valle de Cajamarca; según datos del Ministerio de Agricultura (INIA-DGPA, 2003. Informe situacional de la crianza del Cuy) se ha estimado una población de 23,240,846 distribuidas principalmente en la sierra con 21,462,950 cuyes, en comparación de 1, 439,746 de la costa y tan solo 338,150 animales existentes en la selva. Siendo Cajamarca el departamento que ocupa uno de los primeros lugares en la producción de esta especie.

#### **Tamaño de muestra**

Se seleccionó 15 animales de la raza Perú y 15 de la raza Andina teniendo en cuenta sus características fenotípicas raciales.

#### **Unidad de análisis**

Se obtuvo el esperma por electroeyaculación de cada animal de ambas razas, para el análisis cinético, morfométrico y bioquímico respectivamente

### **3.5. Descripción del diseño metodológico**

#### **Obtención del semen**

Cada animal fue suspendido y colocado de cúbito dorsal por un ayudante, se realizó la evacuación de las heces del recto mediante la introducción de 1 sonda y luego se procedió a desinfectar con alcohol

yodado la zona del recto y el prepucio. Se secó con papel absorbente toda la región desinfectada. Se introdujo el electrodo del electroeyaculador (de 3.5 a 4.5 voltios) por el recto (2,5 – 5 cm de profundidad) previa lubricación. El electro estimulación se realizó de forma manual, la cual se inició mediante un interruptor eléctrico cada tres segundos por 30 a 60 veces hasta la obtención del semen.

La colección del semen se realizó en tubos cónicos de plástico graduados recolectores (micro tubo) de 1,5 ml.

Para cada una de las recolectas de semen, se tuvo en cuenta la identificación del animal mediante aretes de aluminio; así mismo la identificación de cada tubo de ensayo para cada animal.

**Trabajo de laboratorio** se realizó con la técnicas y protocolos de acuerdo al tipo de análisis para determinar los parámetros trazados en los objetivos específicos.

#### **a) Características cinéticas del semen**

**El color** del semen se lo determinó organolépticamente, contrastando la muestra sobre un fondo oscuro.

**El volumen total de la muestra** se midió en micro tubos cónicos de plástico, graduados de 1,5 ml.

**El pH** se determinó impregnando una tira de cinta indicadora de pH con un rango de 0-14 con 20  $\mu$ l de la muestra.

**La motilidad en masa**, se obtuvo colocando 10 µl del semen fresco en una lámina porta objetos templados a 37 °C sobre una platina térmica y observación directa en un microscopio de luz (Nikom-Eclipse E 200) a 10x.

**La motilidad individual** se evaluó mediante observaciones microscópicas de los espermatozoides en una dilución iso osmótica, para nuestro trabajo se ha utilizado suero fisiológico a 37°C; este examen se lo realizó apenas obtenida la muestra del semen fresco.

Los resultados se expresaron en porcentaje de espermatozoides vivos. Se realizó la valoración de ambas motilidades, teniendo en cuenta que todo el material de laboratorio esté en condiciones de normocinesia, (temperatura de 37°C).

**La concentración** del eyaculado se determinó haciendo una dilución del semen de 1/200 con suero fisiológico (diluyendo 10 µl de semen con 190 µl de solución de cloruro de sodio); se realizó el conteo en cámara de Neubauer® de recuento celular (método más usado en el recuento celular). Este análisis se lleva a cabo mediante el conteo en microscopio óptico a 100X o 400X, empleando por comodidad un contador manual; los resultados se expresaron en millones/mL.; todo el proceso se realizó a temperaturas de 37°C.

## **b) Características morfométricas**

Para determinar las características morfométricas del espermatozoide de cuyes de la Raza Perú y Andina, se realizó las siguientes medidas:

- Longitud cefálica ( $\mu\text{m}$ )
- Ancho cefálico ( $\mu\text{m}$ )
- Longitud del flagelo ( $\mu\text{m}$ )
- Longitud total del espermatozoide ( $\mu\text{m}$ )
- Morfología normal (%)
- Acrosoma intacto (%)

La técnica consistió en mezclar 20  $\mu\text{l}$  de semen con 20  $\mu\text{l}$  de tinta china en una micro pipeta y se realizó el lance. Se colocó una gota de 10  $\mu\text{l}$  sobre una lámina porta objetos y se realizó el extendido, se deja secar por 30 minutos para luego hacer la observación (1000X) por inmersión, para ejecutar las mediciones respectivas. Todo este proceso se realizó a 37°C.

Las características, morfométricas, antes mencionadas son medibles. Cada muestra fue valorada mediante observación visual, empleando un microscopio óptico-Eclipse E, 200 F, con diafragma, escala y luz incorporada provisto de objetivo de 1000 X.

### **c) Bioquímica del plasma seminal**

Las muestras de semen fresco obtenidas, fueron centrifugadas a 10,000 rpm x 5 minutos para la separación del plasma seminal. El sobrenadante obtenido (cantidad de plasma) fue evaluado para determinar la ausencia de espermatozoides. La mitad de cada muestra de plasma seminal fue procesada de inmediato y la otra mitad fue guardada en refrigeración. Se determinaron los niveles de glucosa, colesterol total, proteínas totales, albúmina, calcio, alamina amino transferasa, fosfatasa alcalina y gamma

glutamil transpeptidasa; a través de kits comerciales específicos para cada determinación, siguiendo las especificaciones del fabricante, y por medio de un analizador bioquímico semiautomático.

**Valoración de la calidad del semen en función de sus características cinéticas, morfométricas y bioquímicas.**

La valoración de la escala se realizó de acuerdo a los resultados obtenidos en las características cinéticas, morfométricas y bioquímicas obtenidas del semen de las razas de cuyes (Perú y Andina);

**Relación entre las características espermáticas y calidad del semen de las dos razas.**

Relación calculada según los resultados obtenidos estadísticamente.

**Materiales y equipo:**

- Microscopio marca Nikom-Eclipse E 200.
- Microscopio marca Eclipse E 200F con escala.
- Incubadora eléctrica
- Cámara fotográfica
- Estereoscopio con luz incorporada
- Placas de Neubauer (NB.)
- Micro pipetas graduadas
- Tips (de punta) graduadas
- Tubos recolectores graduados (micro tubo) de 1,5 ml
- Láminas cubre y porta objetos
- Guantes de látex

- Tinta china
- Aceite de inmersión
- Agua destilada
- Solución salina al 9%
- pH metro (cinta de colores)
- Alcohol
- Algodón

### **Técnicas o protocolos**

Se utilizarán técnica y protocolos, para cada análisis de la cinética, morfometría y bioquímica del semen del cuy.

### **Kits, para determinar la bioquímica del plasma seminal:**

- ALT (alanina transaminasa)
- GGT (gamma glutamil transferasa)
- Calcio
- Colesterol
- Glucosa
- Fosfatasa alcalina
- Proteína
- Albumina

## **Etapa experimental**

Etapa que se desarrolló en el Laboratorio de Inmunología e Investigación de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la –UNC. y el Laboratorio de diagnóstico Sta. María, ubicado en la ciudad de Cajamarca-FONAVI I.

Los 15 cuyes de la raza Perú y los 15 de la raza Andina, fueron identificados de la siguiente manera: raza Andina con aretes de aluminio numerados del 01 al 15, los de la raza Perú del 16 al 30; en ambas razas se evaluó los parámetros respectivos.

Se registró los datos obtenidos de la cinética, morfometría y bioquímica de los 30 animales de ambas razas, para luego someterlos al análisis estadístico.

### **3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos (Anexos Pág, 83 al 90, cuadros del 1 al 10).**

3.6.1. Análisis de registros: - Reporte de datos obtenidos de los laboratorios.

3.6.2. Observación:

- Protocolos
- Análisis de laboratorio:
  - Técnica de tinciones.
  - Técnica de diluciones.
  - Técnica de recolección de semen.
  - Técnicas de microscopía.

### **3.7 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos fueron analizados, mediante una estadística descriptiva, utilizando una prueba de **t**, desviación estándar, media aritmética, mediana, coeficiente de variación, asimetría, kurtosis, tablas y cuadros; evaluando de esta manera las características cinéticas, morfométricas y bioquímicas del semen de las dos razas de cuyes.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1: Características cinéticas del semen de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*)

Variable	Raza de Cuy	Medias $\pm$ DES.	Prueba. de t
Volumen eyaculado/ml	Perú	0,49 $\pm$ 0,10	P>0,05
	Andina	0,46 $\pm$ 0,07	
pH	Perú	6,89 $\pm$ 0,19	P>0,05
	Andina	6,87 $\pm$ 0,23	
Concentración espermática N°/ml	Perú	7166666,67 $\pm$ 1097182,54	P>0,05
	Andina	7823333,33 $\pm$ 1451829,72	
Total, de esperma eyaculado N°/ml	Perú	3492766,67 $\pm$ 689727,53	P>0,05
	Andina	3647966,67 $\pm$ 951399,75	
Motilidad Masal (%)	Perú	91 $\pm$ 2,80	P>0,05
	Andina	91,67 $\pm$ 3,09	
Motilidad Individual (%)	Perú	89,67 $\pm$ 2,97	P>0,05
	Andina	88,33 $\pm$ 2,44	

DES=Desviación estándar

**Interpretación:** Dentro de las características cinéticas del semen de las razas de cuyes, la tabla 1 nos muestra que no existe diferencia significativa ( $p>0,05$ ) al comparar las variables cinéticas entre razas de cuyes, a la prueba de t Student al 95% de probabilidad (anexo 1), concluyendo que el volumen del eyaculado (ml), el pH, la concentración espermática ( $N^{\circ} \times 10^6/ml$ ), total del esperma eyaculado ( $N^{\circ} \times 10^6/ml$ ), la motilidad en masa (%), motilidad individual (%) y el color (lechoso nácar) fueron iguales en ambas razas.

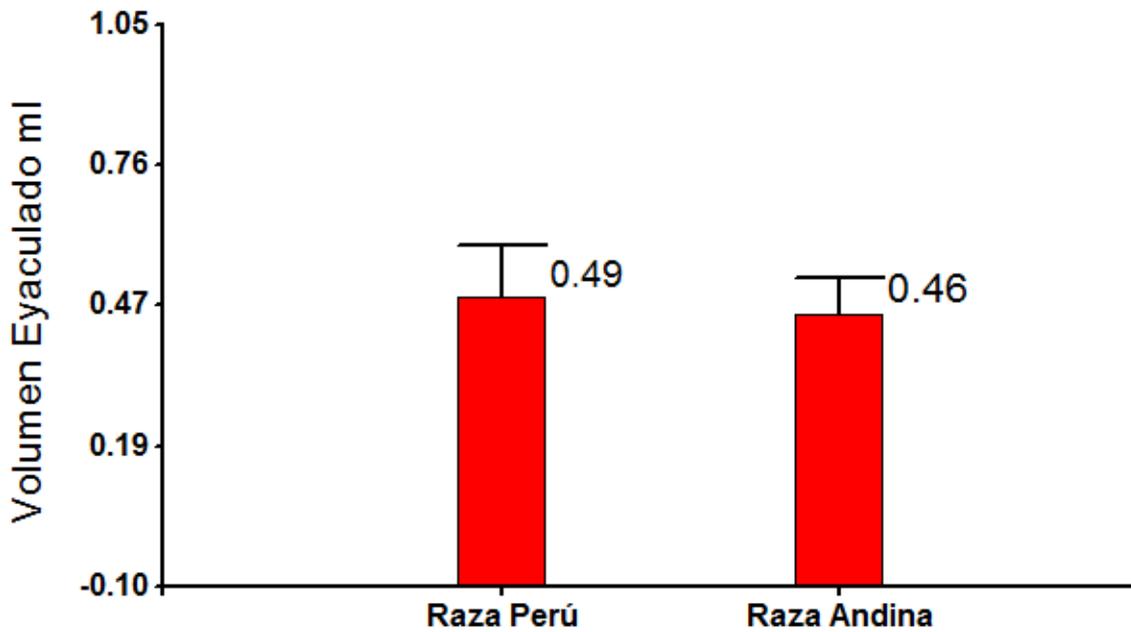


Figura 1: Volumen del eyaculado (ml) de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*), mostrando su intervalo de confianza al 95%

Para verificar la significancia del volumen del eyaculado, debido al elevado coeficiente de variación (>20%), así como una asimetría mayor de uno para la raza Perú (anexo 2) y un elevado coeficiente de variación (26%) para la raza Andina (Anexo 3), se realizó la prueba no paramétrica de Mann-Whitney (anexo 10), siendo esta no significativa, es decir que el volumen entre ambas razas es igual, como se observa en la figura 1, donde se considera el intervalo de confianza al 95%.

Volumen y pH: dentro de los diferentes parámetros rutinarios a evaluar en el espermiograma clásico se encuentra la valoración del pH y el volumen del eyaculado. Loor (2015) reporta una media de pH de 7,3 en cuyes. Hasta la fecha existen numerosos estudios que hacen diferentes apreciaciones sobre el pH del eyaculado de diferentes especies animales, variando desde ligeramente ácido a ligeramente básico (Setchell *et al.*, 1993). En un estudio realizado en cobayos utilizando electroeyaculador se determinó el volumen del eyaculado que está entre

0,6 a 0,8cc, con un color blanquecino y un pH 7 (Durrant, 1984), datos que son ligeramente superiores a los nuestros, los cuales son 0,49 ml para la raza Perú y 0,46 ml para la Andina, un pH de 6,89 y 6,87 respectivamente. Según (Freund, 1969; Martan y Shepherd, 1973), el volumen del eyaculado del cuy es de aproximadamente 0,5 ml (0,1-1,2 ml) con un promedio de  $13,376 \times 10^6$  espermatozoides por eyaculación; datos que están dentro del rango de nuestro trabajo. La concentración, al igual que el volumen, presenta una gran variabilidad y está fuertemente influida por un mayor número de variables, entre ellas, tamaño testicular, método de recogida (completa o fraccionada), edad de los sementales o la raza (Dowsett y Knott, 1996).

El color blanco del semen es debido al líquido segregado de la próstata que contiene enzimas, ácido cítrico, lípidos, y fosfatasa ácida; esto forma un 25-30% de la base del semen. Esto supone aproximadamente entre el 2 y el 5% de la composición semen (Sally, 2015). Se determinó que el color de semen de cobayo es blanco cremoso (Loor, 2015), dato que no concuerda con el color de nuestros resultados (blanco nacar), esto posiblemente se deba al tipo de alimentación recibida durante la investigación.

La concentración de espermatozoides encontrados en nuestro trabajo, según la tabla 1 fue de 7166666,67 para la raza Perú y 7823333,33 para la raza Andina y el total de espermatozoides eyaculados fue de 3492766,67 y 3647966,67; datos que están dentro de los rangos mencionados por Scott y Dziuk (1964), quienes encontraron un rango de espermatozoides entre 5-233 millones por eyaculado obtenido por electroeyaculación en roedores. Freund, (1969) quien realizó un experimento en 870 cuyes observó una concentración de  $13,376 \times 10^6$

espermatozoides por eyaculado igualmente obtenido por estimulación eléctrica. El resultado de esta característica del semen del cuy se asemeja al nuestro, posiblemente por el método de electroeyaculación utilizada en la recolección del semen usado en ambos trabajos; la técnica del hemocitómetro permite determinar el número de espermatozoides presentes en una cámara de recuento celular como la cámara de Thomas, Neubauer o Bürker-Türk. Su bajo coste hace de este método uno de los más empleados; sin embargo, puede presentar una variabilidad entre replicas causada por las diluciones previas, la falta de homogeneidad en la distribución de la muestra en la cámara o la influencia del observador (Lu *et al*, 2004).

En cuanto al movimiento, los espermatozoides del cuy tienen un movimiento curvilíneo con progresión hacia adelante irregular y la formación de los rouleau (paquetes) que puede causar dificultades en la clasificación de la motilidad espermática en esta especie; la raza no parece ser una variable que influya en los valores medios de movimiento total, al no observarse diferencias significativas en nuestros resultados. Los valores registrados para esta variable fueron muy superiores a los obtenidos por otros autores en estudios previos (Dowsett y Knott, 1996), pudiendo deberse estas diferencias a distintos factores como el procesado de la muestra, la frecuencia de recogida, el uso y tipo de diluyentes antes de la evaluación (Samper, 2009), el tiempo entre la recogida y la evaluación, la temperatura o la presencia de antibióticos en los diluyentes. Además, algunos de estos trabajos realizaron una valoración subjetiva, la cual aporta valores diferentes a los obtenidos mediante la valoración objetiva.

La motilidad individual y masal, se evaluó por medio de observaciones microscópicas de los espermatozoides en una dilución iso osmótica Caycedo (2000). En nuestro trabajo el movimiento masal e individual, se determinó de la misma forma (observación microscópica), con semen fresco. En nuestros resultados, observando el movimiento masal, se presentó ondas espermáticas muy pronunciadas (91%) para la raza Perú y (91,67%) para la raza Andina. El movimiento individual para la raza Perú fue de 89,67% y para la raza Andina el 88,33%. Un 86,7% de espermatozoides vivos, una movilidad espermática de 73,5% y un 32% de espermatozoides anormales son reportados por (Loor, 2015); por todo ello la motilidad del espermatozoide es una característica fundamental a tener en cuenta en la evaluación de la calidad seminal. Así, ha sido considerado tradicionalmente un indicador de la capacidad fecundante del eyaculado (Varner, 2008). Es sabido que cada especie animal cuenta con un patrón propio de movimiento, en función a múltiples características del espermatozoide como el tamaño de la cabeza, longitud de la cola y frecuencia de batido, entre otros (Gomendio and Roldan, 2008). Para valorar la motilidad se la debe examinar a 100x-200x aumentos, evaluando la velocidad y dirección de movimiento de los espermatozoides; por ejemplo, el porcentaje de viabilidad en los caninos es de 70% (Root, 2005).

Tabla 2: Relación entre el volumen del eyaculado con pH, concentración espermática, total del esperma eyaculado, motilidad en masa y motilidad individual del semen de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*).

		Raza Perú		Raza Andina	
	VARIABLES	r	Proba	r	Proba
<b>Volumen Eyaculado</b>	pH	0,25	0,37	0,09	0,76
	Concentración espermática	-0,40	0,14	0,19	0,50
	Total de esperma eyaculado	0,09	0,74	<b>0,73</b>	<b>0,00</b>
	Motilidad en masa	-0,16	0,57	-0,20	0,48
	Motilidad Individual	-0,12	0,66	0,35	0,20

r.= Coeficiente de correlación; Proba = Probabilidad

**Interpretación:** Para determinar cuál de las variables cinéticas actúa sobre el volumen (tabla 2), en la raza Perú no existe ninguna relación entre estas variables, con el volumen del eyaculado; lo que indica o se concluye que no hay ningún efecto del pH, de la concentración espermática, el total del esperma eyaculado, la motilidad en masa y la motilidad individual sobre el volumen eyaculado en la raza Perú. En cambio, se observa una buena relación y altamente significativa ( $r: 0,73$ ;  $P < 0,01$ ) entre el volumen del eyaculado y el total del esperma eyaculado siendo directamente proporcional, es decir que a medida que aumenta el volumen del eyaculado en la raza andina aumenta el total de espermatozoides.

Tabla 3: Característica de los valores morfométricos del semen de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*)

Variable de estudio	Raza de Cuy	Media	Prueba. De t
Longitud cefálica ( $\mu\text{m}$ )	Perú	8,69 $\pm$ 0,64	P>0,05
	Andina	8,51 $\pm$ 0,54	
Ancho cefálico ( $\mu\text{m}$ )	Perú	7,75 $\pm$ 0,46	P>0,05
	Andina	7,89 $\pm$ 0,58	
Longitud flagelo ( $\mu\text{m}$ )	Perú	93,76 $\pm$ 4,36	P>0,05
	Andina	93,18 $\pm$ 2,42	
Longitud del espermatozoide ( $\mu\text{m}$ )	Perú	101,23 $\pm$ 4,41	P>0,05
	Andina	102,15 $\pm$ 4,72	
Morfología normal (%)	Perú	90,67 $\pm$ 3,72	P>0,05
	Andina	91,00 $\pm$ 3,38	
Morfología anormal (%)	Perú	9,33 $\pm$ 3,72	P>0,05
	Andina	9,00 $\pm$ 3,38	

( $\mu\text{m}$ )= micrómetros.

**Interpretación:** Dentro de las características de los valores morfométricos de los espermatozoides de las 2 razas de cuyes, la tabla 3 demuestra que no existe diferencia significativa ( $p>0,05$ ) al comparar las variables morfométricas de los espermatozoides del semen de los cuyes entre razas, a la prueba de t Student al 95% de probabilidad (anexo 4); concluyendo que la longitud cefálica, el ancho cefálico, la longitud del flagelo, la longitud del espermatozoide, la morfología normal y morfología anormal fueron similares entre ambas razas.

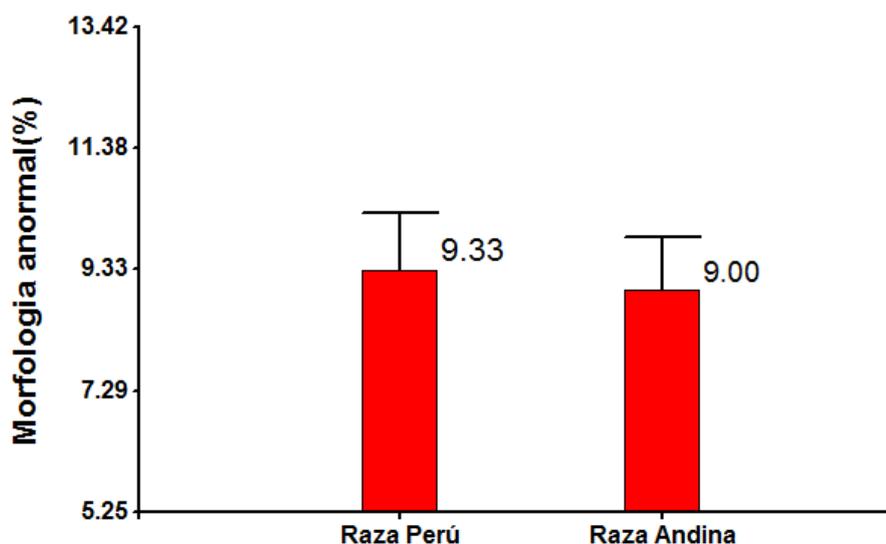


Figura 2: Morfología anormal del espermatozoide (%) de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*), mostrando su intervalo de confianza al 95%

Observando (anexos 5 y 6) que la morfología anormal de los espermatozoides en ambas razas, registra un coeficiente de variación de 39,82% y 37,50% para la razas Perú y Andina respectivamente, que es mayor al 20%, en la cual nos indica que la estimación es un poco precisa, por lo tanto a veces se recomienda utilizarla sólo con fines descriptivos (tendencias no niveles), para eso se ha realizado la prueba de Mann-Whitney (Anexo 10) y la figura 2, demostrando la similitud en esta variable entre las dos razas.

Estudios realizados por Loor (2015), en 30 cuyes machos adultos, aplicando la técnica de slicing epididimis para la recolección de los espermatozoides y presentó los siguientes resultados: el espermatozoide con una media de 102,53  $\mu\text{m}$ , la cabeza mide 8,81  $\mu\text{m}$  de largo y 7.41  $\mu\text{m}$  de ancho, el acrosoma tiene una media de 1,95  $\mu\text{m}$ , la pieza intermedia tiene una media de 9,31  $\mu\text{m}$  y la cola mide aproximadamente 84,41  $\mu\text{m}$ . Datos que coinciden con los nuestros (tabla 3), esto debido a la utilización de animales adultos o en edad reproductiva.

El dato reportado por (Gallardo *et al.*, 2002) referente a la morfometría de espermatozoide del cuy fue:  $7,5 \pm 0,3$  para la longitud media de la cabeza,  $6,6 \pm 0,1$  ancho medio de la cabeza y  $92,3 \pm 0,9$  para la longitud de la cola; datos que difieren de nuestros resultados (tabla 3), esto puede deberse a los cuyes criollos con los que ha trabajado el mencionado autor; nosotros trabajamos con dos razas de sangre mejorada (razas Perú y Andina).

La cabeza del espermatozoide de cobayo es oval y mide alrededor de 8 micras, mientras que el flagelo o cola mide 108,3 micras (Aliaga, 2009). Datos que no concuerdan con nuestros resultados (tabla 3), debido posiblemente a muchos factores que pueden intervenir en las diferentes características morfométricas del esperma del cuy, como pueden ser edad, abstinencia, raza, línea de cuy, alimentación y otros.

Un aspecto peculiar que se observó en nuestro trabajo es que los espermatozoides de cuy, suelen agruparse en paquetes, unidos por la cabeza, observación que concuerda con lo reportado por (Caycedo, 2000), quien menciona que los espermatozoides del cuy se agrupan de 5 a 7, acoplados cabeza con cabeza.

Según, (Freund, 1969) el porcentaje de espermatozoides normales es de 95%. Nuestros resultados muestran un 90.67% y 91% de espermatozoides normales, para la raza Perú y Andina; la diferencia puede deberse al tipo de tinciones realizadas por los autores mencionados, o al tipo de cuyes que utilizaron que no lo mencionan.

Tabla 4. Relación entre el volumen del eyaculado con ancho cefálico, la longitud del flagelo, la longitud del espermatozoide, la morfología normal y morfología anormal del espermatozoide del semen en dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*).

		<b>Raza Perú</b>		<b>Raza Andina</b>	
<b>VARIABLES</b>		<b>r</b>	<b>Proba</b>	<b>r</b>	<b>Proba</b>
Volumen Eyaculado	Longitud cefálica	0,24	0,39	-0,04	0,89
	Ancho cefálico	0,09	0,75	0,03	0,92
	Longitud flagelo	-0,08	0,77	0,08	0,78
	Longitud del espermatozoide	0,41	0,3	0,25	0,37
	Morfología normal (%)	0,06	0,83	0,13	0,64
	Morfología anormal (%)	-0,06	0,83	-0,13	0,64

r.= Coeficiente de correlación; Proba = Probabilidad

**Interpretación:** Para determinar cuál de las variables morfométricas de los espermatozoides actúa sobre el volumen (tabla 4), en las razas Perú y Andina, se puede decir que no existe ninguna relación entre estas variables, lo que indica o se concluye que no hay ningún efecto del ancho cefálico, la longitud del flagelo, la longitud del espermatozoide, la morfología normal y morfología anormal del espermatozoide sobre el volumen del eyaculado ( $P > 0,05$ ).

Tabla 5: Característica de los valores bioquímicos del plasma seminal en el semen de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*)

Variable de estudio	Raza de Cuy	Media	Prueba. De t
ALT. (U/L)	Perú	5,64±1,54	P<0,05
	Andina	4,61±0,87	
GGT. (U/L)	Perú	16,83±4,16	P<0,01
	Andina	26,73±5,26	
Calcio mg/dl	Perú	8,20±1,21	P<0,01
	Andina	10,27±0,99	
Colesterol (mg/dl)	Perú	22,32±2,52	P<0,01
	Andina	43,31±7,36	
Glucosa (mg/dl)	Perú	10,47±1,84	P<0,01
	Andina	14,13±2,52	
Fosfatasa (μ/dl)	Perú	15,11±1,81	P<0,01
	Andina	18,11±2,71	
Albúmina (g/dl)	Perú	0,14±0,02	P<0,01
	Andina	0,22±0,05	
Proteína (g/dl)	Perú	1,38±1,57	P<0,05*
	Andina	1,74±1,78	

\*: Es significativo a la prueba no paramétrica

ALT: Alanina transaminasa, GGT: gamma glutamil transferasa

**Interpretación:** Dentro de las características bioquímicas del plasma seminal del semen de las dos razas de cuyes; la tabla 5, demuestra que existe diferencia significativa ( $P<0,05$ ) y altamente significativa ( $P<0,01$ ) al comparar las variables bioquímicas entre razas de cuyes, a la prueba de t Student al 95% de probabilidad (anexo 7), concluyendo que al examen del plasma seminal de alanina transaminasa(ALT) fue significativo ( $p<0,05$ ) entre razas, siendo mayor el valor de la raza Perú. También existe una diferencia altamente significativa ( $p<0,01$ ) en gamma glutamil transferasa (GGT), calcio, colesterol, glucosa y fosfatasa, al compararlo entre las dos razas, registrando valores mayores la raza andina.

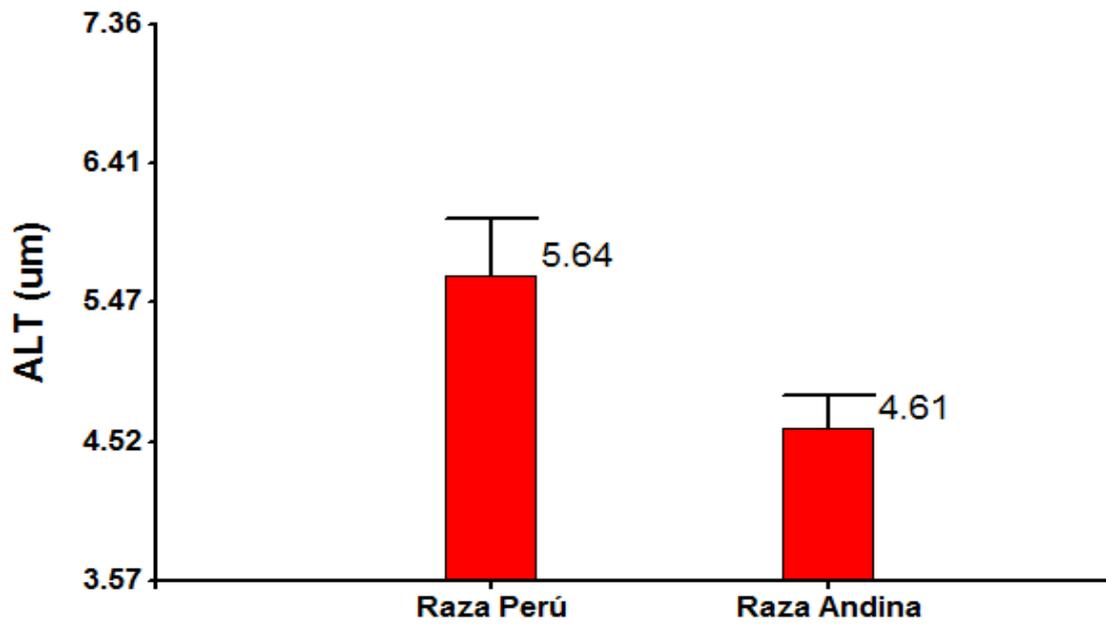


Figura 3: ALT del plasma seminal de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*), mostrando su intervalo de confianza al 95%.

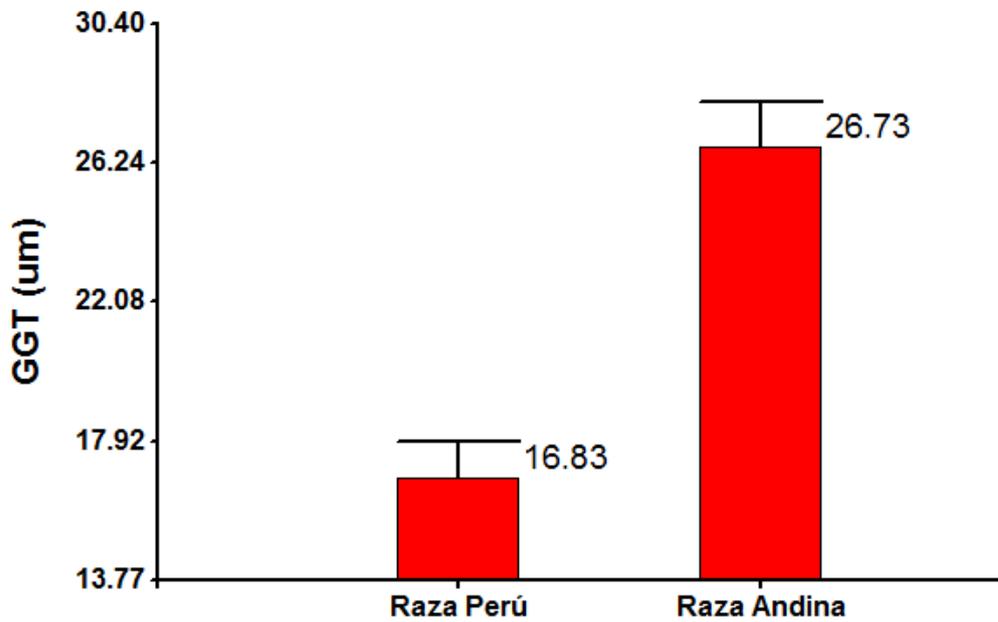


Figura 4: GGT del plasma seminal de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*), mostrando su intervalo de confianza al 95%.

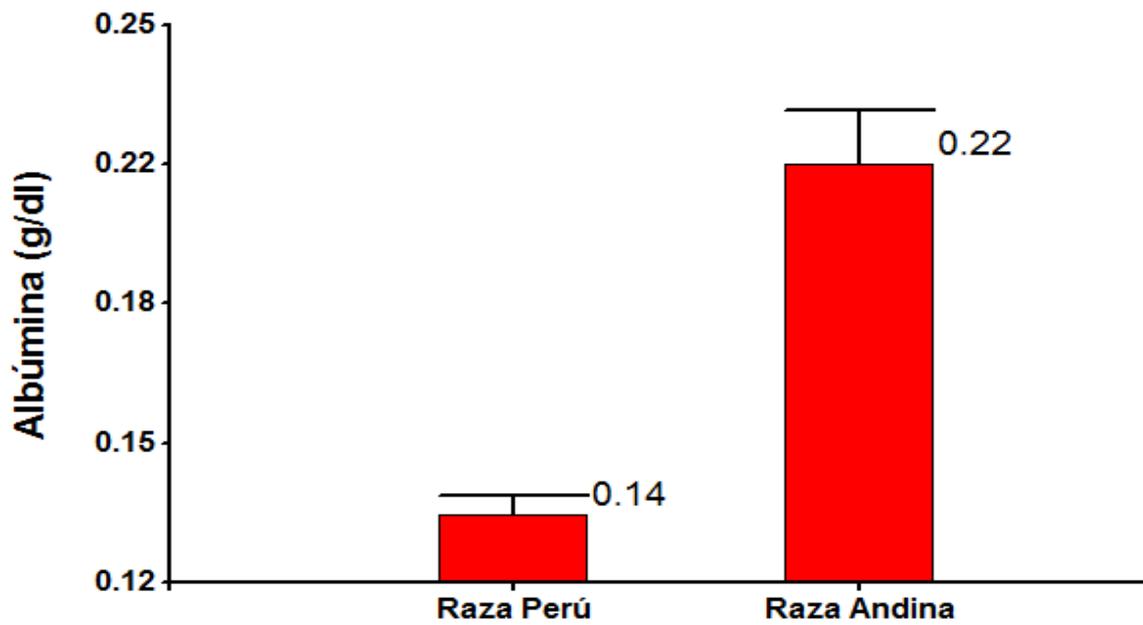


Figura 5: Albúmina del plasma seminal de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*), mostrando su intervalo de confianza al 95%

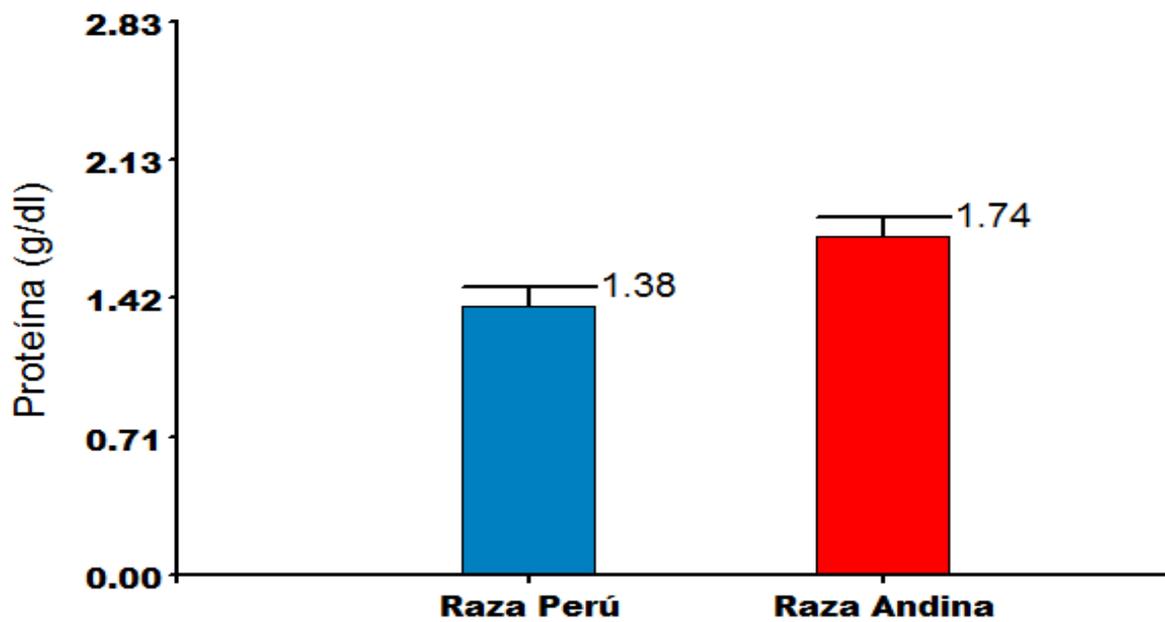


Figura 6: Proteína del plasma seminal de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*), mostrando su intervalo de confianza al 95%

En el anexo 8, se muestra que, al análisis bioquímico del plasma seminal, registra un coeficiente de variación elevado del 27,29% en ALT, 24,74% en GGT y un 113,9% y valores elevados de asimetría y kurtosis en proteína, referidos a la raza Perú. En el anexo 9, correspondiente a la raza Andina, el elevado coeficiente de variación fue para Albúmina (21,34%) y Proteína (102,57%) con valores elevados de Asimetría y kurtosis.

En ambas razas nos indica que la estimación es un poco precisa, de tal manera para comprobar si existe alteración se realiza la prueba no paramétrica de Mann-Whitney y los gráficos con su intervalo de confianza. Observando que las medias siguen la misma tendencia en ambas razas es decir corrobora la prueba de t Student par ALT, GGT y Albúmina; no así para proteína, lo que queda demostrado que en la proteína existe una diferencia significativa ( $P < 0,05$ ) entre ambas razas (Anexo 10 y figuras 3, 4, 5 y 6).

En la tabla 5 de nuestros resultados podemos observar los valores de GGT, calcio, colesterol, glucosa, fosfatasa y albúmina son superiores en la raza Andina relacionados con los valores de la raza Perú. Resultados que difieren de los encontrados por (Rodríguez, 2016), quien determinó los niveles de los componentes energéticos (glucosa y triglicéridos) en el plasma seminal y la motilidad espermática de 10 cobayos, los cuales fueron alimentados por un período de 2 meses con una dieta 10% mayor en energía digestible (ED) y reporta un nivel de glucosa encontrado en plasma seminal que fue de  $11,59 \pm 0,5$  mg/dL y el valor de triglicéridos fue de  $55,95 \pm 3,2$  mg/dL. diferencias que posiblemente se deban al tipo de alimentación o las razas de los animales.

Si comparamos la concentración de glucosa en plasma seminal de alpacas de 3 años es significativamente superior a las de alpacas de 6 años ( $7,0 \pm 0,4$  y  $5,0 \pm 0,3$  mg/dl. respectivamente (Garnica *et al.*, 1993). Esto nos da luces para deducir que el plasma seminal de cuyes tiernos tiene más glucosa que un adulto, de allí la variación entre animales de una misma especie.

La albúmina y la fosfatasa alcalina se encuentran en cantidades variables como se puede observar en la tabla 5 de nuestro trabajo; diferencias que se puede deber a las razas y diferentes especies animales.

En la tabla 5, se muestran los resultados de Calcio con  $8,20 \pm 1,21$  para la raza Perú y  $10,27 \pm 0,99$  para la Andina. En colesterol tenemos  $22,32 \pm 2,52$  para la raza Perú y  $43,31 \pm 7,36$  para la Andina. Como podemos observar los valores de calcio y colesterol son más elevados para la raza Andina, esto posiblemente se deba a la diferencia de razas.

Alanina transaminasa (ALT) y la gamma glutamil transferasa (GGT), son enzimas presentes en el plasma seminal del cuy; en la tabla 5 encontramos valores de  $5,64 \pm 1,54 \mu\text{l}$  para la raza Perú y  $4,61 \pm 0,87 \mu\text{l}$  para la raza Andina de la ALT;  $16,83 \pm 4,16 \mu\text{l}$  para la raza Perú y  $26,73 \pm 5,26 \mu\text{l}$  para la raza Andina de GGT. Valores que son bastante variables en ambas razas, pero más elevadas en la raza Andina.

Tabla 6: Relación entre el volumen del eyaculado con los valores bioquímicos del semen en dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*).

	Variables	Raza Perú		Raza Andina	
		r	Proba	r	Proba
Volumen Eyaculado	ALT (U/L)	0,24	0,9	-0,64	0,01
	GGT (U/L)	-0,02	0,94	0,10	0,72
	Calcio (mg/dL)	-0,37	0,17	0,30	0,27
	Colesterol (mg/dL)	0,25	0,37	0,17	0,55
	Glucosa (mg/dL)	0,04	0,88	0,26	0,36
	Fosfatasa (U/L)	0,11	0,71	0,12	0,67
	Albúmina (g/dL)	-0,43	0,11	0,36	0,18
	Proteína (g/dL)	0,68	0,01	-0,09	0,76

r.= Coeficiente de correlación; Proba = Probabilidad

**Interpretación:** Para determinar cuál de las variables bioquímicas obtenidos en el plasma seminal actúa sobre el volumen (tabla 5), en las razas Perú y Andina, se indica según la tabla 6, que solamente existió una relación regular (r: -0,64) altamente significativa ( $P < 0,01$ ) entre el volumen eyaculado con los valores de ALT de la raza andina, este valor es inversamente proporcional, es decir cuando aumenta el ALT disminuye el volumen del eyaculado.

También existió una relación directamente proporcional (r: 0,68) y altamente significativa ( $P < 0,01$ ) entre el volumen del eyaculado y los valores de proteína, es decir a medida que se incrementa la proteína en el plasma seminal se incrementa el volumen del eyaculado.

Tabla 7: Evaluación de la motilidad en masa de los espermatozoides en el semen en dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*).

Raza de Cuy		Frecuencia	Porcentaje
Perú	Muy Buena (80 – 100% ondas vigorosos y enremolinos)	15	100
Andina	Muy Buena ( 80 – 100% ondas vigorosas y en remolinos)	15	100

**Interpretación:** La evaluación en masa de los espermatozoides del semen de ambas razas de cuyes, fue muy buena, es decir el 100% de los cuyes de 15 muestras de cada raza, presentaron entre el 80 a 100% ondas vigorosas y en remolinos, siendo el porcentaje entre el 80 a 100% células móviles, esto indica que en ambas razas son similares.

Tabla 8: Evaluación de la motilidad individual de los espermatozoides en el semen en dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*).

Raza de Cuy		Frecuencia	Porcentaje
Perú	Muy Buena (80 – 100% de células móviles)	15	100
Andina	Muy Buena ( 80 – 100% de células móviles)	15	100

**Interpretación:** La evaluación en la motilidad individual de los espermatozoides del semen de ambas razas de cuyes, fue muy buena, es decir el 100% de los cuyes de 15 muestras de cada raza, presentaron entre el 80 a 100% células móviles, siendo en ambas razas similares.

Tabla 9. Escala de valoración de la calidad del semen de cuyes (*Cavia porcellus*), según las características cinéticas, morfométricas y bioquímicas.

CARACTERÍSTICAS	VALORACIÓN				CALIFICACIÓN POR RAZAS	
	Excelente	Bueno	Regular	Malo	Valoración Raza Perú	Valoración Raza Andina
<b>CINÉTICAS</b>						
Vol. Eyacul/ml	>0,50	0,40-0,49	0,30-0,39	0,20-0,29	Bueno	Bueno
pH	>6,8	6,8	6,2	5,9	Excelente	Excelente
Concentración Esperm. N°/ml	7,800x10 <sup>6</sup>	7,500x10 <sup>6</sup>	5,500x10 <sup>6</sup>	3,200x10 <sup>6</sup>	Bueno	Excelente
Total, esperma. Eyaculados/ml	3,600x10 <sup>6</sup>	3,00x10 <sup>6</sup>	2,100x10 <sup>6</sup>	1,500x10 <sup>6</sup>	Bueno	Excelente
Motilidad masal	Olas rápidas	Olas lentas	Movimiento irregular	Movimiento esporádico	Bueno	Bueno
Motilidad individual (%)	>80	50-80	30-50	<30	Excelente	Excelente
<b>MORFOMÉTRICAS</b>						
Longitud cefálica (µm)	8,5-10,2	7,5-8,4	6,9-7,3	5,9-6,5	Excelente	Excelente
Ancho cefálico (µm)	8,0-9,2	7,5-7,9	6,9-7,1	5,5-6,5	Bueno	Bueno
Longitud del flagelo(µm)	93,5-100	91,5-93,4	90,0-90,9	79,5-85,5	Excelente	Bueno
Longitud espermatozoide (µm)	110-112	101-109	80-101	<80	Bueno	Bueno
Morfología normal (%)	>90	70-89	60-70	<50	Excelente	Excelente
<b>BIOQUÍMICAS</b>						
ALT (UL)	>4,8	3,9-4,4	2,9-3,5	1,5-2,2	Excelente	Bueno
GGT(U/L)	>17,0	16,8-16,5	15,2-15,9	14-14,9	Bueno	Excelente
Calcio (mg/dL)	>8,9	8,1-8,6	7,5-7,9	6,3-7,2	Bueno	Excelente
Colesterol (mg/dL)	>23	20-21,5	18,5-19,5	16,5-17,5	Bueno	Excelente
Glucosa (mg/dL)	>11	9,5-10,2	8,6-9,2	7,5-7,8	Bueno	Excelente
Fosfatasa (UL)	>16	14,5-15	13,2-14	10,1-12,9	Bueno	Excelente
Albúmina(g/dL)	>0,16	0,12-0,13	0,10-0,11	0,8-0,9	Bueno	Excelente
Proteína	>1,4	1,1-1,3	0,99-1,0	0,79-0,91	Bueno	Excelente

Elaboración propia.

La tabla 9 nos muestra la escala de valoración de la calidad del semen de la raza Perú y Andina, elaborada de acuerdo a los resultados obtenidos relacionadas a las características cinéticas, morfométricas y bioquímicas.

Según esta escala de valoración los resultados obtenidos en esta especie, los podemos catalogar como un semen de calidad excelente y buena, de acuerdo a la raza de los animales, y a las diferentes variables analizadas.

Se puede observar en la escala de valoración que, el semen de las razas Perú y Andina, son muy parecidos en sus valores referentes a las características cinéticas y morfométricas, pero en la bioquímica los valores son mejores en la raza Andina. Valores que pueden deberse a la raza de los animales en estudio; considerándose a la raza Andina como la más prolífera de esta especie doméstica.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES

1. A través de esta investigación se logró establecer las características cinéticas, morfométricas y bioquímicas de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*); raza Perú y raza Andina, machos en edad reproductiva de los cuales se le extrajo el semen, para someterlo al estudio de laboratorio. Consecuentemente y por medio de los resultados obtenidos, así como los análisis realizados en los espermatozoides y plasma seminal, podemos concluir que las características espermáticas y calidad del semen fueron establecidas, variando en algunas características de acuerdo a la raza. Los valores cinéticos y morfométricos establecidos para ambas razas son muy similares, mientras que los valores bioquímicos son mejores en la raza Andina.
2. Para determinar la relación entre las características espermáticas y calidad del plasma seminal de dos razas de cuyes, se tomó como base el volumen del eyaculado relacionándolos primeramente con los caracteres cinéticos, lo que nos indica que no hay ningún efecto de estas características sobre el volumen del eyaculado; así mismo, sucede sobre los caracteres morfométricos. Se observa una buena relación y altamente significativa ( $r: 0,73; p < 0,01$ ) entre el volumen del eyaculado y el total de esperma eyaculado, siendo directamente proporcional; esto significa que a medida que aumenta el eyaculado, aumenta el total de los espermatozoides.

Existió una relación directamente proporcional ( $r: 0,68$ ) y altamente significativa ( $p < 0,01$ ) entre el volumen del eyaculado y los valores de proteína; a medida que se incrementa la proteína en el plasma seminal se incrementa el volumen del

eyaculado. Nuestros resultados muestran diferencia entre las características bioquímicas del plasma seminal entre ambas razas, concluimos que esta característica es mejor para la raza Andina.

3. Finalmente, para valorar la calidad del semen de acuerdo a las características cinéticas, morfométricas y bioquímicas se ha diseñado una escala de valoración del semen de las dos razas de cuyes, la cual se ajusta a los resultados obtenidos, la misma que nos muestra valores muy similares para ambas razas, observándose además que la parte bioquímica del plasma seminal es mejor en la raza Andina. Concluyendo, que las características cinéticas y morfométricas son las que más se valoran en la calidad del semen de otras especies domésticas y estas están establecidas en nuestra escala de valoración para la raza Perú y Andina.

## LISTA DE REFERENCIAS

- Afzelius, B. 1959. Electron Microscopy of the Sperm Tail. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 5, 269–278. Retrieved from.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2224653/pdf/269.pdf>
- Aisen, E. y Venturino A., 2004. Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations. *Theriogenology* 57:1801–1808.  
<http://www.animalsciencepublications.org/publications/jas/articles/88/5/1657>.
- Aliaga, L.; Moncayo R.; Rico E., y Caycedo, A., 2009. Produccion de Cuyes. Lima  
Retrieved from  
[https://books.google.com.ec/books/about/Producci%C3%B3n\\_de\\_cuyes.html?id=PHVjAAAAMAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.ec/books/about/Producci%C3%B3n_de_cuyes.html?id=PHVjAAAAMAAJ&redir_esc=y)
- Aliaga, L.; Moncayo, R.; Rico, E. y Caycedo A., 2005. Producción de Cuyes. Lima.  
Retrieved from.  
[https://books.google.com.ec/books/about/Producci%C3%B3n\\_de\\_cuyes.html?id=PHVjAAAAMAAJ&redir\\_esc=y](https://books.google.com.ec/books/about/Producci%C3%B3n_de_cuyes.html?id=PHVjAAAAMAAJ&redir_esc=y)
- Alvariño, J.; López, F.; Del Arco, J.; Bueno, A.; Torres, R., 1996. Effects of semen concentration on rabbit artificial insemination with fresh or 24 hours stored semen. *Proceedings of the 6th World Rabbit Congress. Toulouse (France) 2: 3-5.*
- Bell, D.; Lake, P., 1962. A comparison of phosphomonoesterase activities in the seminal plasmas of the domestic cock, turkey tom, boar, bull, buck, rabbit and man. *J Reprod. Fertil.* 3: 262-268.

- Björndahl, L.; Barratt, C.; Fraser, L.; Kvist, U.; Mortimer, D., 2002. ESHRE basic semen analysis courses 1995-1999: Immediate beneficial effects of standardized training. *Human Reproduction* 17, 1299-1305.
- Blom, E., 1973. The ultra-structure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of the spermogram. *Nord Vet Med* 25, 383.
- Boersma, A.; Olszanska, O.; Walter, y Rüllicke, T., 2015. Microsurgical and Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration for Sperm Collection from Live Mice. *The American Association for Laboratory Animal Science*, 54(5), 471-477.
- Bohinski, RC., 1998. *Bioquímica*. 5ª ed. México: Addison Wesley Longman. 739 p.
- Boixo, J., 1994. Valoración laboratorial de la calidad seminal. Correlación con la fertilidad. (7ª Jornadas Intenacionales de Reproducción Animal), pp. 6169.
- Brito, L., 2007. Evaluation of Stallion Sperm Morphology. *Clinical Techniques in Equine Practice* 6, 249-264.
- Brooks, DE., 1990. Marshall's physiology of reproduction. En: Lamming GE, ed. *Biochemistry of the male accessory glands*. 4a ed. Edimburgo: Churchill Livingstone. p 569-690.
- Butler, W.; Roberts, T., 1975. Effects of some phosphatidyl compounds on boar spermatozoa followig cold shock or slow cooling. *Journal of Reproduction and Fertility* 43, 183-187.

Buzón, C., 2014. Tesis: “Análisis cinético y morfométrico espermatozoide del caballo empleando el sistema Sperm. Class Analyzer”,

[https://www.google.com.pe/search?rlz=1C1CHZL\\_esPE741PE741&q=Buzón+2014+parametros+seminales+del+equino&spell=1&sa=X&ved=0ahUKEwir-vmlsOfYAhUONKwKHx6](https://www.google.com.pe/search?rlz=1C1CHZL_esPE741PE741&q=Buzón+2014+parametros+seminales+del+equino&spell=1&sa=X&ved=0ahUKEwir-vmlsOfYAhUONKwKHx6)

Caycedo, A., 2000. Experiencias Investigativas en la Producción de Cuyes (Primera). Pasto: Universidad De Nariño.

Chauca, L., 1997. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*) (Primera). Roma: FAO. Retrieved from.

[http://books.google.com.ec/books?id=e033m2\\_cqDwC&pg=PA249&dq=neumonía+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLsASJsYGgAQ&ved=0CCUQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false\http://books.google.com.ec/books?id=e033m2\\_cqDwC&pg=PA249&dq=neumonía+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLsASJsYG](http://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neumonía+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLsASJsYGgAQ&ved=0CCUQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false\http://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neumonía+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLsASJsYG)

Cooper, T.; Atkinson, A.; Nieschlag, E., 1999, Experience with external quality control in spermatology. *Human Reproduction* 14, 765-769.

Cross, N., 1998. Role of Cholesterol in sperm capacitation. *Biol. Reprod.* 59: 7- 11.

Christensen, P.; Stryhn, H.; Hansen, C., 2005. Discrepancies in the determination of sperm concentration using Bürker-Türk, Thoma and Makler counting chambers. *Theriogenology* 63, 992-1003.

Davis, R.; Siemers, R., 1995. Derivation and reliability of kinematic measures of sperm motion. *Reprod fertil Dev* 7, 857-869.

- Díaz, V.; Espinoza, B.; Huanca, L.; López.; Rodríguez, G., 2015. Rev. Inv. Vet; 26(1): 43-4846. Características Bioquímicas del Plasma Seminal Fresco Congelado/Descongelado de Alpaca (*Vicugna pacos*)
- Dieter, D., 1994. Histología Veterinaria. Edición. Editorial ACRIBIA, Zaragoza España.
- Dorado, J.; Molina, I.; Muñoz-Serrano, A.; Hidalgo, M., 2010. Identification of sperm subpopulations with defined motility characteristics in ejaculates from Florida goats. *Theriogenology* 74, 795-804.
- Dowsett, K.; Knott, L., 1996. The influence of age and breed on stallion semen. *Theriogenology* 46, 397-412.
- Dowsett, K.; Pattie, W., 1987. Variation in characteristics of stallion semen caused by breed, age and season of year and service frequency. *J reprodFertil* 35, 45.
- Dragilva, E.; Rubinstein, S.; Breitbart, H., 1999. Intracellular  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , ATP as regulates calcium influx and acrosomale exocytosis in bull and ram spermatozoa. *BiolReprod.* 61: 1226.
- Duane, 1999. Estructura del espermatozoide.  
[https://www.google.com.pe/search?q=Duane,+1999+estructura+del+espermatozoi+de&rlz=1C1CHZL\\_esPE741PE741&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=0ahUKEwjikM](https://www.google.com.pe/search?q=Duane,+1999+estructura+del+espermatozoi+de&rlz=1C1CHZL_esPE741PE741&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=0ahUKEwjikM)

- Duchi, L.; Almela,; Veracruz, B.; Peinado, A.; Poto, R., 2000. Criopreservación del semen de gallo: una alternativa para la recuperación y conservación de la gallina de raza Murciana. Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA). 30150 La Alberca, Murcia. España, nelduchi@yahoo.com
- Ducrocq, V.; Humblot, P., 1997. Selection on semen characteristics needed International Workshop on Genetic Improvement of Functional Traits in Cattle: Fertility and Reproduction Grub, Germany, Nov. 23-25.
- Dukes, H.; Swenson, M., 1981a. Fisiología de los animals domésticos. 4ª ed. México. Edición S.A. 806 p-
- Dukes, H.; Swenson, M., 1981b. Fisiología de los animals domésticos. 2da ed. UTEHA Pag. 672.
- Durrant, B., 1984. Semen Collection, Evaluation, and Cryopreservation in Exotic Animal Species: Maximizing Reproductive Potential. ILAR NEWS.
- FAO, 2007. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*), depósitos de documentos la FAO- Ministerio de Agricultura.
- Facultad de Ciencias Veterinarias-Chile, 2004. Avances en Ciencias Veterinarias. Métodos para la recolección de semen en el gato doméstico.  
[http://web.uchile.cl/vignette/avancesveterinaria/CDA/avan\\_vet\\_simple/0,1423,SCID%253D12807%2526ISID%253D472%2526PRT%253D12803,00.html](http://web.uchile.cl/vignette/avancesveterinaria/CDA/avan_vet_simple/0,1423,SCID%253D12807%2526ISID%253D472%2526PRT%253D12803,00.html)

- Farrell, P.; Foote, R.; Simkin, M.; Clegg, E.; Wall, R., 1993. Relationship of semen quality, number of sperm inseminated and fertility in rabbits. *J. Androl.* 14: 464-471.
- Fawcett, D., 1965. The anatomy of the mammalian spermatozoon with particular reference to the Guinea pig. *Zeitschrift Fur Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie*, 67(3), 279–296.  
<http://doi.org/10.1007/BF00339376>
- Frase, L., 1998. Sperm capacitation and acrosoma reaction. *Hum Reprod.* 13 (Suppl. 1): 9 – 12.
- Freund, M., 1969. Interrelationships Among the Characteristics of Guinea-Pig Semen Collected by Electro-Ejaculation. *Reprod. Fert.*, 393–403.
- Foote, R.; Swierstra, E.; Hunt, W., 1980. Spermatogenesis in the dog. *Anat Rec* 137, 341-354.
- Gallardo, F.; Mondaca, R.; Ojeda, N.; Köhler, G., 2002. Valores medios y desviaciones estándar para la longitud de la cabeza, el ancho y la longitud total de la cola en 20 especies de Roedores caviomorfos. Medidas en mm. El contenido de ADN (pg ADN) también se proporciona para diferentes especies.
- Gamboa, S.; Rodrigues, A.; Henriques, L.; Batista, C.; Ramalho-Santos, J., 2010. Seasonal functional relevance of sperm characteristics in equine spermatozoa. *Theriogenology* 73, 950-958.

- Garnica, J.; Achata, R.; Bravo, W., 1993. Physical and biochemical characteristics of alpaca semen. *Anim Reprod Sci* 32: 85-89.
- Gomendio, M.; Malo, J.; Garde y Roldan, E., 2008. Sperm traits and male fertility in natural populations. *Reproduction*. 2007,134:19–29
- Gómez, M.; Verano, A.; Lorena, 2005. Cátedra Reproducción Animal Facultad de Cs. Veterinarias – UNLP.  
[http://www.produccionbovina.com/informacion\\_tecnica/cria\\_toros/49-ProtocoloEvalSemen.pdf](http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/cria_toros/49-ProtocoloEvalSemen.pdf)
- Graham, E.; Schmehl, M.; Nelson, D., 1980. Problems with laboratory assays. *Proc 8th NAAB Tech Conf AI Reprod*, 1-8.
- Graham, J., 1996. Cryopreservation of stallion spermatozoa. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice* 12, 131-147.
- Gravance, C.; Champion, Z.; Casey, P., 1998. Computer-assisted sperm head morphometry analysis (ASMA) of cryopreserved ram spermatozoa. *Theriogenology*19, 49, 704-709, 1219-1230.
- Herrero, M.; Laminande, E.; Gagnon, C., 1999. Nitric oxide regulates human reproduction sperm capacitation and protein tyrosine phosphorylation in vitro. *Biol. Reprod.* 61: 575.
- Hidalgo, M., 2003. Valoración de la calidad esperma y su correlación con la fertilidad. I Jornadas de Reproducción Equina. Valencia. España.

- Hidalgo, M.; Rodriguez, I.; Dorado, J.; Sanz, J.; Soler, C., 2005. Effect of sample size and staining methods on stallion sperm morphometry by the Sperm Class Analyzer. *Veterinarni Medicina* 50, 24-32.
- Hoffmann, W.; Kramer, J.; Main, A.; Loch, W.; Quimby, F., 1989. The clinical chemistry of laboratory animals New York: Pergamon Press. p 237-27.
- Hurtgen, J., 1992. Evaluation of the stallion for breeding soundness. *The Veterinary clinics of North America. Equine practice* 8, 149-165.
- INIEA, 2007. Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria-Perú
- Jasko, D.; Lein, D.; Foote, R., 1990, Determination of the relationship between sperm morphologic classifications and fertility in stallions: 66 cases (1987-1988). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 197, 389-394
- Kajjak, C., 2007. Documento: mejoramiento de cuyes por selección. Trabajo de investigación y Tecnología. CONCYTEC.  
<http://www-somoscuyperu.com/2012/04/mejoramiento-genetico-de-los-cuyes.html>.
- Kumar, V.; Rani, S., 1999, Light sensitivity of the photoperiodic response system in higher vertebrates: Wavelength and intensity effects. *Indian Journal of Experimental Biology* 37, 1053-1064.

Laboratorio de Farmacología Reproductiva, Departamentos de Farmacología y de Ortopedia y Ginecología, New York Medical College, Flor y Quinta Avenida Hospitales, Nueva York, EE.UU., 1968-1969. Interacciones entre las características del semen de guinea pig recogida por electroeyaculación.

León, H.; Porras, A.; Galina, C. y Navarro-Fierro R., 1991. Effect of the collection method on semen characteristics of Zebu and European type cattle in the tropics. *Theriogenology*, 36(3), 349–355.  
[http://doi.org/10.1016/0093691X\(91\)90463-N](http://doi.org/10.1016/0093691X(91)90463-N)

Loor, C., 2015. Caracterización morfológica del espermatozoide del cobayo (*Cavia porcellus*) en el Cantón Latacunga. Tesis previa a la obtención del Título de Médico Veterinario Zootecnista-Ecuador.

Love, C., 2012. Measurement of Concentration and Viability in Stallion Sperm. *Journal of Equine Veterinary Science* 32, 464-466.

Love, C.; Thompson, J.; Brinsko, S.; Rigby, S.; Blanchard, T.; Lowry, V.; Varner, D., 2003. Relationship between stallion sperm motility and viability as detected by two fluorescence staining techniques using flow cytometry. *Theriogenology* 60, 1127-1138.

Lucio, R.; Tlachi, J.; Lopez, A.; Zempoalteca, R. y Velázquez-Moctezuma J., 2009. Análisis de los parámetros del eyaculado en la rata Wistar de laboratorio: descripción de la técnica Analysis of the parameters of the ejaculate in the laboratory Wistar rat: technical description. *Vet Mex*, 40(4), 405–416

- Lu, J.; Lü, N.; Huang, Y.; Li, P.; Fisch, H., 2004. Quality evaluation of three different sperm counting chambers. *Zhonghua nan ke xue = National journal of andrology* 10, 755-757, 760.
- Martan, J.; Shepherd, B., 1973. Spermatozoa in rouleaux in the female guinea pig tract. *Anat. Rec.* 175, 625–630.
- Mc Donald, L., 1981. *Reproducción y Endocrinología Veterinaria*. 2da ed. México: Ed. Interamericana. 466 p.
- Mocé, E.; Graham, J., 2008. In vitro evolution of sperm quality animal reproduction science. 105-104-118
- Muiño, R., 2008. *Evaluación de la Motilidad y Viabilidad del Semen Bovino Mediante el Uso de Sistemas CASA y Citometría de Flujo Identificación de Subpoblaciones Espermáticas*, Universidad de Santiago de Compostela.
- Muiño, R.; Rivera, M.; Rigau, T.; Rodríguez-Gil J.; Peña, A., 2008. Effect of different thawing rates on post-thaw sperm viability, kinematic parameters and motile sperm subpopulations structure of bull semen. *Animal Reproduction Science* 109, 50-64.
- Murray, R.; Mayes, P.; Rodwell, V.; Granner, D., 1988. *Bioquímica de Harper*. 11ava ed. México: Editorial el Manual Moderno. 713 p.
- Ortiz, N., 2000. Estudio de las características espermáticas y de la criopreservación en espermatozoides epididimarios de ciervo ibérico obtenidos post mortem. Universidad de Castilla. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=S1YjmV1nkmEC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

OMS., 1999. Organización Mundial de la Salud.

<https://es.wikipedia.org/wiki/Semen>

OMS., 2013. Manual de Laboratorio de la OMS para el semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical. Journal of Chemical Information and Modeling (Tercera, Vol. 53). Buenos Aires: Panamericana.

<http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Páez, E., 2012. Módulo Reproducción Animal Avanzada. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Tunja. Retrieved from.

[http://datateca.unad.edu.co/contenidos/201502/201502\\_MODULO.pdf](http://datateca.unad.edu.co/contenidos/201502/201502_MODULO.pdf)

Pace, M.; Sullivan, J.; Elliott, F.; Graham, E.; Coulter, G., 1981. Effects of thawing temperature, number of spermatozoa and spermatozoal quality on fertility of bovine spermatozoa packaged in 0.5- ml French straws. J Anim Sci 53, 693-701.

Parrish, J., 2006. Department of Animal Science, University of Wisconsin-Madison.

Paulenz, H.; Hofino, P., 1996. Routine Assesment of sperm concentration at boar AI station a coulter counter. Reprod. Dom. Anim.; 31(1):257-258 Manual de Laboratorio de Reproducción animal 2010 E. Mellisho IV.

Petrunkina, A.; Harrison, R., 2011. Cytometric solutions in veterinary andrology: Developments, advantages, and limitations. Cytometry Part A 79 A, 338-348.

Pickett, B.; Voss, J.; Bowen, R.; Squires, E.; McKinnon, A., 1988. Seminal characteristics and total scrotal width (T.S.W.) of normal and abnormal stallions. Proceedings of the ... annual convention – American Association of Equine Practitioners., 487-518.

- Quintero, M., 2004. Estudio sobre la Dinámica de poblaciones espermáticas en semen de caballo, cerdo y conejo. Universidad Autónoma de Barcelona. Departamento de Medicina y Cirugía Animal.
- RAE., 2001. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española (vigésima segunda edición).
- Raymondi, Ch., 2007. Mejoramiento genético de cuyes-Program Nacional de Investigación en animales menores. Estudios sobre el cuy, manuales, mejoramiento genético de cuyes.
- Ríos, M., María del Carmen.; Basto Segovia.; Conrado Solís Rojas y Mukul Yerves., 2015. Morfometría espermática del venado temazate café (Cervidae: Mazama pandora) en condiciones de cautiverio en Yucatán, México
- Roca, J.; Martinez, E.; Vazquez, J.; Coy, P., 1992. Characteristics and seasonal variations in the semen of Murciano-Granadina goats in the Mediterranean area. *Animal Reproduction Science* 29, 255-262.
- Rodríguez, H., 2000. Evaluación del semen congelado: métodos tradicionales y de actualidad. Ithaca, New York, International Veterinary Information Service.
- Rodríguez, G.; Barrios, A.; Huanca, L.; Rodríguez, G.; Revuelta, L., 2016. Niveles de glucosa y triglicéridos en plasma seminal y motilidad espermática en cobayos alimentados con 10% más de energía digestible. Estación Experimental-IVITA, Mantaro, 2 Laboratorio de Patología Clínica y Biología Molecular, 3 Laboratorio de Reproducción Animal- Facultad de Medicina Veterinaria Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 4 SENASA, Región Junín-Perú 5 Departamento de Fisiología Animal, Universidad Complutense de Madrid-España.

- Root, K., 2005. The value of canine semen evaluation for practitioners. *Theriogenology* 68: 329-337.
- Rosemberger. G., 1981. Exploración Química de los animales domésticos. Zaragoza, Hemisferio –sur. P 12-22.
- Rubio. G.; Quintero, M., 2007. Effects of cryopreservation on bull spermatozoa distribution in morphometrically distinct subpopulations. *Reproduction in Domestic Animals* 42, 354-357.
- Saacke, R.; Vinson, W.; Connor, I.; Chandler, T.; Mullins, J.; Amann, R.; Marshall, C.; Wallace, R.; Vincel, W.; Kellgren, H., 1980. The relationship of semen quality and fertility: a heterospermic study. *Proc 8th NAAB Tech Conf AI Reprod*, 71-78.
- Saacke, R.; Dalton, J.; Nadir, S.; Nebel, R.; Bame, J., 2000. Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. *Animal Reproduction Science* 60-61, 663-677.
- Saack, R., 2008. Sperm morphology: Its relevance to compensable and un compensable traits in semen. *Theriogenology* 70, 473-478.
- Sally, R., 2015. Azo. Medical Meet.  
<http://www.azomedical.com/>
- Salisbury, G.; Van, D.; Loodge, J., 1978. Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial en Bóvidos. 2da ed. España: Editorial Acribia. 831 p.

Samper, J., 2009. Equine breeding management and artificial insemination, 2nd, ed., p. 44, 51, 57, 58, 59, 62, 107, 114.

Scott, J. y Dziuk, P., 1964. Evaluation of the Electroejaculation Technique and the Spermatozoa thus Obtained from Rats, Mice and Guinea Pigs, 655–664.

SENA-Holanda (Servicio Nacional de Aprendizaje), 2010. Cunicultura. Cúcuta Norte de Santander.

Setchell, B.; Sánchez, P.; Chairussyuhur, A., 1993. Epididymal constituents and related substances in the storage of spermatozoa: a review. *Reprod Fertil Dev* 5 (6), 601-612.

Siene, H.; Martinsson, G.; Rauterberg, H.; Walter, K.; Aurich, C.; Petzoldt, R.; Klug E. 2003. Application of techniques for sperm Selection in Fresh and Frozen-Thawed Stallion Semen. *Reproduction in Domestic Animal* 38, 134, 140.

Sisk, 1976. *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*.

<https://books.google.com.pe/books?id=HhEsxsYp6IC&pg=PA585&lpg=PA585&dq=Sisk+1976&source=bl&ots=kRkY54d8D6&sig=by6u8ZKGP0eua1j3TTdINWdhgYE&hl=es&>

Tapia, P.; Tello, L., 2016. “Evaluación cuali-cuantitativa de espermatozoides de la cola del epidídimo de cuyes (*Cavia porcellus*) criollos y mejorados en dos edades reproductivas” Tesis previa a la obtención del Título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad de Cuenca-Ecuador. Facultad de Ciencias Agrarias

- Tulsiani, D. y Abou-Haila A., 2012. Biological Processes that Prepare Mammalian Spermatozoa to Interact with an Egg and Fertilize It. *Scientifica*, 2012, 1–12. <http://doi.org/10.6064/2012/607427>.
- Turner, R.; McDonnell, SM., 2003. Alkaline phosphatase in stallion semen: haracterization and clinical applications. *Theriogenology* 60(1): 1- 10.
- Universidad de Chile-Facultad de ciencias Veterinarias y pecuarias., 2004. Revista: Avances en ciencias veterinarias-Métodos de Recolección de Semen.
- Vantman, D.; Banks, S.; Koukoulis, G.; Dennison, L.; Sherins, R., 1989. Assessment of sperm motion characteristics from fertile and infertile men using a fully automated computer-assisted semen analyzer. *Fertility and Sterility* 51, 156-161.
- Vantman, D.; Gutiérrez, G.; Madariaga, M.; Ponce, J.; Smith, R., 1994. Variability of seminal analysis and of objective parameters of sperm motility in semen during sperm capacitation in subjects with proved fertility. Variabilidad del análisis seminal y de los parámetros objetivos del movimiento espermático en semen y durante la capacitación espermática en individuos con fertilidad probada. 59, 197-202.
- Varea, M.; Bastir, M. y Roldan, E., 2013. Geometric Morphometrics of Rodent Sperm Head Shape. *PLOS*. Retrieved from. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0031409>
- Varner, D., 2008. Developments in stallion semen evaluation. *Theriogenology* 70,448-462.

- Vázquez, J.; Martínez, E.; Roca, J.; Blanco, O.; Lucas, X.; Matás, C., 1997. Utilización del analizador de imágenes para la evaluación de la motilidad de los espermatozoides de verraco. IV Simposium Internacional de Reproducción e Inseminación Artificial., 83-90.
- Villavicencio, M., 1996. Bioquímica. 1raed. Lima – Perú: Edit. CONCYTEC. 451 p
- Wagner, J. y Manning, P., 1976. The Biology of the Guinea Pig (Primera). London: Academic Press Retrieved from.  
[http://books.google.com.ec/books?id=e033m2\\_cqDwC&pg=PA249&dq=n](http://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=n)
- WHO., 1999. Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm Cervical Mucus Internation, Press, C.U., ed. Wilson-Leedy, J.G., Ingermann, R.L., 2007. Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. Theriogenology 67, 661-672.
- Yanagimachi, R., 1994. Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity. Zygote, 2(4), 371–372.  
<http://doi.org/10.1017/S0967199400002240>
- Zabludovsky, N.; Eltes, F.; Har, E.; Geva, E.; Berkovitz, E.; Amit, A.; Barak, Y.; Bartoov, B., 1999. Relationship between human sperm lipid peroxidation, comprehensive quality parameters an IVF outocome Andrología. 31: 91
- Zalata, A.; Hafez, T.; Mahmoud, A., 1995. Relationship between resazurin reduction test, reactive oxygen species generation, and  $\gamma$ -glutamyltransferase. Hum. Reprod. 10:1136

## **A N E X O S**

Cuadro 1: Prueba de t de student al 95% de probabilidad, de las características Cinéticas del semen entre las razas de cuyes: Perú y Andina

<b>PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES</b>						
<b>Características</b>		<b>Prueba T para la igualdad de medias</b>				
		t	gl	Sig. (bilateral)	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
Volumen Eyaculado ml	Se han asumido varianzas iguales	1,16	28,00	0,26	-0,029	0,105
	No se han asumido varianzas iguales	1,16	25,45	0,26	-0,03	0,11
pH	Se han asumido varianzas iguales	0,34	28,00	0,73	-0,13	0,19
	No se han asumido varianzas iguales	0,34	26,99	0,73	-0,13	0,19
Concentración espermática N°x10 <sup>6</sup> ml	Se han asumido varianzas iguales	-1,40	28,00	0,17	-1619144,73	305811,39
	No se han asumido varianzas iguales	-1,40	26,06	0,17	-1622386,25	309052,92
Total de esperma eyaculado N°x10 <sup>6</sup> ml	Se han asumido varianzas iguales	-0,51	28,00	0,61	-776711,97	466311,97
	No se han asumido varianzas iguales	-0,51	25,53	0,61	-779431,23	469031,23
Motilidad en masa (%)	Se han asumido varianzas iguales	-0,619	28,00	0,541	-2,872	1,538
	No se han asumido varianzas iguales	-0,619	27,75	0,541	-2,872	1,538
Motilidad Individual (%)	Se han asumido varianzas iguales	1,34	28,00	0,19	-0,70	3,37
	No se han asumido varianzas iguales	1,34	26,99	0,19	-0,70	3,37

Cuadro 2: Medidas de resumen de los valores cinéticos: Media, mediana coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis de la raza Perú

<b>Características</b>	<b>Media</b>	<b>CV%</b>	<b>Mediana</b>	<b>Asimetría</b>	<b>Kurtosis</b>
pH	6.89	2.77	7.00	-1.32	0.03
Volumen Eyaculado ml	0.49	20.94	0.45	1.27	0.81
Concentración espermática N°x10 <sup>6</sup> ml.	7166666.67	15.31	7100000	0.10	-0.62
Total de esperma eyaculado N°x10 <sup>6</sup> ml...	3492766.67	19.75	3487000	0.71	-0.18
Motilidad masal (%)	91.00	3.08	90.00	0.11	-0.11
Motilidad Individual (%)	89.67	3.31	90.00	0.00	0.00

Cuadro 3: Medidas de resumen de los valores cinéticos: Media, mediana coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis de la raza Andina

<b>Características</b>	<b>Media</b>	<b>CV%</b>	<b>Mediana</b>	<b>Asimetría</b>	<b>Kurtosis</b>
pH	6.87	3.38	7.00	-1.08	-0.94
Volumen Eyaculado ml	0.46	16.35	0.45	-0.22	0.13
Concentración espermática N°x10 <sup>6</sup> ml.	7823333.33	18.56	7500000	0.39	-0.61
Total de esperma eyaculado N°x10 <sup>6</sup> ml...	3647966.67	26.08	3735000	0.37	-0.17
Motilidad masal (%)	91.67	3.37	90.00	-0.31	-0.66
Motilidad Individual (%)	88.33	2.76	90.00	-0.79	-1.50

Cuadro 4: Prueba de t de student al 95% de probabilidad, de la característica de los valores morfométricos del semen entre la raza de cuyes: Perú y Andina

<b>PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES</b>						
<b>Características</b>		<b>Prueba T para la igualdad de medias</b>				
		t	gl	Sig. (bilateral)	95% Intervalo de confianza para la diferencia	
					Inferior	Superior
Ancho cefálico ( $\mu\text{m}$ )	Se han asumido varianzas iguales	-0,69	28,00	0,50	-0,52	0,26
	No se han asumido varianzas iguales	-0,69	26,54	0,50	-0,52	0,26
Longitud flagelo ( $\mu\text{m}$ )	Se han asumido varianzas iguales	0,45	28,00	0,66	-2,06	3,21
	No se han asumido varianzas iguales	0,45	21,87	0,66	-2,09	3,25
Longitud del espermatozoide ( $\mu\text{m}$ )	Se han asumido varianzas iguales	-0,55	28,00	0,59	-4,33	2,50
	No se han asumido varianzas iguales	-0,55	27,87	0,59	-4,33	2,50
Morfología normal (%)	Se han asumido varianzas iguales	-0,26	28,00	0,80	-2,99	2,32
	No se han asumido varianzas iguales	-0,26	27,75	0,80	-2,99	2,32
Morfología anormal (%)	Se han asumido varianzas iguales	0,26	28,00	0,80	-2,32	2,99
	No se han asumido varianzas iguales	0,26	27,75	0,80	-2,32	2,99

Cuadro 5: Medidas de resumen de los valores mormométricos: Media, mediana coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis de la raza Perú.

<b>Características</b>	<b>Media</b>	<b>CV%</b>	<b>Mediana</b>	<b>Asimetría</b>	<b>Kurtosis</b>
Longitud cefálica (µm)	8,69	7,28	8,68	-0,27	-0,87
Ancho cefálico (µm)	7,75	5,91	7,68	0,28	-0,56
Longitud flagelo (µm)	93,76	4,65	93,90	0,05	-1,23
Longitud del espermatozoide (µm)	101,23	4,35	101,76	0,08	0,30
Morfología normal (%)	90,67	4,10	90,00	-0,23	-1,05
Morfología anormal (%)	9,33	39,82	10,00	0,23	-1,05

Cuadro 6: Medidas de resumen de los valores mormométricos: Media, mediana coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis de la raza Andina

<b>Características</b>	<b>Media</b>	<b>CV%</b>	<b>Mediana</b>	<b>Asimetría</b>	<b>Kurtosis</b>
Longitud cefálica (µm)	8.51	6.38	8.64	0.15	-0.63
Ancho cefálico (µm)	7.89	7.38	7.90	0.43	-0.72
Longitud flagelo (µm)	93.18	2.59	92.26	0.34	-1.30
Longitud del espermatozoide (µm)	102.15	4.62	99.80	0.58	-1.25
Morfología normal (%)	91.00	3.71	90.00	-0.26	-0.73
Morfología anormal (%)	9.00	37.56	10.00	0.26	-0.73

Cuadro 7: Prueba de t de student al 95% de probabilidad, de las características bioquímicas del Plasma Seminal del semen entre las razas de cuyes: Perú y Andina

<b>PRUEBA DE MUESTRAS INDEPENDIENTES</b>						
<b>Características</b>		<b>Prueba T para la igualdad de medias</b>				
		<b>t</b>	<b>gl</b>	<b>Sig. (bilateral)</b>	<b>95% Intervalo de confianza para la diferencia</b>	
					<b>Inferior</b>	<b>Superior</b>
ALT (U/L)	Se han asumido varianzas iguales	2,26	28,00	0,03	0,10	1,97
	No se han asumido varianzas iguales	2,26	22,04	0,03	0,09	1,98
GGT (U/L)	Se han asumido varianzas iguales	-5,72	28,00	0,00	-13,45	-6,36
	No se han asumido varianzas iguales	-5,72	26,60	0,00	-13,46	-6,35
Calcio (mg/dL)	Se han asumido varianzas iguales	-5,14	28,00	0,00	-2,90	-1,25
	No se han asumido varianzas iguales	-5,14	26,98	0,00	-2,90	-1,24
Colesterol (mg/dL)	Se han asumido varianzas iguales	-10,45	28,00	0,00	-25,11	-16,88
	No se han asumido varianzas iguales	-10,45	17,24	0,00	-25,23	-16,76
Glucosa (mg/dL)	Se han asumido varianzas iguales	-4,55	28,00	0,00	-5,31	-2,01
	No se han asumido varianzas iguales	-4,55	25,60	0,00	-5,32	-2,01
Fosfatasa (U/L)	Se han asumido varianzas iguales	-3,57	28,00	0,00	-4,73	-1,28
	No se han asumido varianzas iguales	-3,57	24,42	0,00	-4,74	-1,27
Albúmina (g/dL)	Se han asumido varianzas iguales	-6,25	28,00	0,00	-0,11	-0,05
	No se han asumido varianzas iguales	-6,25	17,58	0,00	-0,11	-0,05
Proteína (g/dL)	Se han asumido varianzas iguales	-0,59	28,00	0,56	-1,62	0,89
	No se han asumido varianzas iguales	-0,59	27,55	0,56	-1,62	0,90

Cuadro 8: Medidas de resumen de los valores bioquímicos del plasma seminal:  
Media, mediana coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis  
de la raza Perú

Características	Media	CV%	Mediana	Asimetría	Kurtosis
ALT (U/L)	5,64	27,29	5,45	-0,13	-0,9
GGT (U/L)	16,83	24,74	16,26	0,63	-0,82
Calcio (mg/dL)	8,2	14,7	7,8	0,17	-1,06
Colesterol (mg/dL)	22,32	11,29	21,9	0,42	-1,24
Glucosa (mg/dL)	10,47	17,56	10,26	0,71	-0,41
Fosfatasa (U/L)	15,11	11,97	15,14	0,09	-1,26
Albúmina (g/dL)	0,14	12,14	0,14	0,27	-0,71
Proteína (g/dL)	1,38	113,9	0,91	3,77	9,67

Cuadro 9: Medidas de resumen de los valores bioquímicos del plasma seminal:  
Media, mediana coeficiente de variación (CV%), Asimetría y kurtosis  
de la raza Andina

Características	Media	CV%	Mediana	Asimetría	Kurtosis
ALT(U/L)	4,61	18,77	4,80	0,17	-0,80
GGT (U/L)	26,73	19,67	26,10	0,49	0,06
Calcio (mg/dL)	10,27	9,64	10,20	0,13	-1,20
Colesterol (mg/dL)	43,31	17,00	42,20	0,30	-0,94
Glucosa (mg/dL)	14,13	17,85	14,13	-0,22	-1,10
Fosfatasa (U/L)	18,11	14,95	18,33	0,12	-0,66
Albúmina (g/dL)	0,22	21,34	0,21	0,26	-0,92
Proteína (g/dL)	1,74	102,57	1,31	3,52	8,70

Cuadro 10. Prueba no paramétrica de Mann-Whitney entre las razas de cuyes (Peruana y Andina) sobre el volumen (ml) la morfología anormal del espermatozoide (%), ALT ( $\mu\text{m}$ ), GGT ( $\mu\text{m}$ ) , Albúmina (g/dl) y Proteína (g/dl).

ESTADÍSTICOS DE CONTRASTE						
	Volumen Eyaculado ml	Morfología anormal (%)	ALT ( $\mu\text{m}$ )	GGT ( $\mu\text{m}$ )	Albúmina (g/dl)	Proteína (g/dl)
U de Mann-Whitney	97,000	107,500	62,000	13,000	8,000	64,000
W de Wilcoxon	217,000	227,500	182,000	133,000	128,000	184,000
Z	-0,657	-0,227	-2,095	-4,127	-4,350	-2,013
Sig. asintót. (bilateral)	0,511	0,820	0,036	0,000	0,000	0,044
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	0,539	0,838	0,037	0,000	0,000	0,045

### Protocolo para la evaluación de semen

Previo a describir los pasos para una correcta evaluación seminal, se debe tener en cuenta que existen dos tipos de evaluaciones diferentes, la del semen fresco y la del semen congelado-descongelado. Primeramente, se describirán los pasos a seguir para realizar la evaluación del semen fresco que es uno de los pasos en la determinación de la aptitud reproductiva del animal.

#### Evaluación de semen fresco

Para considerar a un reproductor como apto reproductivo, asumiendo que es un animal clínicamente sano, debe cumplir con tres requisitos básicos, como son:

- a) Buen libido
- b) Buen estado clínico reproductivo
- c) Buena calidad espermática.

La evaluación del semen es un punto importante para la certificación de la aptitud reproductiva en un animal. El semen se puede obtener por medio de electro-eyaculación o vagina artificial y es recolectado en un tubo graduado de diferente calibre de acuerdo a la especie, ya sea plástico o de vidrio, para facilitar

la medición del volumen. Se debe tener en cuenta de cubrir el tubo con un protector para evitar que, tanto los rayos UV como los cambios bruscos de temperatura afecten al semen.

**Nota:** Previo a la llegada del semen al laboratorio se deben tener preparados los siguientes elementos: Baño María conectado y atemperado, ya que tarda unos minutos en estabilizar la temperatura requerida (32-35°C), colocar dentro del Baño tubos con citrato de Na y la tinción de eosina. Conectar la platina térmica del microscopio y colocar sobre ella los portaobjetos necesarios para realizar la evaluación y los extendidos. Se recomienda realizar 2 extendidos por muestra y tenerlos previamente rotulados con el nombre del animal y la fecha. Preparar el material de laboratorio sobre la mesada en forma ordenada y tener siempre a mano la planilla de evaluación para no olvidar ningún paso.

Una vez que el semen llega al laboratorio, se debe colocar en el Baño María a una temperatura de entre 32 y 35°C. para comenzar con su evaluación.

La primera evaluación a realizar es la Macroscópica, que consta de los siguientes pasos:

**Volumen:** se observa directamente sobre el tubo graduado, teniendo en cuenta que un reproductor debe tener un eyaculado de no menos de 0.6 ml.

El volumen puede variar entre 0.6 y 0.8 ml.

**Color:** se consideran normales los colores que van del blanco al grisáceo, siendo patológicos, los colores rosado, amarronado y verdoso.

**Densidad:** la densidad del semen varía desde un semen acuoso, lechoso, lechoso cremoso, hasta un cremoso, estando directamente relacionada con la concentración.

MB = Cremoso, espeso 750.000 esp/mm<sup>3</sup>

B = lechoso, 400 a 750.000 esp/mm<sup>3</sup>

R = leche aguachenta, 250 a 400.000 esp/mm<sup>3</sup>

P = traslucido, menos de 250.000 esp/mm<sup>3</sup> (todo esto para el caso del toro)

**M.M.Ma** (Motilidad en Masa Macroscópica): se evalúa observando el tubo de recolección y detectando la presencia o no de movimiento masal o de remolinos. Se considera como positiva o negativa.

**Ph:** se evalúa extrayendo una gota de semen del tubo y colocándola sobre una tira indicadora de pH. Nota: no introducir la tira dentro del tubo para no alterar el semen con el reactivo de la misma.

**Cuerpos Extraños:** se evalúa observando el fondo del tubo para detectar la presencia de algún cuerpo extraño, se considera como positivo o negativo.

**Schalm Test:** se realiza para detectar la presencia de leucocitos, pero sólo en casos que se sospeche la presencia de los mismos. No se hace de rutina en cada evaluación.

Finalizada la evaluación macroscópica, se continúa con la evaluación **MICROSCÓPICA**, que consta de los siguientes pasos:

**M.M.Mi** (Motilidad en Masa Microscópica): se coloca una gota del semen puro sobre un portaobjetos atemperado a 36-37°C, sobre una platina térmica de microscopio, y se lo observa a 40 aumentos (lupa), evaluando la presencia de ondas omega. Se debe evaluar cerca del borde de la gota, donde la profundidad de la misma es menor y es más fácil de observar. La escala que se toma es de 1 a 5, evaluando como 1 al semen que no presenta ondas y 5 cuando las ondas se mueven rápidamente formando remolinos. Dentro de esos parámetros se consideran los puntos intermedios. Se considera como valor mínimo de aceptación 3 de MMMi.

**M.I.** (Motilidad individual): para realizar esta evaluación se debe diluir el semen en Citrato de Na 2.92% (ver preparación en el apéndice). Se coloca una gota gruesa de semen, de aproximadamente 30 ó 40 microlitros en un tubo con unos 2ml. de la solución de Citrato que debe estar a la misma temperatura del semen, ya en el Baño María. Una vez diluido el semen se extrae una gota de la dilución y se la coloca sobre un portaobjetos atemperado a 36-37°C y se coloca sobre ésta un cubreobjetos, también a la misma temperatura. Se observa al microscopio, siempre sobre la platina térmica, a 400 aumentos. Se debe observar un campo y valorar subjetivamente los espermatozoides que se mueven en forma rectilínea progresiva, siendo éstos los que atraviesan el campo de observación. Los espermatozoides que giran en círculo o avanzan en forma oscilatoria, se consideran que tienen movimientos anormales. El porcentaje que se indica es el de los espermatozoides con movimiento rectilíneo progresivo del total de espermatozoides aceptados, siendo el valor mínimo aceptable del 50 %.

MB = 80-100% de células móviles.

B = 60-79%

R = 40-59%

P = menos de 40%

**Vigor:** se evalúa el vigor, al mismo tiempo que la MI, teniendo en cuenta la velocidad con la que éstos espermatozoides atraviesan el campo. La escala que se utiliza es de 0 a 4, evaluando como 0 los espermatozoides inmóviles y como 4 los que avanzan rápidamente por el campo y son difíciles de seguir visualmente. Dentro de estos parámetros se consideran los puntos intermedios. Se considera como valor mínimo aceptable un vigor de 3. **Concentración:** para evaluar la concentración, se debe preparar previamente una solución salina formolada 2%. Se colocan 10 microlitros de semen puro en 2ml. de solución salina formolada (1/200) y se homogeniza invirtiendo el tubo varias veces. Una vez homogeneizado, se toman aproximadamente 14 microlitros y se carga la Cámara de Newbawer por capilaridad, en ambos retículos, teniendo en cuenta de cargar otros 14 microlitros para el segundo retículo volviendo a homogeneizar entre una carga y otra.

**Nota I:** para preparar la Cámara, se deben humedecer los bordes de ésta antes de colocar el cubre cámara y luego se debe presionar ejerciendo una leve fricción para que el cubre cámara quede fijo y al invertir la Cámara no se caiga. Una vez cargada, se debe dejar reposar unos minutos para permitir que todos los espermatozoides decanten y se ubiquen en un mismo plano para poder contarlos. Luego se procede a ubicar el retículo de glóbulos rojos a 100 aumentos, y una vez localizado, se pasa a 400 aumentos para realizar el conteo. Se cuentan todos los espermatozoides que se encuentren en las 4 cuadrículas de las puntas y la central (5 en total) teniendo en cuenta de incluir también los espermatozoides que se encuentren sobre 2 de las triples líneas de cada cuadrícula, ya sean la superior y derecha ó la izquierda e inferior. Se cuentan los retículos de ambos lados de la cámara y se saca el promedio. Al número de espermatozoides que conté, lo multiplico por 10.000(\*) y así obtengo la cantidad de espermatozoides por milímetro cúbico de semen. Se considera como valor aceptable, una concentración de no menos de 750.000 espermatozoides por milímetro cúbico para aceptar el eyaculado para congelación. La concentración mínima aceptable para toro de rodeo general es de 500.000 espermatozoides por milímetro cúbico.

**Nota II:** la medición de la concentración se puede realizar al final de toda la evaluación, ya que el semen se puede conservar hasta el otro día en la solución formolada. Factor de corrección que obtengo de multiplicar la inversa de la dilución por la inversa de la profundidad de la cámara por el total de cuadrículas pequeñas que posee el retículo, dividido el número de cuadrículas pequeñas que cuento en las 5 cuadrículas grandes.  $10 \times 200 \times 400 / 80 = 10000$ . Frotis: para completar la evaluación se deben realizar los siguientes frotis: Coloración Vital, Morfología y Acrosomía, pudiéndose evaluar éstos dos últimos en el mismo frotis, con la tinción adecuada.

a) Coloración Vital: se realiza extrayendo una gota de aproximadamente 10 micro litros de semen puro y colocándola sobre la punta de un portaobjetos limpio y desengrasado atemperado a 36,-37°C sobre la platina térmica. Sobre esta gota se coloca una gota de aproximadamente 30 micro litros de eosina, que debe estar a la misma temperatura del semen, en un tubo dentro del Baño María. Se mezcla suavemente con la punta de la pipeta por aproximadamente 20 segundos. Se utiliza otro portaobjetos, también atemperado, y se apoya sobre el borde de la gota para que por capilaridad se distribuya sobre el portaobjetos, se levanta y se realiza el extendido en forma firme. (Nota I: no se realiza el extendido directamente de la gota gruesa dónde se mezcló para evitar que el frotis tenga un grosor excesivo y resulte dificultosa su lectura). Se deja secar sobre la platina térmica y se procede a su lectura. El fundamento de esta técnica es: el colorante penetra rápidamente por el campo y son difíciles de seguir visualmente. Dentro de estos parámetros se consideran los puntos intermedios. Se considera como valor mínimo aceptable un vigor de 3.

**Concentración:** para evaluar la concentración, se debe preparar previamente una solución salina formolada 2%. Se colocan 10 micro litros de semen puro en 2ml. de solución salina formolada (1/200) y se homogeniza invirtiendo el tubo varias veces. Una vez homogeneizado, se toman aproximadamente 14 micro litros y se carga la Cámara de Newbawer por capilaridad, en ambos retículos, teniendo en cuenta de cargar otros 14 micro litros para el segundo retículo volviendo a homogeneizar entre una carga y otra.

Nota I: Para preparar la cámara, se deben humedecer los bordes de ésta antes de colocar el cubre cámara y luego se debe presionar ejerciendo una leve fricción para que el cubre cámara quede fijo y al invertir la Cámara no se caiga. Una vez cargada, se debe dejar reposar unos minutos, para permitir que todos los espermatozoides se decanten y se puedan contar. Luego se ubica el retículo de glóbulos rojos a 100 aumentos, una vez localizados, se pasa a 400 aumentos para realizar el conteo, se cuentan todos los espermatozoides que se encuentran en las 4 cuadrículas de las puntas y la central (5 en total) teniendo en cuenta de incluir también los espermatozoides que se encuentran sobre 2 de las triples líneas de cada cuadrícula, ya sean la superior y derecha o la izquierda e inferior. Se cuentan los retículos de ambos lados de la cámara y se sacan los promedios. Al número de espermatozoide que conté, lo multiplico por 10000 y así obtengo el número de espermatozoides por milímetro cúbico de semen. Se considera como valor aceptable, una concentración de no menos de 750,000 espermatozoides por milímetro cúbico para aceptar el eyaculado.

**Frotis:** con el objeto de evaluar la coloración vital, morfología y acrosomía.

La coloración vital se realiza extrayendo una gota de 10 micro litros de semen puro colocándolo sobre la porta objetos a temperatura de 36-37°C. Sobre la gota se coloca 30 micro litros de eosina a la misma temperatura del semen se mezcla ligeramente con la punta de la pipeta por 20 segundos, se realiza el extendido. Se deja secar unos segundos y se procede a la lectura; el fundamento de esta técnica es que el colorante penetra a la membrana de los espermias muertos, dejando sin teñir los que se encontraban vivos al momento de la tinción. Para sacar el porcentaje de espermias vivos se procede a observar el frotis a 400 aumentos, contando los espermias de todos los campos evaluados, descontando los muertos. Se cuentan no menos de 100 células y se calcula el porcentaje. Se considera como valor mínimo aceptable, el 70% de espermias vivos.

Nota II. La lectura del frotis se evalúa el mismo día, pasado mucho tiempo los espermias vivos pueden teñirse.

**b) Morfología y Acrosomía:** se coloca una gota de aproximadamente 30 microlitros de semen diluido sobre un portaobjetos limpio y desengrasado y se realiza el frotis en forma firme y pareja. Se deja secar el frotis y se lo tiñe con una

solución de Giemsa. Se dejan incubar con el colorante por 4 horas, se los retira se enjuagan y se los deja secar. La evaluación de la morfología y la acrosomía se realiza bajo aceite de inmersión a 1000 aumentos. Los espermatozoides se visualizan de color violáceo y en el caso de tener presente su acrosoma se puede apreciar de un violáceo más intenso, de estar ausente el mismo se observa la cabeza del espermatozoide de un color homogéneo o con el tercio superior más claro. El valor mínimo tanto para rodeo general como para congelación es de 70% de acrosomas normales. También se puede evaluar por medio de contraste de fase con glutaraldehído al 0,2%. Si se desea ver sólo morfología se puede utilizar también Rosa de Bengala observándose a los espermatozoides de un color rosa intenso.

Con respecto a las **Malformaciones Espermáticas**, se las puede clasificar siguiendo diferentes criterios:

1) **Primarias y Secundarias.** Es la clasificación más usada en la bibliografía, pero no por ello la más exacta. Las malformaciones Primarias por definición, son aquellas que se originan dentro del testículo durante la espermatogénesis y malformaciones, y secundarias son aquellas que se originan dentro del epidídimo; cabe destacar que por definición se denota el origen y no la severidad del defecto.

2) **Mayores y Menores.** Esta clasificación la propuso Bloom en 1977 y llamó malformaciones Mayores a aquellas que estaban asociadas con infertilidad y malformaciones Menores a aquellas que, al momento de crear el método de clasificación, no se encontraban relacionadas con la fertilidad en forma directa.

3) **Compensables y No Compensables.** En 1994 Saacke y col. propusieron clasificar los defectos como: **compensables**, a aquellos en los que el espermatozoide no llega a la vecindad del ovocito y no evita que otro espermatozoide realice la fertilización; por lo tanto, si se aumenta la concentración de la dosis seminal, se podría llegar a compensar este tipo de malformación, tal es el caso de espermatozoides con problemas en el sistema de locomoción. Un defecto **no compensable** es aquel en el cual el espermatozoide está perfectamente capacitado para llegar hasta el ovocito, realiza el bloqueo de la polispermia, pero es incapaz de continuar el proceso de fertilización. Dicho defecto no se puede compensar aumentando la concentración de la dosis inseminante, ya que, si una

muestra posee un 20% de espermatozoides con este defecto, no habrá ninguna diferencia si hay 100, 1.000 o 10.000 en el oviducto, siempre tendríamos 20% de chances de que un espermatozoide con este tipo de defecto inicie la reacción acrosómica y bloqueo de la polispermia (Gómez, 2005).

## FOTOS

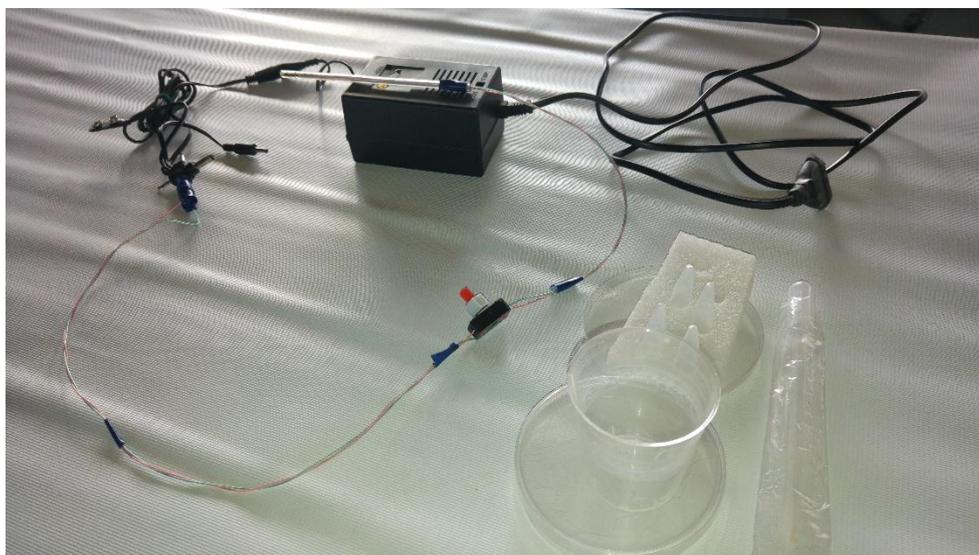


Foto 1. Electroeyaculador – 4.5 voltios

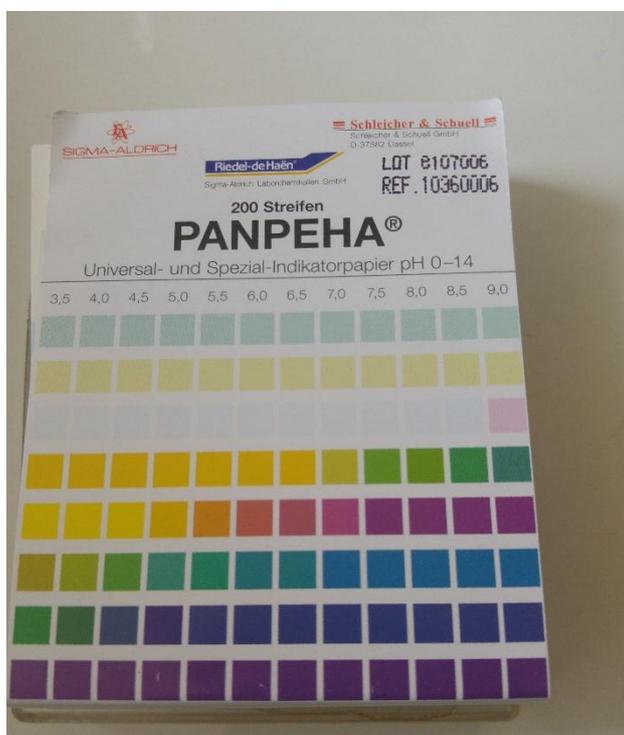


Foto 2. Cinta para el control del pH

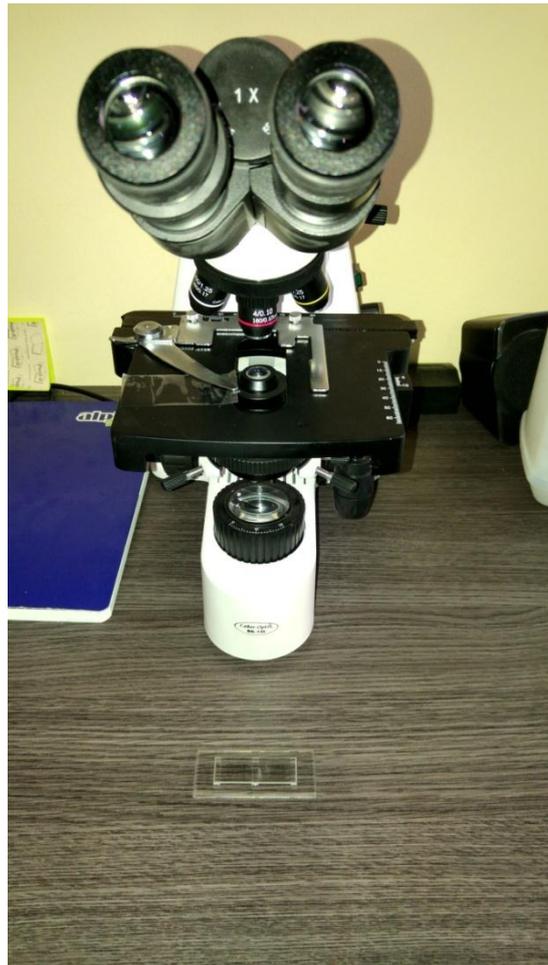


Foto 3. Microscopio marca Nikon-Eclipse E 200, con luz incorporada

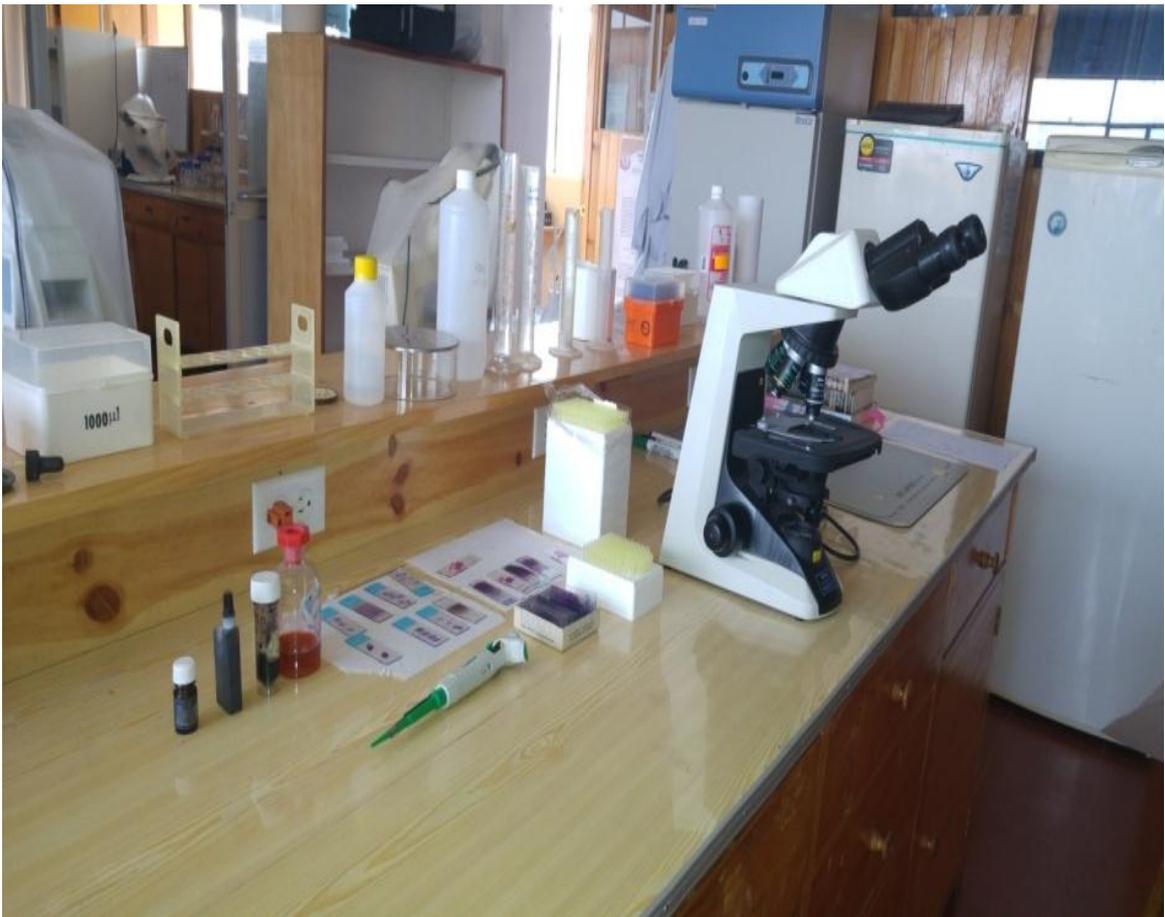


Foto 4. Equipo de laboratorio para realizar tinciones.



Foto 5. Equipo de microscopios utilizados en la investigación



Foto 6. Estufa con CO<sub>2</sub>



7



8



9

Fotos 7-8-9. Razas de cuyes utilizadas en el trabajo de investigación: cuyes rojos con blanco=machos raza Perú; cuyes blancos= machos de la raza Andina.



Foto 10. Aplicando el electroeyaculador – extracción del semen.

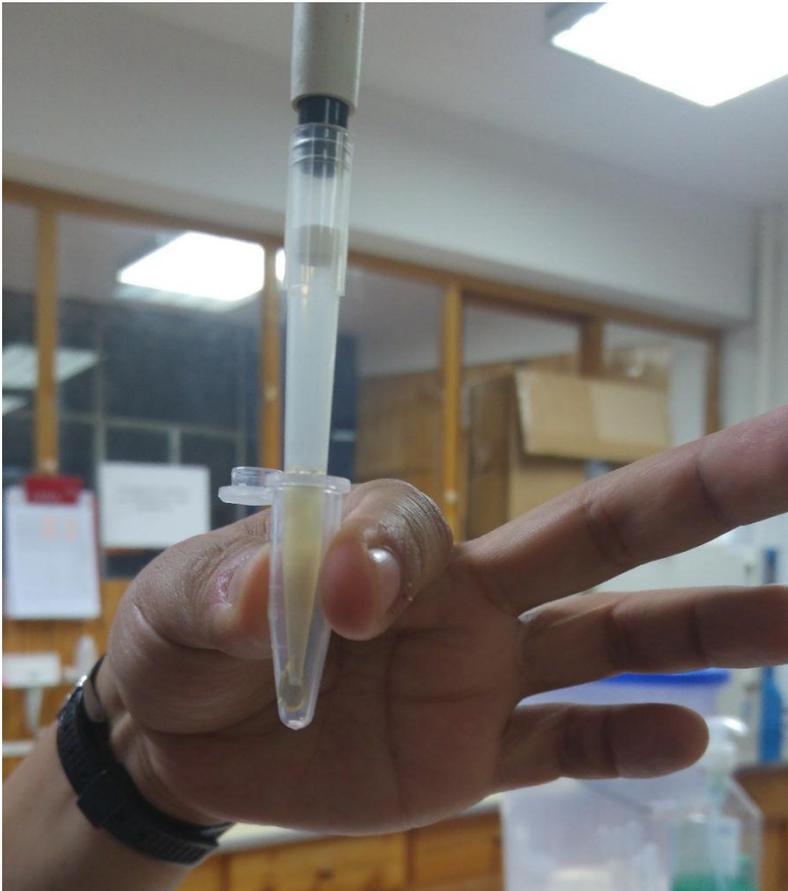


Foto 11. Dilución del semen

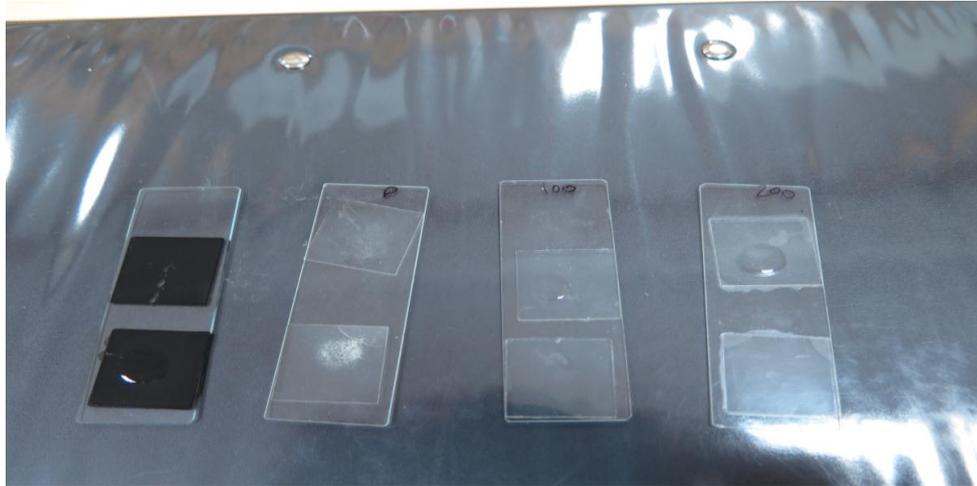


Foto 12. Láminas porta objetos con semen fresco. La lámina negra es un frotis teñida con tinta china.



Foto 13. Dos tipos de placas Neubauer

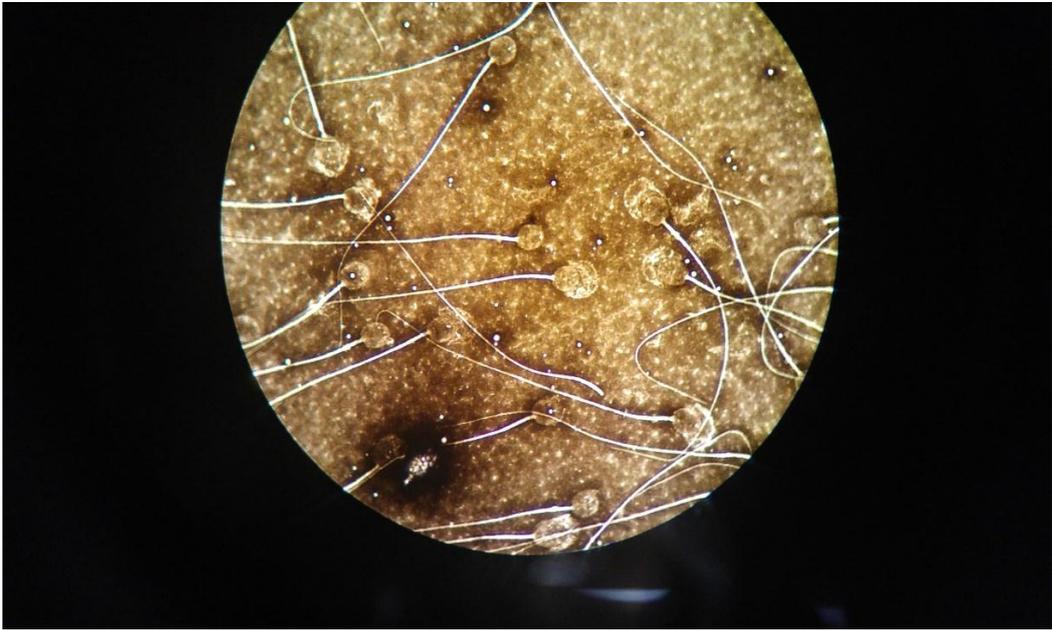


Foto 14. Imagen del espermatozoide del cuy.

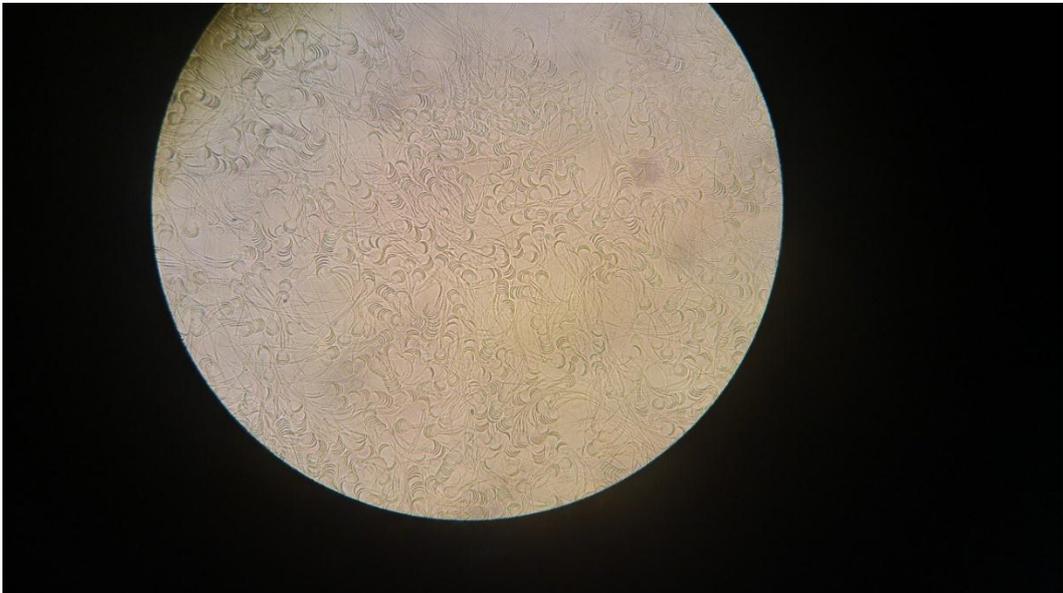


Foto 15. Espermatozoides agrupados

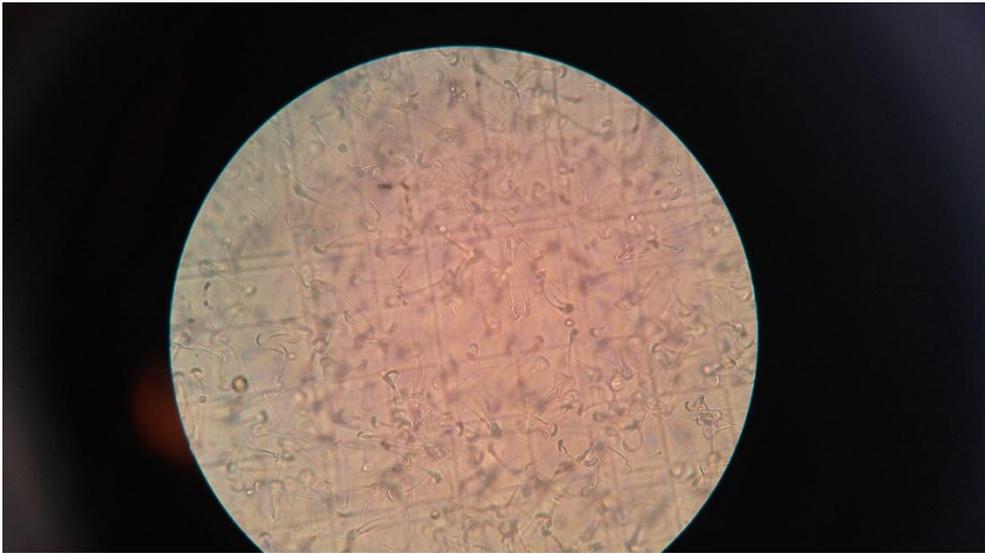


Foto 16. Recuento de espermatozoides en la placa de Neubauer

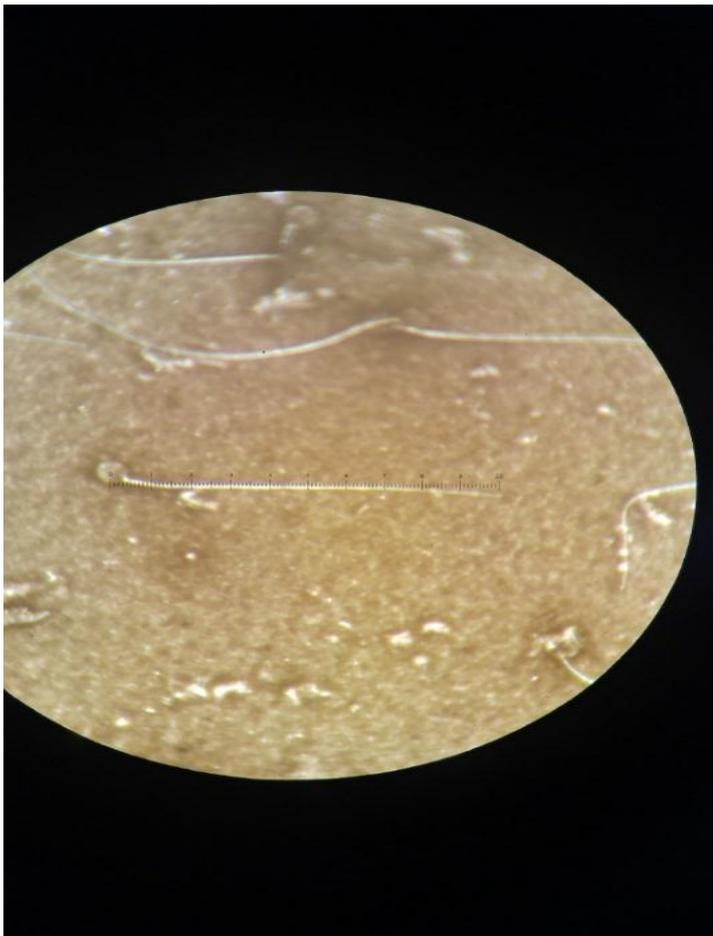


Foto 17. Midiendo al espermatozoide



Foto 18. Realizando la medida de la cabeza del espermatozoide