

EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS MACRO Y MICROSCÓPICAS DE
SEMEN DE CUYES MEJORADOS (*Cavia porcellus*) DE 90 DÍAS DE EDAD

HUGO ALEJANDRO BURBANO ORTEGA
ANDRÉS CAMILO INSUASTY OBANDO

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
2020

EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS MACRO Y MICROSCÓPICAS DE
SEMEN DE CUYES MEJORADOS (*Cavia porcellus*) DE 90 DÍAS DE EDAD

HUGO ALEJANDRO BURBANO ORTEGA
ANDRÉS CAMILO INSUASTY OBANDO

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Zootecnistas

Asesora
LESVY RAMOS OBANDO
Zoot., IPA., Esp. M.Sc.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
2020

NOTA DE RESPONSABILIDAD

“Las ideas y conclusiones descritas en el siguiente trabajo son responsabilidad exclusiva de los autores”

Artículo 1° del acuerdo N°324 de octubre 11 de 1966, emanado por el Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación:

LESVY RAMOS OBANDO Zoot., IPA. Esp., M.Sc.
Asesora

LUIS ERNESTO VITERI SARASTI Zoot., Esp., M.Sc.
Jurado delegado

ANA JULIA MALLAMA GOYES Zoot., M.Sc.
Jurado

San Juan de Pasto, octubre de 2020

Dedicatoria

A mis padres y hermana por acompañarme en cada paso y en cada logro, han hecho que cada una de mis metas y propósitos se hagan realidad.

A muchos de los amigos que con sus palabras me motivaron en cada uno de los momentos de este proceso.

Andrés Camilo Insuasty Obando

Dedicatoria

A Dios.

Creador y arquitecto de mi vida, que siempre me ha bendecido enormemente.

A mis padres.

Que colocaron en mis manos la tierra grumosa y fértil para que aprendiera a amarla y me enseñaron la semilla y el surco donde crecería la esperanza.

A mis hermanas y a mi novia a quiénes amo y admiro mucho.

Que pusieron sus palabras en mis labios, palabras que son eco de amor y del humor que nunca se apaga, iluminaron mi sendero para alimentar mi fortaleza y así consolidar este sueño.

Hugo Alejandro Burbano Ortega

AGRADECIMIENTOS

Los autores Hugo Alejandro Burbano y Andrés Camilo Insuasty agradecen a:

La Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Zootecnia, Alma Mater por haber permitido formarnos como profesionales.

A la directora de tesis la profesora Lesvy Ramos Obando por su confianza, apoyo incondicional y por la enseñanza impartida durante toda nuestra etapa de formación como profesionales.

Al ingeniero electrónico Andrés Ramírez por el apoyo técnico para la construcción y elaboración del electroeyaculador.

A la jefe de laboratorios Ximena Delgado por permitirnos hacer uso de los equipos de laboratorio.

A los docentes Katia Benavides Romo, Guillermo Cárdenas Caicedo, Kris Cortés Jojoa y al tecnólogo Jaime Fabián Quintana en reconocimiento por sus asesorías y por sus valiosos consejos que nos permitieron mejorar y concluir de la mejor manera esta investigación.

Y a todas las personas que ayudaron a que este trabajo de grado llegara a feliz término.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	18
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	20
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	22
3. OBJETIVOS	24
3.1 OBJETIVO GENERAL	24
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
4. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE	25
4.1 GENERALIDADES DE LA PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN DE CUYES	25
4.1.1 SISTEMAS DE APAREAMIENTO EN CUYES	27
4.2 ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DEL CUY MACHO	28
4.2.1 ANATOMÍA REPRODUCTIVA DEL CUY MACHO.	29
4.2.2 FISIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN EN CUYES MACHOS	38
4.2.2.1 DESCRIPCIÓN DEL SEMEN	39
4.2.2.2 FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD DEL SEMEN	39
4.2.2.3 ESPERMATOGÉNESIS	40

4.2.2.4 ESPERMATOZOIDES	40
4.2.2.4.1 ESTRUCTURA DE LOS ESPERMATOZOIDES	41
4.2.2.5 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS	43
4.2.2.5.1 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	44
4.2.2.5.2 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	45
4.3 METODOS DE RECOLECCIÓN DEL SEMEN	51
4.3.1 VAGINA ARTIFICIAL	51
4.3.2 MASAJE	51
4.3.3 ELECTROEYACULADOR	52
4.4 DILUYENTES UTILIZADOS	52
5. DISEÑO METODOLÓGICO	54
5.1 LOCALIZACIÓN	54
5.2 POBLACIÓN OBJETO Y MUESTRA	54
5.3 INSTALACIONES, MATERIALES Y EQUIPOS	54
5.3.1 MATERIALES	54
5.3.2. EQUIPOS	55
5.4 MANEJO	55
5.4.1 PERIODO DE ADAPTACIÓN	56
5.4.2 PLAN DE ALIMENTACIÓN	56
5.4.3 PLAN SANITARIO	56

5.5 VARIABLES A EVALUAR	56
5.5.1 DISEÑO ELECTROEYACULADOR	56
5.5.2 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	56
5.5.3 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	57
5.6 MODELO FICHA INDIVIDUAL PARA RECOLECTAR INFORMACIÓN DEL SEMEN	60
5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	60
6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	62
6.1 DISEÑO DEL ELECTROEYACULADOR	62
6.2 PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE SEMEN DE CUY	62
6.2.1 PESAJE	62
6.3 PROTOCOLO PARA EVALUAR CARACTERÍSTICAS MACRO Y MICROSCÓPICAS DE SEMEN DE CUY	67
6.4 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	71
6.4.1 COLOR	71
6.4.2 PH	72
6.4.3 VOLUMEN DE EYACULADO	72
6.5 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	73
6.5.1 MOTILIDAD Y TIPO DE MOVIMIENTO	73
6.5.2 AGLUTINACIÓN	74
6.5.3 % DE ESPERMATOZOIDES VIVOS Y MUERTOS	74

6.5.4 CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	75
6.5.5 FORMAS ANORMALES	77
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	79
7.1CONCLUSIONES	79
7.2RECOMENDACIONES	79
BIBLIOGRAFIA	81

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Corte transversal del testículo	30
Figura 2. Corte trasversal del túbulo seminífero	31
Figura 3. Aspecto ventral de la rete testis izquierda	32
Figura 4. Partes del epidídimo	33
Figura 5. Lóbulos ventral y dorsal de la próstata	34
Figura 6. Glándula bulbo uretral	35
Figura 7. Aspecto ventral de la vejiga urinaria y uretra	36
Figura 8. Sección sagital de la porción craneal y caudal del pene, forma y partes del prepucio y el glande	37
Figura 9. Estructura del espermatozoide del cuy	42
Figura 10. Morfo-anomalías en espermatozoides	50
Figura 11. Elaboración de jaulas individuales y aislamiento de animales	55
Figura 12. Escala de pH	57
Figura 13. Ficha individual	60
Figura 14. Elaboración y calibración electroeyaculador	62
Figura 15. Pesaje individual	63
Figura 16. Limpieza, desinfección y toma de muestra del semen	64
Figura 17. Aplicación del protocolo de laboratorio	69

Figura 18. Muestra de semen en microtainer	71
Figura 19. Tinción Eosina, observación de espermatozoides vivos y muertos	75
Figura 20. Conteo de espermatozoides en cámara de Neubauer (16 cuadros)	76
Figura 21. Muestra de semen fijada con citrato formal visualización a 40X, espermatozoide en forma de látigo	78
Figura 22. Paquete de 6 espermatozoides	78

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Clasificación taxonómica cuyes	25
Tabla 2. Volumen del eyaculado de diferentes especies	40
Tabla 3. Duración de espermatogénesis	41
Tabla 4. Algunas características del semen de cuy	47
Tabla 5. Protocolo de extracción experimental	65
Tabla 6. Fechas de extracciones	66
Tabla 7. Protocolo para analizar muestras en laboratorio	68
Tabla 8. Resultados de laboratorio de muestras de semen de cuyes (<i>Cavia porcellus</i>) mejorados de 90 días de edad	70

RESUMEN

La investigación se realizó en la Granja Experimental Botana, propiedad de la Universidad de Nariño, ubicada en el corregimiento de Catambuco, vereda Botana, a 7 Km de la ciudad San Juan de Pasto, Departamento de Nariño, en el laboratorio de inseminación porcina.

Este estudio se ejecutó en cinco etapas, con el objetivo de determinar las características macroscópicas y microscópicas del semen de cuyes machos de 90 días de edad, en primera instancia se diseñó y construyó un electroeyaculador con el apoyo y asistencia técnica de un ingeniero electrónico, este dispositivo cuenta con un regulador de tono muscular que funciona con base a estímulos eléctricos programables de 0 a 60 estímulos/segundo y/o minutos, dos electrodos bipolares conectados a un transductor rectal por el que se transmiten los estímulos eléctricos y un shock eléctrico que sale de un transformador que emite una descarga eléctrica que fluctúa de 5 voltios a 12 voltios y una programación de descansos que varían de 0 a 60 segundos o minutos; posteriormente se creó y estandarizó un protocolo para el manejo del electroeyaculador en el proceso de la extracción del semen, el cual comprende el periodo de adaptación, la limpieza del aparato genital del macho, la eliminación de heces del recto y la aplicación de los estímulos eléctricos para inducir a la eyaculación.

Luego se hizo la extracción, colecta y análisis inmediato de las muestras seminales, las cuales se conservaron a baño maría a una temperatura de 37° C; finalmente se determinó y analizó estos resultados mediante estadística descriptiva, en donde se obtuvo un pH promedio de 7, volumen del eyaculado 0,3 ml, concentración del eyaculado $14,6 \times 10^6$ espermatozoides/eyaculado, motilidad de 70 % y espermatozoides muertos del 96 % este último resultado se obtuvo debido a que no se logró estandarizar la proporción adecuada de eosina/semen para realizar la tinción y determinar así el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos.

No se observaron reacciones adyacentes o perjuicios físicos en los animales sometidos a la técnica de electroeyaculación.

ABSTRACT

The investigation was done at the Botana Experimental Farm owned by the University of Nariño. Is located in Catambuco at the Botana village, 7 km from San Juan de Pasto, Nariño Department, in the swine insemination lab.

This study was made in five stages, to determining the macroscopic and microscopic semen characteristics of 90-day-old male guinea pigs. At first An electroejaculator was designed and built with the support and technical assistance of an electronic engineer, this device has a muscle tone regulator that works based on programmable electrical stimuli from 0 to 60 stimuli / second and / or minutes, two connected bipolar electrodes to a rectum transducer through which electrical stimuli and an electrical discharge are transmitted from a transformer that emits an electrical discharge that fluctuates from 5 volts to 12 volts and a rest schedule that varies from 0 to 60 seconds or minutes; Later, a protocol for the management of the electroejaculator in the semen extraction process was created and standardized, which includes the adaptation period, the cleaning of the male genital apparatus, the elimination of feces from the rectum and the application of electrical stimuli to induce ejaculation.

Then the extraction, collection and immediate analysis of the seminal samples were made, which were kept in a water bath at a temperature of 37 ° C; Finally, these results were determined and analyzed using descriptive statistics, where an average pH of 7 was obtained, ejaculate volume 0,3 ml, ejaculate concentration $14,6 \times 10^6$ sperm / ejaculate, motility of 70% and dead sperm of 96 %, This last result is due to the fact that the adequate proportion of eosin / semen cannot be standardized to perform the staining and thus determine the percentage of living and dead sperm.

There's not adjacent reactions or harm of any kind were observed in animals subjected to the electroejaculation technique.

GLOSARIO

ELECTROEYACULACIÓN: aplicación de un estímulo eléctrico a nivel de la próstata, se utiliza un electrodo que se introduce a través del ano para estimular la eyaculación.

ELECTRODO: permite el paso de la energía eléctrica para provocar estímulos, ocasionando la eyaculación del animal.

EYACULACIÓN: reflejo en el que se contraen y vacían el epidídimo, la uretra y las glándulas accesorias del macho.

ESTIMULO: es una señal externa o interna capaz de causar una reacción en una célula u organismo.

ESPERMATOZOIDE: es una célula masculina de forma alargada que consta de una cabeza aplanada que contiene el núcleo, una cola que contiene el aparato necesario para la motilidad celular.

ESPERMOGRAMA: es un examen de laboratorio que consiste en la evaluación macroscópica y microscópica del semen, es esencial en la valoración de la infertilidad para el estudio de las enfermedades genitales masculinas y de otras patologías.

INTRODUCCIÓN

Luis Aliaga, et al.,¹ Señalan que el cuy con nombre científico *Cavia porcellus* se produce en varios países sur americanos y del Caribe, persiguiendo el objetivo de producir carne de calidad para consumo humano. Lilia Chauca² sostiene que el cuy es una especie de ciclo reproductivo corto, las hembras bajo condiciones normales de manejo, pueden presentar el primer celo entre los 55 y los 70 días dependiendo de la alimentación recibida, el peso corporal es un parámetro más constante que la edad, la duración del ciclo estral es de 16,4 días con un promedio de ovulación de 3,14 óvulos por ciclo, en machos la monta se inicia a los 3 o 4 meses, a esta edad el reproductor se ha desarrollado no sólo en tamaño sino en madurez sexual. Su peso es superior a 1,1 kg y esta característica le permite tener dominio sobre el grupo. Por otra parte, el inicio de la monta se debe hacer siempre con machos probados, gracias a esta práctica se mejora la eficiencia reproductiva, siendo de vital importancia factores como la fertilidad del macho, fertilidad de la hembra, detección de celo e implementación eficiente de biotecnologías reproductivas como la inseminación artificial (IA), inseminación intrauterina (IAIU), transferencia de embriones (TE), fertilización in vitro (FIV).

Uno de los principales factores relacionados con la fertilidad es la producción espermática, que se valora mediante el espermograma. El mismo consiste en la evaluación macroscópica y microscópica del semen, siendo objeto de continua preocupación la escasa investigación en la valoración espermática del cuy por parte de profesionales del sector pecuario y por los criadores de la especie.

Aleuy citado por Kathy Pinduisaca expresa que “la obtención de semen en cuyes machos es difícil considerando que es una especie con temperamento nervioso y poco adaptable para el uso de instrumentos como la vagina artificial por lo que es necesario utilizar técnicas alternativas como la electroeyaculación”³.

¹ ALIAGA, et al. Producción de cuyes. 1 ed. Lima-Perú: fondo editorial de la Universidad católica Sedes Sapientiae. 2009, p 25. [Consultado: 24 de febrero de 2020]. Disponible en la biblioteca Alberto Quijano Universidad de Nariño

² CHAUCA, Lilia. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*) [en línea]. En: Instituto Nacional de Investigación Agraria. La Molina 1997, p 35. [Consultado: 27 de julio de 2020]. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/3/W6562S/w6562s01.html>

³ PINDUISACA, Kathy. Colecta y evaluación de semen de cuyes (*Cavia porcellus*), extraído por la técnica de electro eyaculación [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de médico veterinario zootecnista. Centro Experimental Uyumbicho, Universidad central del ecuador, facultad de medicina veterinaria y zootecnia. 2018, p 2. [Consultado: 24 de febrero de 2020].

Disponible en Internet:
https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15292/1/TUCE00140702018.pdf&ved=2ahUKEwj_q73iYPIAhWK2FkKHc9dDVwQFjAAegQIBxAC&usg=AOvVaw0odurEt0laokfmV62gp2BL

Gómez citado por Sheyla Aragón⁴ explica que la electroeyaculación es un método exitoso en pequeños mamíferos y es ampliamente utilizado en bovinos y en pequeños rumiantes, este proceso consiste en aplicar estímulos eléctricos de bajo voltaje para activar los centros nerviosos que intervienen en el proceso de la eyaculación. Wilder Quispe⁵ describe una investigación en la cual se diseñó un electroeyaculador con controles para la selección y ajuste de los estímulos eléctricos y en donde el potencial de ajuste otorga versatilidad al electroeyaculador para su uso experimental o de rutina en varias especies usándolo con éxito en la eyaculación de carneros, toros, verracos, perros y zorros.

De igual manera en el Departamento de Nariño Carmelina García y Jesús Moncayo⁶ en 1997 diseñaron un electroeyaculador para inducir la eyaculación de semen en cuyes con el objetivo de evaluar diferentes diluyentes para su conservación, mas no existe un protocolo de extracción y valoración de espermatozoides eficiente para esta especie, por tal motivo en esta investigación se utilizó la técnica de electroeyaculación y se creó un protocolo para valorar algunas características macroscópicas y microscópicas del semen del cuy.

⁴ARAGON, Sheyla. Características macroscópicas, microscópicas, estimación de parámetros de motilidad y determinación de subpoblaciones espermáticas en semen de cuy [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de ingeniero zootecnista. Cusco La Raya, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, facultad de Ciencias Agrarias. 2019, p 1. [Consultado: 24 de febrero de 2020].

Disponible en Internet: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/UNSAAC/4280>

⁵QUISPE, Wilder. Características espermáticas y calidad del semen de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*) [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de doctor en ciencias. Universidad nacional de Cajamarca escuela de posgrado. Perú 2018, p 2. [Consultado: 12 de septiembre de 2019]. Disponible en Internet:

https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/2132/CARACTER%25C3%258DSTICAS%2520ESPERM%25C3%2581TICAS%2520Y%2520CALIDAD%2520DEL%2520SEMEN%2520DE%2520DOS%2520RAZAS%2520DE%2520CUI%2520YES%2520%2528Cavia%2520porcellus%2529%252C%2520EN%2520EL%2520V.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy&ved=2ahUKEwiH_P6xmZTpAhWDI-AKHScKASgQFjABegQIBxAH&usg=AOvVaw2rhHUe_uZ0kWD7wzGXZmm4

⁶GARCÍA, Carmelina y MONCAYO, Jesús. Crio conservación de semen e inseminación artificial en cuyes (*Cavia porcellus*). Trabajo de grado para obtener el título de zootecnista. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa zootecnia. Pasto 1997, p. 10.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

En la producción cuyícola los machos adultos pueden ser sometidos a sistemas de apareamiento donde la densidad manejada se puede dar entre 5 a 10 hembras por macho, esta práctica generalmente se realiza con machos no valorados reproductivamente, en estos sistemas no se tiene en cuenta una valoración espermática previa por lo que se coloca al macho teniendo en cuenta únicamente su peso, edad y su fenotipo, en otras palabras se tiene únicamente en cuenta una valoración física de estos individuos; este tipo de prácticas no son muy eficientes puesto que se hace una selección subjetiva sin conocer una valoración de la capacidad fecundante del semen de dicho animal seleccionado.

Por otra parte Luis Aliaga, et al.,⁷ señalan que la producción de cuyes en Colombia no solo es de autoconsumo sino también de comercialización, desde el punto de vista de la investigación y tecnología generada en instituciones de educación superior, se reconoce el trabajo de investigación de la Universidad de Nariño en la especie, en aspectos de mejoramiento genético, evaluación de diluyentes para la crio-conservación de semen de cuy, pese a estas investigaciones actualmente la implementación de biotecnologías reproductivas y la ejecución de diferentes métodos de colecta de semen en la producción cuyícola del departamento de Nariño es nula.

Varela, et al., citados por Kathy Pinduisaca explican “La colecta de semen, representa un avance para el desarrollo de técnicas de reproducción asistida, consecuente mejoramiento y conservación de recursos genéticos, para ello la selección del método de extracción de semen depende de la anatomía y el comportamiento sexual de los reproductores machos de las diversas especies animales”⁸. Para la implementación de estos procesos se hace necesario tener en cuenta un concepto expuesto por Javier López⁹, quien indica que la colecta del semen constituye una base preliminar de la fecundación artificial, por consecuencia la recolección del semen ha sido objeto de constantes estudios por parte de los investigadores, con el fin de elaborar instrumentos cada vez más adecuados y de asegurar la obtención de la masa total del eyaculado sin alterar sus condiciones de pureza e integridad, así como conservar sus propiedades biológicas, sin crearle ningún tipo de daño al macho. Son varios los métodos que

⁷ALIAGA, et al. Op. cit., p. 37.

⁸PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 2.

⁹LÓPEZ, Javier. Tecnologías y biotecnologías de la reproducción colecta y crio-preservación de semen [en línea]. Nicaragua 2016, p 37- 40. [Consultado: 5 de septiembre de 2019]. Disponible en Internet:

https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spzatt/Reproduccion_Animal.pdf

se han ideado para la recolección del esperma, dentro de los más comunes y estudiados se encuentran la vagina artificial y la técnica de electroeyaculación.

Lo anterior conlleva a plantear la siguiente pregunta de investigación ¿Es posible emplear la técnica de electroeyaculación para evaluar las características macroscópicas y microscópicas del semen de cuyes mejorados (*Cavia porcellus*) de 90 días de edad?

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Llevar a cabo este tipo de investigaciones es muy importante para el aprovechamiento de las características genéticas del cuy en Nariño, en donde se observa un carente interés en investigaciones en el área de la reproducción y de mejoramiento genético, de ahí, que no haya información clara acerca de los métodos de extracción de semen, no existe un protocolo de extracción y análisis de muestras espermáticas que permitan verificar la calidad seminal en cuyes;

Carlos Gómez¹⁰ manifiesta que la recolección del material espermático juega un papel importante en el campo de las ciencias pecuarias ya que nos brinda un sin número de ventajas en la producción animal a mediana y a gran escala; entre las cuales se puede destacar un fácil manejo y transporte del semen, efectiva preñez en la hembra, reducción de machos en el plantel, prevención y control de enfermedades, uso de machos incapaces de realizar la monta, los cuales tienen buena genética y sufrieron algún tipo de trauma, aportar con nuevas investigaciones biotecnológicas a profesionales y criadores de la especie y contribuir con ellos para mejorar los parámetros productivos y reproductivos en el plantel cuyícola.

En Colombia no existe un protocolo de valoración espermática del cuy (*Cavia porcellus*) que permita predecir la fertilidad potencial de una muestra de semen. Por tal motivo es necesario empezar a integrar un análisis de diferentes características macro y microscópicas que informen sobre la integridad y funcionalidad de los espermatozoides de esta especie animal.

Wilder Quispe¹¹ expone que el estudio de características del semen como: motilidad, concentración, viabilidad y estado del acrosoma o las morfo-anomalías permite evaluar todas las características funcionales espermáticas, aunque al combinar varias pruebas “in vitro” se puede estudiar con mayor amplitud y precisión la viabilidad espermática sobreestimando o subestimando así el potencial fecundante de una muestra; por consiguiente, para integrar dichas características, hacer de estos análisis algo eficiente y de fácil manejo para los

¹⁰GÓMEZ, Carlos. Evaluación de la efectividad de un electro-eyaculador experimental comparado a uno de marca comercial en ovinos [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de médico veterinario y zootecnista. Universidad central del Ecuador. Quito 2013, p 14. [Consultado: 12 de septiembre de 2019]. Disponible en internet: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/4292/1/T-UCE-0014-49.pdf>

¹¹QUISPE, Wilder. Op.cit. p., 40.

investigadores y productores, se creó un protocolo de valoración espermática sencilla que permitió conocer la capacidad fecundante del eyaculado.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar las características macro y microscópicas de semen de cuyes mejorados (*Cavia porcellus*) de 90 días de edad

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diseñar un electroeyaculador para inducir la eyaculación en cuyes (*Cavia porcellus*)
- Establecer un protocolo para el manejo del electroeyaculador en el proceso de la extracción de semen de cuy (*Cavia porcellus*)
- Implementar un protocolo para evaluar las características macro y microscópicas del semen de cuyes mejorados de 90 días de edad
- Extraer el semen de cuyes (*Cavia porcellus*) de 90 días de edad con el protocolo estandarizado

4. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

4.1 GENERALIDADES DE LA PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN DE CUYES

Luis Aliaga, et al.,¹² describen que el cuy domestico pertenece a la subfamilia Caviidae, esta familia se divide en cuatro géneros: Galea, Microcavia, Kerodon y Cavia, la clasificación taxonómica se muestra en el tabla 1.

Tabla 1. Clasificación taxonómica cuyes

Reino	Animal
Sub-reino	Metazooario
Tipo	Cordado
Sub-tipo	Vertebrado
Clase	Mamífero (Mammalia)
Sub-clase	Placentario
Orden	Roedor (Rodentia)
Sub-orden	Hystricomorpha
Familia	Caviidae
Genero	Cavia
Especie	<i>Cavia porcellus</i>

Fuente: GAVILANEZ, Frank. Análisis productivo de las progenies F2 y F3 de cuatro cruzamientos entre grupos raciales de cuyes (*Cavia porcellus*), macabeo y peruano mejorado. Quito- Ecuador [en línea] p. 3. Citado el 23 de julio de 2020. Disponible en internet: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/2861/1/T-UC-0004-93.pdf>

Cadena López mencionado por Mauricio Quishpe y Carolina Brahona¹³ reportan las siguientes constantes fisiológicas:

- Temperatura rectal: de 38-39° C.
- Respiración promedio: 80-92 respiraciones/minuto.

Mínimo: 69

Máximo: 104

¹²ALIAGA, et al. Op. cit., p. 50-51.

¹³QUISHPE, Mauricio y BRAHONA, Carolina. Inducción de súper ovulación de cobayas primerizas, usando gonadotropina sérica con tres dosis diferentes. [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de médico veterinario zootecnista, 2012.p. 120. [Consultado: 20 de septiembre de 2019]. Disponible en internet: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/653>

- Ritmo cardíaco promedio: 230 a 280 pulsaciones por minuto.

Mínimo: 225 pulsaciones por minuto

Máximo: 400 pulsaciones por minuto

- Numero de cromosomas: 64
- Tiempo de vida promedio: 4 a 6 años
- Peso del adulto: Macho: 800-1500 g

Lilia Chauca¹⁴ señala que el cuy (cobayo o curí) es un mamífero roedor originario de la zona andina de Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú; este constituye un producto alimenticio de alto valor nutricional que contribuye a la seguridad alimentaria de la población rural, donde la producción del cuy tiene varias ventajas, entre las cuales se incluyen su calidad de especie herbívora, su ciclo reproductivo corto, la facilidad de adaptación a diferentes ecosistemas y su alimentación versátil que utiliza insumos no competitivos con la alimentación de otros monogástricos. Otra de las ventajas es que el cuy mejorado se caracteriza por ser más precoz, además de tener una buena conversión alimenticia; por lo general son animales que tienen un promedio de 2,3-3,2 crías, tienen un peso promedio al nacimiento de 148,4 gramos y alcanzan 1091,3 gramos a las 13 semanas.

Barrera citado por Alex Loor describen que “la pubertad es la época en que el cuy se encuentra en posibilidades de reproducirse; en los machos se presenta a partir de los 40 a 70 días de edad”¹⁵, de igual manera Alberto Caycedo sostiene que “la pubertad en el macho se presenta más tardíamente que en las hembras, entre 50 y 70 días y es la edad en la que las gónadas o testículos empiezan a producir los espermatozoides y las hormonas sexuales masculinas”¹⁶ aunque, Delphine, et al., citado por Kathy Pinduisaca afirman que “estos ya evidencian el comportamiento

¹⁴CHAUCA, Lilia. Op.cit., p. 40.

¹⁵LOOR, Alex. Caracterización morfológica del espermatozoide del cobayo (*Cavia porcellus*) en el Cantón Latacunga [en línea]. Tesis previa a la obtención del título de médico veterinario y zootecnista. Universidad técnica de Cotopaxi unidad académica de ciencias agropecuarias y recursos naturales carrera de medicina veterinaria. Latacunga-Ecuador 2015, p. 19. [Consultado: 27 de Julio de 2020].

Disponible

en

Internet:

http://tarwi.lamolina.edu.pe/~emellisho/Reproduccion_archivos/Practica%201-aparato%20macho%20hembra.pdf.

¹⁶ CAYCEDO, Vallejo. Experiencias investigativas en la producción de cuyes contribución en el desarrollo técnico de la explotación. 1 ed. Pasto-Colombia: año 2000. p. 79-80 páginas. [Consultado: 19 de septiembre de 2019]. Disponible en: biblioteca Alberto Quijano Universidad de Nariño

de la monta cuando apenas tienen un mes de edad y sus primeras eyaculaciones aparecen a los dos meses”¹⁷.

Actualmente encontramos líneas mejoradas como la andina que es el típico cuy productor de carne, ya que posee una buena longitud, profundidad y mayor desarrollo muscular. Según la conformación se dice que son animales Tipo A; Son animales que tienen un promedio de 2,3-3,2 crías, tienen un peso promedio al nacimiento de 148,4 gramos y alcanzan 1091,3 gramos a las 13 semanas; Jerry Vivas señala que “los cuyes criollos o tipo B: Corresponde a los cuyes de forma angulosa cuyo cuerpo es poco profundo y de desarrollo muscular escaso, la cabeza es triangular y alargada con una mayor variabilidad en el tamaño de las orejas, además son de temperamento muy nervioso lo que hace dificultoso su manejo”¹⁸.

4.1.1 Sistemas de apareamiento en cuyes. Vergara citado por Alex Loor Cedeño¹⁹ manifiesta “la edad del empadre está relacionada con el peso y la calidad genética del cuy, la cual influye en la determinación de la edad óptima de apareamiento”; así mismo Luis Aliaga, et al., sostiene que “la edad del cuy hembra es un factor influyente en la habilidad materna, la mortalidad de crías y el destete, estas pueden presentar celos a la edad de 25 y 30 días, sin embargo no es suficiente que a esta edad las hembras sean fértiles, sino que también deben tener un peso vivo que sobrepase los 600 g, pues pesos inferiores se ven reflejados en la poca habilidad materna, baja productividad al parto, baja ganancia de peso en las crías; por otro lado es preferible que los machos primerizos tengan una edad que sobrepase los 20 o 30 días de edad con respecto a las hembras”.

Mientras tanto Lilia Chauca explica “que el empadre en machos debe iniciarse a los cuatro meses, es aquí donde este no solo se han desarrollado en tamaño sino también han alcanzado la madurez sexual”²⁰.

Luis Aliaga, et al.,²¹ señalan que el cuy es un animal poliestral todo el año, los celos se presentan cada dieciséis días con una periodicidad bastante homogénea, del 64 al 78% de las hembras que paren conciben en el llamado celo postparto. Cuando esto sucede, hembras en plena lactación ya están esperando una nueva camada.

El número de crías por parto depende mucho del manejo y sobre todo de la buena alimentación que recibe el cuy. Como se trata de una especie de intervalo de

¹⁷ PINDUISACA, Kathy. Op.cit., p. 13.

¹⁸VIVAS, Jerry. Especies Alternativas: Manual de Crianza de Cobayos (*Cavia porcellus*) [en línea]. En: Universidad Nacional Agraria, Managua, NI. Managua. 2009, p. 6. [Consultado: 13 de septiembre de 2019]. Disponible en internet: <http://repositorio.una.edu.ni/2472/1/RENLO1V856.pdf>

¹⁹LOOR, Alex. Op. cit., p. 3.

²⁰CHAUCA, Lilia. Op.cit., p. 45.

²¹ALIAGA, et al. Op. cit., p. 210.

generación corta (0,5) años y de una actividad sexual intensa, la población de animales puede incrementarse rápidamente. Este desarrollo poblacional depende mucho del sistema de apareamiento que se aplique.

De acuerdo con Alberto Caycedo²² el sistema de apareamiento intensivo o continuo es el más utilizado, en este tipo de sistemas se manejan de seis a diez hembras por un macho en la misma jaula o poza los cuales permanecen juntos durante el periodo reproductivo, este sistema se caracteriza por aprovechar el celo post-parto, el parto se produce en la misma jaula, la hembra puede tener de cuatro a cinco partos por año con un intervalo de setenta días, una ventaja en este tipo de sistemas es la reducción de espacios y la desventaja que se presenta es el desgaste de la hembra.

Otro de los sistemas es el semi-intensivo, en este sistema las hembras después de cada parto tienen un descanso sexual, este se hace fuera de las pozas de empadre hasta que ocurra el destete de las crías, terminado este tiempo las madres vuelven a la jaula para que se efectúe la monta, como ventaja este sistema permite aumentar la vida reproductiva de la hembra y como desventaja solo se obtiene tres partos por año.

También se maneja el empadre mixto o más conocido como sistema intermedio el cual reúne la bondad de los dos métodos anteriormente mencionados, en este, se aprovecha el celo post parto de las hembras el cual ocurre de tres a cuatro horas después del parto en donde se espera la hembra haya copulado con el macho, aquí se separan a las hembras a maternidades individuales de diez a doce horas, y regresan nuevamente con los gazapos, la ventaja que ofrece este sistema es disminuir la mortalidad de los recién nacidos e incrementar el peso de las crías al destete.

Por otra parte Luis Aliaga, et al., mencionan a un sistema de apareamiento controlado, que “consiste en programar cuatro ciclos reproductivos de noventa días cada uno cada año, cada empadre tiene una duración de treinta y cuatro días, de manera que permita a cada hembra estar en contacto con el macho por lo menos durante dos ciclos estrales lo que significa la oportunidad de dos copulas con el macho; si la hembra no ha quedado preñada en el primer servicio tiene la oportunidad de quedar preñada en el segundo”²³.

4.2 ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DEL CUY MACHO

El sistema reproductor del cuy se conforma de las siguientes partes: los testículos, túbulos seminíferos, vías espermáticas, túbulos rectos, rete testis, epidídimo,

²²CAYCEDO, Alberto. Op cit., p. 51.

²³ALIAGA, et al. Op. cit., p. 210-212.

conductos deferentes, vesículas seminales, próstata, glándula bulbo uretral, uretra y pene.

4.2.1 Anatomía reproductiva del cuy macho. Bonnadona citado por Aliaga, et al., realizan una pequeña descripción del aparato reproductor del cuy macho, en donde:

Describen a los testículos como los responsables de la producción de los espermatozoides y de la secreción de andrógenos, particularmente testosterona, la cual interviene en la diferenciación sexual, el crecimiento y función de los órganos sexuales del macho y el desarrollo de los órganos sexuales secundarios. Estos últimos están compuestos por la vía seminal que constituye la vía natural de los espermatozoides para la maduración y transporte, además, están compuestos por un grupo de glándulas accesorias (por medio de sus secreciones forman el plasma seminal) y por los genitales externos, que permiten el apareamiento con la hembra durante el estro²⁴, a continuación se describen algunas partes del aparato reproductor del macho:

- **Testículos:** Luis Aliaga, et al.,²⁵ describen la ubicación de los testículos a los lados de la vejiga urinaria, estos son abdominales y de forma ovoide; descansan en las bolsas separadas a cada lado del pene y ligeramente debajo del ano, asimismo carecen de bolsa escrotal, estos miden en promedio 22 mm de largo y 18 mm de ancho, el peso de los testículos varía entre los 2,5 y 3 gramos, su longitud se encuentra entre 12 a 13 mm, 10 a 12 mm de ancho y 8 mm de espesor. Una característica que se encuentra es que los vasos deferentes se encuentran fuera de los testículos y convergen formando el primer segmento de la cabeza del epidídimo, el musculo cremáster está bien desarrollado y permite retraer los testículos dentro del abdomen.

Desde el punto de vista histológico Daniela Tapia y Diego Tello²⁶ puntualizan que los testículos tienen tres compartimentos uno extra-tubular conocido como túnica albugínea que contiene las células de Leydig, estas producen testosterona, el segundo compartimento conocido como peritubular que está conformado por células mioideas, fibroblastos y fibras de colágeno, que junto con el compartimento extratubular constituyen la barrera hematotesticular, finalmente se encuentra el

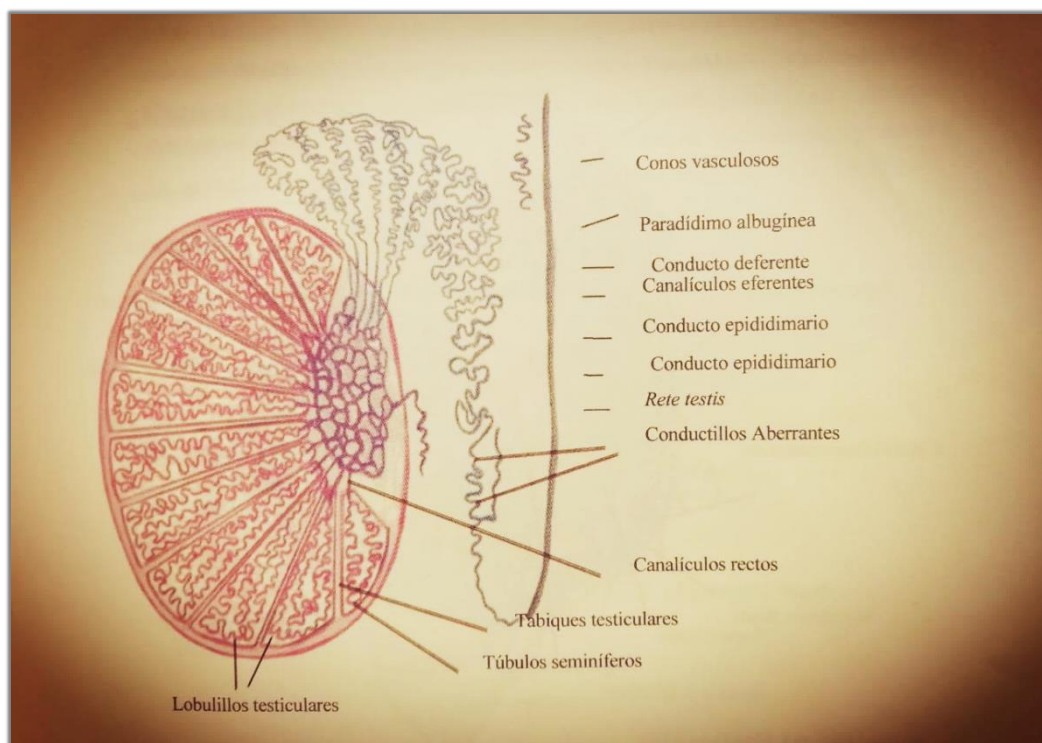
²⁴ALIAGA, et al. Op. cit., p.143.

²⁵Ibid., p. 145-146.

²⁶TAPIA, Diego y TELLO, Daniela. Evaluación cuali-cuantitativa de espermatozoides de la cola del epidídimo de cuyes (*cavia porcellus*) criollos y mejorados en dos edades reproductivas [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de médico veterinario y zootecnista. Universidad central del Ecuador, facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Quito 2018, p. 20-28. [consultado: 5 de septiembre de 2019]. Disponible en Internet: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/25404/1/TESIS%20Tapia-Tello.pdf>

compartimento intratubular (túbulos seminíferos) que incluyen las células de Serttholi, quienes brindan nutrientes y soporte estructural a las células durante el proceso de espermatogénesis; en la figura 1 se observa las partes del corte transversal del testículo.

Figura 1. Corte transversal del testículo

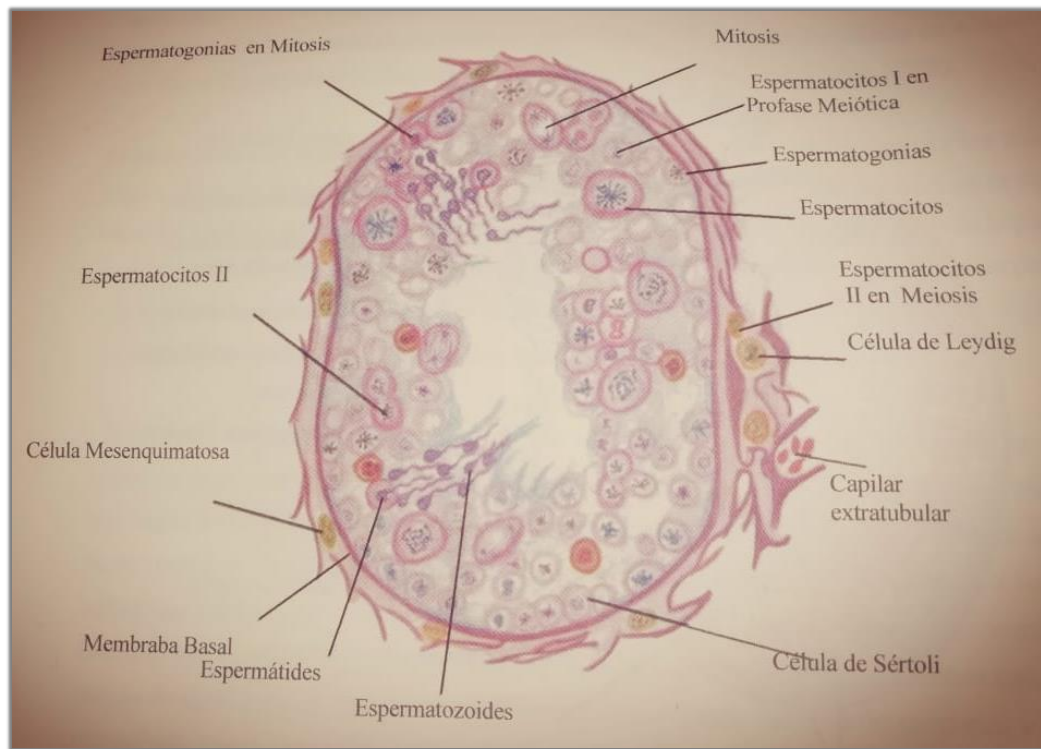


Fuente: Producción de cuyes, Luis aliaga Rodríguez, Roberto Moncayo Gallianai, Elizabeth Rico Numbela, Alberto Caycedo Vallejo, 2009, citado el 12 de septiembre de 2019, fondo editorial UCSS, primera edición página 147.

- **Túbulos seminíferos:** Barrios, et al., citados por Kathy Pinduisaca mencionan que “los túbulos seminíferos representan aproximadamente el 85 % del volumen de los testículos, cada uno está limitado por una base de membrana y posee una sola capa de células de Serttholi intercaladas, con células productoras de esperma en varias etapas de desarrollo y células de Leydig que se disponen en el tejido conectivo existente entre los túbulos seminíferos”²⁷, en la figura 2 se muestra un corte transversal del túbulo seminífero del cuy.

²⁷PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 8.

Figura 2. Corte transversal del túbulo seminífero



Fuente: Producción de cuyes, Luis aliaga Rodríguez, Roberto Moncayo Gallianai, Elizabeth Rico Numbela, Alberto Caycedo Vallejo, 2009, citado el 16 de septiembre de 2019, fondo editorial UCSS, primera edición página 148.

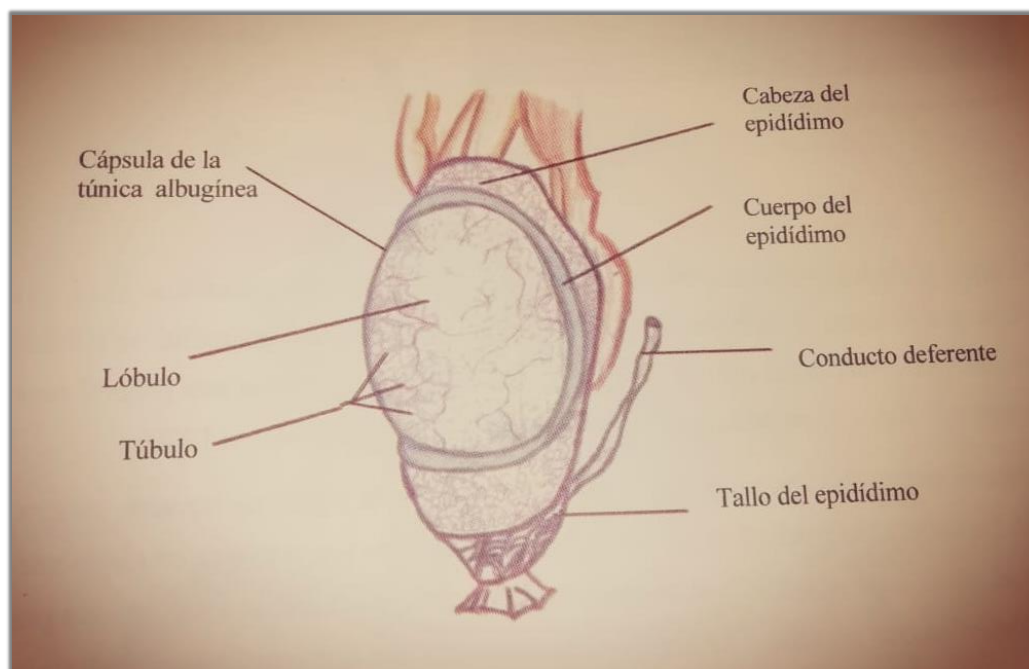
- **Vías espermáticas:** comprende desde los conductos seminíferos hasta la uretra en donde se encuentran: túbulos rectos, rete testis, epidídimo, conductos eferentes, conductos deferentes y los conductos eyaculadores.
- **Túbulos rectos:** Aliaga, et al.,²⁸ describen a los túbulos rectos como unos conductos excretores de los túbulos seminíferos, los cuales proceden de un mismo lobulillo y ocupan una posición superior, se pueden encontrar túbulos rectos como lobulillos testiculares.
- **Rete testis:** además mencionan a la rete testis²⁹ Como un núcleo prismático triangular en forma de cuña, en el que se pueden diferenciar dos regiones: una superior, ricamente vascularizada y otra inferior, que comprenden la mayor parte de la rete testis, circundada por abundantes vasos espermáticos. Por medio de técnicas especiales se ha logrado caracterizar la rete testis para extraer

²⁸ALIAGA, et al. Op. cit., p. 148.

²⁹Ibíd., p. 148.

y analizar su secreción; no se ha detectado glucosa ni fructosa, pero si grandes concentraciones de ácido glutámico y aspártico. Esta secreción posee también elevadas concentraciones de testosterona, similares a las encontradas en la linfa de los testículos, la figura 3 muestra el aspecto ventral de la rete testis izquierda.

Figura 3. Aspecto ventral de la rete testis izquierda



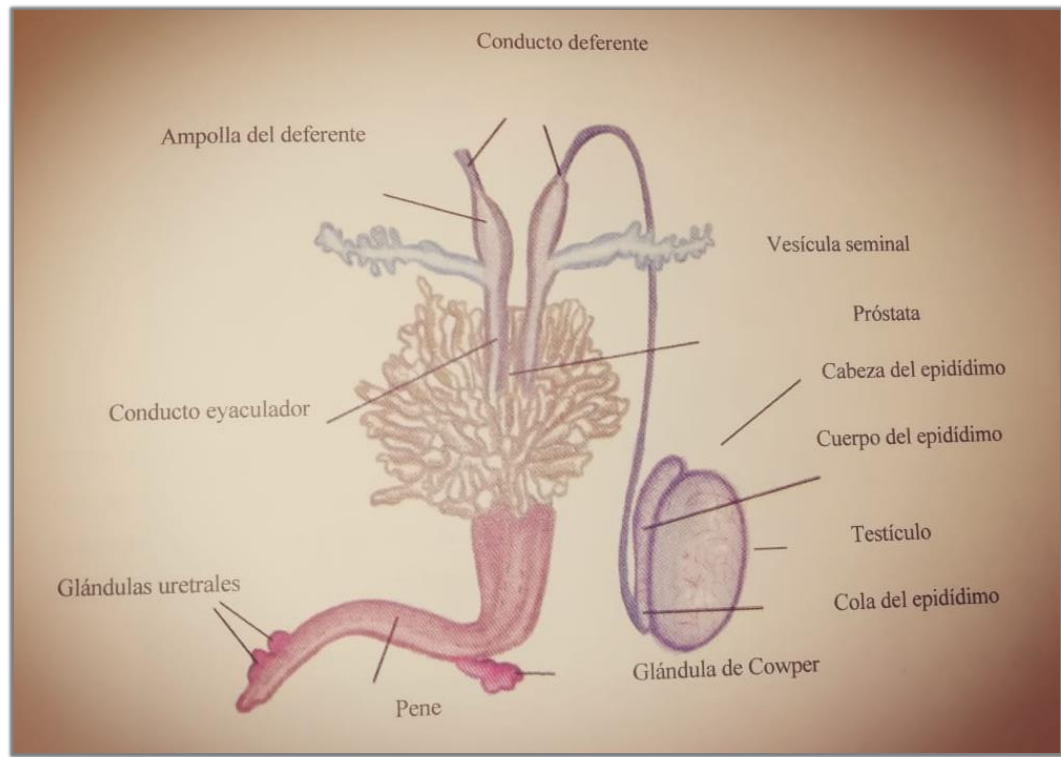
Fuente: Producción de cuyes, Luis aliaga Rodríguez, Roberto Moncayo Gallianai, Elizabeth Rico Numbela, Alberto Caycedo Vallejo, 2009, citado el 26 de septiembre de 2019, fondo editorial UCSS, primera edición página 149.

- **Epidídimo:** Daniela Tapia y Diego Tello³⁰ describen las siguientes partes y funciones del epidídimo; es un conducto formado por cabeza, cuerpo y cola; cuya función es el transporte, maduración y concentración de espermatozoides. De manera específica, en la cabeza ocurre la reabsorción de fluidos y solutos.

Los espermatozoides en esta primera región son infértiles. En el cuerpo del epidídimo ocurre la maduración espermática y en la cola se da el almacenamiento de los espermatozoides fértiles. La capacidad de almacenamiento del epidídimo es de 15-20 % de espermatozoides en la cabeza y cuerpo, mientras que el 80-85 % en la cola, la figura 4 indica las partes que conforman el epidídimo.

³⁰TAPIA, Daniela y TELLO, Diego. Op. cit., p. 29.

Figura 4. Partes del epidídimo



Fuente: Producción de cuyes, Luis aliaga Rodríguez, Roberto Moncayo Gallianai, Elizabeth Rico Numbela, Alberto Caycedo Vallejo, 2009, citado el 26 de septiembre de 2019, fondo editorial UCSS, primera edición página 151.

- **Vesículas seminales:** Alex Loor indica que las vesículas seminales “Están localizadas en la cara dorsal del cuello de la vejiga urinaria, consta de los lóbulos laterales y de un istmo que lo conecta. Se encuentra a cada lado de la parte posterior de la cara dorsal de la vejiga”³¹, Luis Aliaga, et al³²., relacionan a las dos porciones que constituyen las vesículas seminales por su forma con los cuernos uterinos, en donde la disposición de estos cuernos es sinuosa y encorvada hacia su propio eje; están sostenidos por una membrana fibrosa vascularizada, con una curvatura mayor en dirección posterior-lateral y una curvatura menor anterior-lateral. Sus porciones extremas terminan en el fondo del saco ciego que son los puntos más delgados, las porciones más anchas corresponden al lugar inmediato a los conductos de desembocadura de los conductos deferentes en la uretra.
- **Próstata:** Bernabé citado por Alex Loor expresan que “la próstata es de forma lobular, presenta dos zonas: una porción externa o compacta, que está

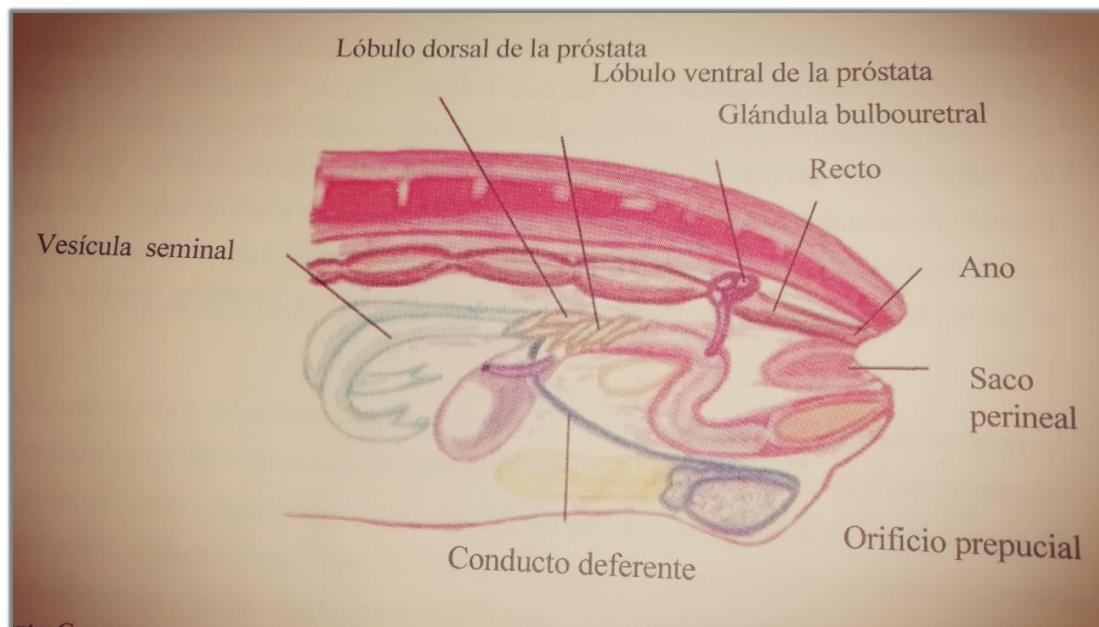
³¹LOOR, Alex. Op. cit., p. 6.

³²ALIAGA, et al. Op. cit., p. 153.

rodeando a la uretra prostática, y una porción interna o diseminada, localizada en la propia submucosa de la uretra prostática. Presenta una cápsula de tejido conectivo denso e irregular que contiene muchas fibras musculares lisas. Los conductos presentan un epitelio cilíndrico que pasa a ser estratificado cilíndrico o de transición en las porciones terminales”³³.

La próstata presenta dos lóbulos pegados a las partes donde terminan las vesículas seminales, Luis Aliaga, et al.,³⁴ explican las medidas de los lóbulos en la próstata, en donde cada uno mide aproximadamente 19 mm de largo y 9 mm de ancho, la forma de ellos es piramidal y presenta una capsula fibrosa que encierra una estructura musculo-glandular multilobulada, estos lóbulos están unidos por un istmo ubicado en la parte dorsal del punto de unión y desembocadura de las vesículas seminales, en la figura 5 se observan los lóbulos ventral y dorsal de la próstata

Figura 5. Lóbulos ventral y dorsal de la próstata



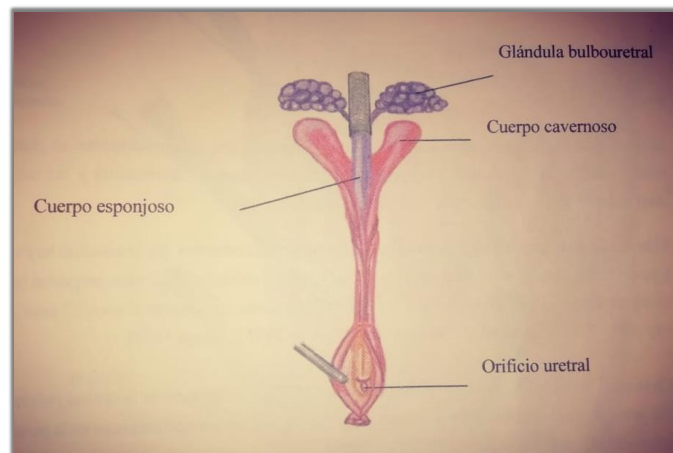
Fuente: Producción de cuyes, Luis aliaga Rodríguez, Roberto Moncayo Gallianai, Elizabeth Rico Numbela, Alberto Caycedo Vallejo, 2009, citado el 26 de septiembre de 2019, fondo editorial UCSS, primera edición página 156.

³³LOOR, Alex. Op. cit., p. 6-7.

³⁴ALIAGA, et al. Op. cit., p. 155.

- **Glándula bulbo uretral:** Luis Aliaga, et al.,³⁵ justifican que es una glándula par de aspecto sacular, mide 8 mm de largo y 5 mm de ancho aproximadamente, está situada en el tercio posterior de la uretra y se compone de una capsula delgada y fibrosa que contiene el parénquima multilobular. Es de tipo tubo-alveolar y se sitúa a cada lado de la uretra pelviana, la secreción de las glándulas bulbo-uretrales es muy viscosa de aspecto vítreo y de naturaleza albuminoidea, y es vertida en la uretra en el momento en el que sobreviene la eyaculación, la figura 6 muestra las partes de la glándula bulbouretral.

Figura 6. Glándula bulbo uretral



Fuente: Producción de cuyes, Luis aliaga Rodríguez, Roberto Moncayo Gallianai, Elizabeth Rico Numbela, Alberto Caycedo Vallejo, 2009, citado el 27 de septiembre de 2019, fondo editorial UCSS, primera edición página 157.

- **Uretra:** según Daniela Tapia y Diego Tello³⁶ es un órgano que tiene como función eliminar la orina del sistema excretor y el esperma del aparato reproductor, la figura 7 muestra el aspecto ventral de la vejiga urinaria y uretra.
- **Pene:** según Quillahuaman citado por Daniela Tapia y Diego Tello “es el órgano copulador con 45 mm de longitud y 5 mm de diámetro, se caracteriza por poseer un hueso y glande”³⁷, Almeda citado por Alex loor³⁸ describen anatómicamente al pene con las siguientes partes: glande o extremo libre del pene, el cuerpo intermedio o la raíz que se localiza en la región del musculo bulbo cavernoso, en el arco isquiático de la pelvis, tiene como función depositar el eyaculado dentro del aparato reproductor de la hembra y expulsar la orina.

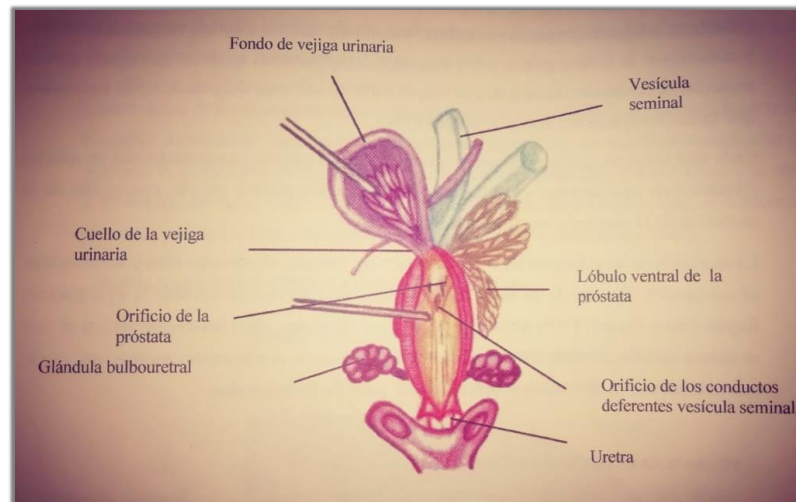
³⁵ALIAGA, et al. Op. cit., p. 156-157.

³⁶TAPIA, Daniela y TELLO, Diego. Op. cit., p. 119.

³⁷Ibid., p. 30.

³⁸LOOR, Op. cit., p. 69.

Figura 7. Aspecto ventral de la vejiga urinaria y uretra



Fuente: Producción de cuyes, Luis aliaga Rodríguez, Roberto Moncayo Gallianai, Elizabeth Rico Numbela, Alberto Caycedo Vallejo, 2009, citado el 26 de septiembre de 2019, fondo editorial UCSS, primera edición página 158.

Según Luis Aliaga, et al., el pene está constituido por:

Dos cuerpos cavernosos, ubicados lateralmente con relación a la uretra que se comunican entre sí ventral y dorsalmente. Están constituidos por el tejido colágeno, fuertemente vascularizado y de consistencia esponjosa; el pene está cubierto por el epitelio estratificado, y la capa más externa está formado por células cornificadas, así como las proyecciones o escamas que están constituidas por un epitelio grueso cornificado.

El prepucio o vaina está formado por una capa fibromuscular. El glande tiene forma de cono truncado y presenta en su porción ventral una hendidura, en cuyo centro se halla el meato urinario. La superficie del glande y parte de la porción media dorsal del pene por detrás del glande, está cubierta por pequeñas proyecciones papilares, de extremos agudos, orientadas en sentido posteroventral, dispuestas en hileras de cuatro a cada lado de la línea media del pene. Las hileras de papilas se dirigen en forma divergente, de la línea dorsal del pene hacia el glande.

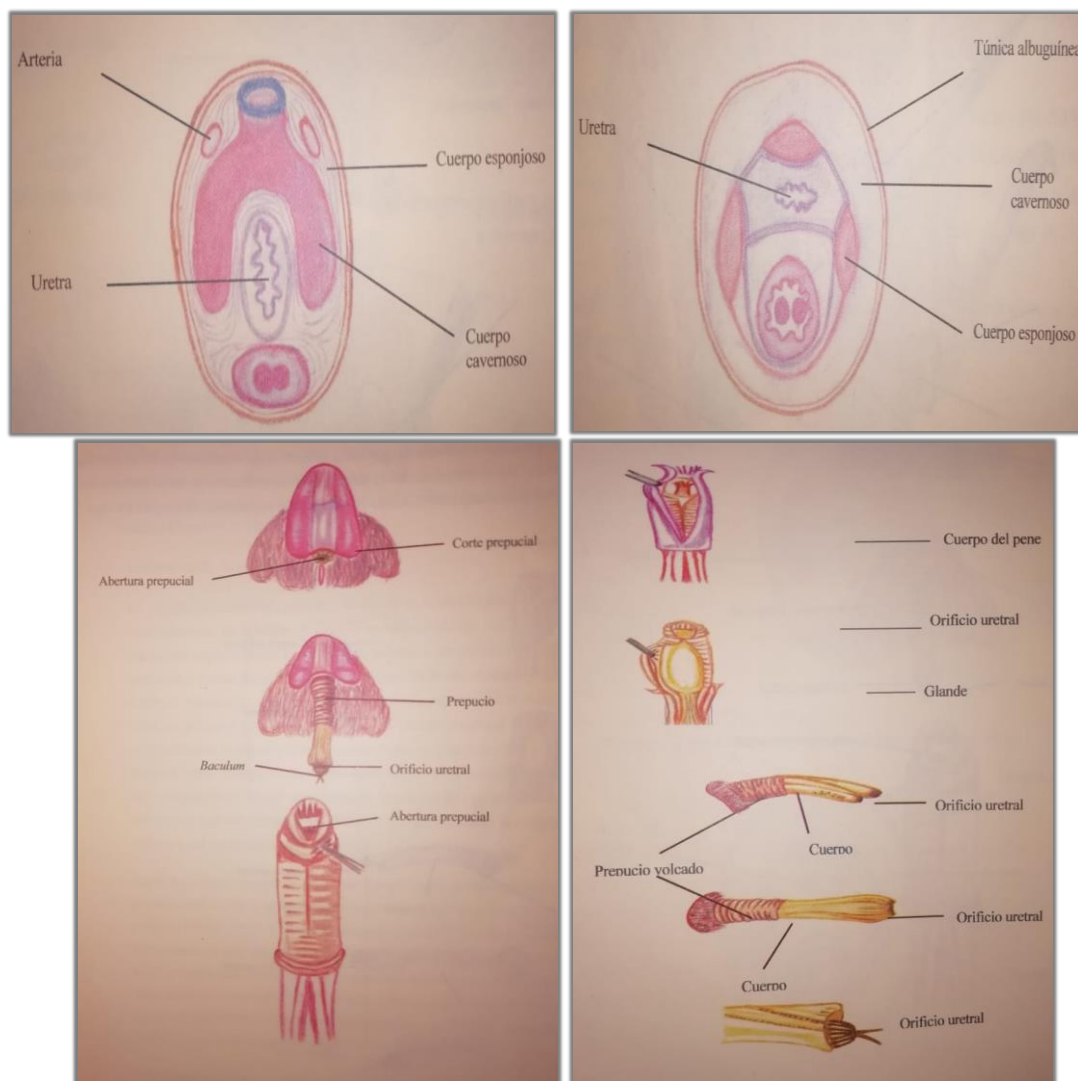
El glande se encuentra rodeado por formaciones espinosas aisladas o en grupos separados en la reflexión del prepucio. En la superficie interna se encuentran muchas formaciones espinosas pequeñas y dos grandes que miden de 3 a 5 mm de longitud, ubicadas al fondo del sáculo, la razón de estas estructuras es básicamente la fijación del pene y para efectos sensoriales estimulantes.

Por debajo del glande existe una especie de saculación en cuyo interior se encuentran dos prolongaciones a manera de garfios de consistencia dura,

cartilaginosa, queratinizada, que se proyectan hacia adelante con sus extremos curvados hacia arriba, estas estructuras favorecen al orgasmo de la hembra³⁹.

En la figura 8 se observa la sección sagital de la porción craneal y caudal del pene, así como la forma y partes del prepucio y el glande.

Figura 8. Sección sagital de la porción craneal y caudal del pene, forma y partes del prepucio y el glande



Fuente: Producción de cuyes, Luis aliaga Rodríguez, Roberto Moncayo Gallianai, Elizabeth Rico Numbela, Alberto Caycedo Vallejo, 2009, citado el 27 de septiembre de 2019, fondo editorial UCSS, primera edición página 160-162.

³⁹ALIAGA, et al. Op. cit., p. 160, 161.

4.2.2 Fisiología de la reproducción en cuyes machos

Kathy Pinduisaca⁴⁰ señala que el control neurológico de la eyaculación es complejo, para lo cual se requiere la relación coordinada de una serie de elementos de control de los receptores periféricos, vías aferentes-eferentes, núcleos medulares, control endocrino y regulación hipotálamo hipofisaria del testículo, además de esto el conocimiento de las particularidades del semen y sus características.

- **Receptores periféricos.** La eyaculación puede efectuarse de distintas maneras, incluyendo la estimulación táctil del glande y otras zonas erógenas, así como por la influencia de distintos estímulos corticales.
- **Vías aferentes y eferentes:** cuando se estimulan los receptores periféricos se inicia la conducción vía aferente a través del nervio pudiendo, las astas medulares hasta el tálamo y la corteza cerebral. Por las astas medulares antero laterales descienden las fibras eferentes hasta el centro simpático dorso-lumbar y el parasimpático, en ese momento el sistema nervioso simpático por medio del nervio hipogástrico se encarga de la contracción de la musculatura lisa de los órganos internos genitales y del cierre del esfínter externo e interno, de esta manera se logra regular la fase de emisión; el sistema nervioso parasimpático mediante el nervio pudendo interno, regula la fase de expulsión provocando contracciones eyaculatorias de los músculos isquiocavernoso y bulbo cavernoso, por otra parte contribuye a la relajación del esfínter externo.

También se produce el cierre completo del cuello de la vejiga para evitar la eyaculación retrograda; las señales centrales y las vías nerviosas al integrarse en el centro de la eyaculación de la medula espinal producen un reflejo eyaculatorio normal.

- **Núcleos medulares:** a nivel medular existen un grupo de conexiones interneuronales, estas conforman un núcleo que controlan los mecanismos neuronales responsables de generar la respuesta eyaculatoria y se encuentran localizados en la medula espinal lumbosacra.
- **Control endocrino de las funciones del macho:** las funciones reproductivas están reguladas por mecanismos neuroendocrinos que mantienen en equilibrio las funciones reproductivas tanto en el macho como en la hembra. La unidad hipotálamo-hipófisis del macho es responsable de la secreción de gonadotropinas, que a su vez regulan las actividades endocrinas y exocrinas del testículo, determinando mecanismos de retroalimentación. La principal diferencia entre los machos y hembras en el control de la actividad gonadal, es que la

⁴⁰PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 13-14.

producción de hormonas esteroideas después de la pubertad es constante en el macho, mientras que en la hembra es de forma cíclica.

- **Regulación hipotálamo-hipofisaria del testículo:** Arrondo citado por Kathy Pinduisaca describen que:

La función testicular está controlada por el eje hipotálamo-hipófisis-testículo. El hipotálamo controla la función testicular mediante la segregación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), que estimula el lóbulo anterior de la hipófisis (Adenohipófisis) para la producción de hormonas hipofisarias: Hormona luteinizante (LH) y Hormona folículo estimulante (FSH). La LH regula y estimula la biosíntesis de hormonas esteroideas específicamente la testosterona en las células de Leydig, localizadas en el intersticio testicular y la FSH estimula la espermatogénesis, actúa sobre las células de Sertoli, localizadas en los túbulos seminíferos⁴¹.

4.2.2.1 Descripción del semen. La academia Real española afirma que “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, 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”⁴².

4.2.2.2 Factores que afectan la calidad del semen. Avalos, et al., explican que:

La cantidad y la calidad del semen son características que pueden variar por factores como la edad, la temporada de reproducción, la temperatura ambiental, la condición corporal, el tamaño de los testículos o la raza. Para conocer la calidad seminal, las muestras deberán de ser obtenidas de forma cuidadosa y manejadas correctamente, evitando principalmente los choques térmicos, ya que en condiciones inadecuadas de manejo las características del semen pueden variar con facilidad. Con la evaluación seminal se pueden conocer las principales características como son: el volumen, la movilidad y la concentración, evaluaciones más detalladas deberían considerar la morfología y la proporción de espermatozoides vivos y muertos. Aunado a esto existen algunas técnicas como la congelación y el sexado de semen, son de gran ayuda para almacenar genes de individuos con alto valor por un periodo de tiempo indefinido y obtener ejemplares con fenotipos deseados en la producción de animales domésticos⁴³.

⁴¹PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 15.

⁴²RAE, Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. Vigésima segunda edición. 2001.

⁴³AVALOS, Alejandro, et al. Recolección y manipulación seminal in vitro. [en línea]. En: Universidad Autónoma Metropolitana, ciudad de México 2018, p 7. [Consultado: 27 de septiembre de 2019]. Disponible en internet:

En la tabla 2 se indica el volumen de eyaculado de diferentes especies de interés zootécnico.

Tabla 2. Volumen del eyaculado de diferentes especies

Especie	Volumen ml
Ratón	Menor de 0,1
Hámster	Menor de 0,1
Rata	0,1
Cobaya	0,15
Conejo	1,0
Gato	De 0,1 a 0,3
Perro	10,0
Oveja	1,0
Vaca	4,0
Cerdo	250
Hombre	15

Fuente: GARCÍA, Carmelina y MONCAYO, Jesús. Crio-conservación de semen e inseminación artificial en cuyes (*Cavia porcellus*). Pasto- Nariño: p. 23. Citado el 27 de septiembre de 2019

4.2.2.3 Espermatogénesis. Alexandra Alemany sostiene que:

La espermatogénesis es un proceso complejo que se puede separar en tres fases: proliferativa, meiótica y de diferenciación es decir la espermatogénesis se inicia mediante la proliferación por división mitótica de las espermatogonias, continúa con la división meiótica de los espermatoцитos y culmina en la producción de espermatozoides móviles gracias a toda una serie de procesos de maduración postmeióticos. La espermatogénesis tiene lugar en el interior de los túbulos seminíferos, estructuras altamente organizadas que contienen una diversidad de células que se hallan en diferentes fases del proceso meiótico⁴⁴, en la tabla 3 se describe la duración de la espermatogénesis en diferentes especies.

4.2.2.4 Espermatozoides. Wilder Quispe⁴⁵ explica que durante el proceso de espermatogénesis los espermatozoides se forman dentro de los túbulos seminíferos de los testículos; en estas estructuras se encuentra una serie

www.casadelibrosabiertos.uam.mx/contenido/contenido/Libroelectronico/recoleccion_manipulacion.pdf

⁴⁴ALEMANY, Alexandra. Estudio molecular de la meiosis en mamíferos. [en línea]. Tesis doctoral. En: Universidad de la Illes Balears, Palma de Mallorca 2017, p 9. [Consultado: 29 de julio de 2020]. Disponible en internet: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/458994/tesamas1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

⁴⁵QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 9-10.

compleja de células germinales en crecimiento, que finalmente forman los gametos masculinos altamente especializados conocidos como espermatozoides, que para Fawcett citado por Daniela Tapia y Diego Tello “en el caso de los mamíferos como el cobayo están estructuralmente conformados por dos partes principales, la cabeza y la cola”⁴⁶

Tabla 3. Duración de espermatogénesis

Especie	Espermatogénesis (días)	Ciclo del túbulo seminífero (días)	Profase de la primera meiosis (días)
Toro	60	13,5	18-19
carnero	49	10,4	15
Verraco	45	8,0-8,6	12,4
Conejo	42-52	10,7-11,2	16,1-16,5
Cuy	50	--	--
Ratón	34	8,6	12,7
Hombre	74	16	23,2

Fuente: ALIAGA, Rodríguez, et al. Producción de cuyes. 1 ed. Lima-Perú: fondo editorial de la Universidad católica Sedes Sapientiae. p. 188. Citado el 10 de octubre de 2019

Según Wilder Quispe⁴⁷ los espermatozoides ya formados son células alargadas que constan de una cabeza aplanada que contiene el núcleo y una cola que está constituida por un aparato necesario para la motilidad celular; la célula espermática está cubierta completamente 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 conocidas como: media, principal y terminal.

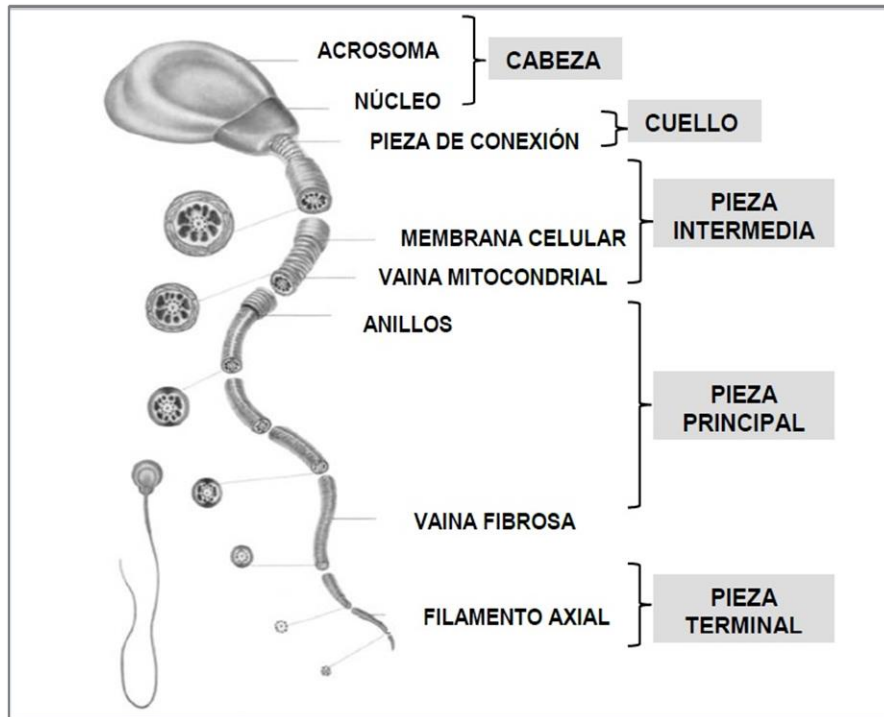
4.2.2.4.1 Estructura de los espermatozoides. Duane citado por Wilder Quispe sostiene que “los espermatozoides varían de forma y tamaño según las especies; mediante el microscopio óptico, el espermatozoide parece consistir en dos porciones esenciales: la cabeza y la cola. Mediante el microscopio electrónico se observa, además, que la cola está sub dividida en cuello, pieza media, pieza

⁴⁶TAPIA, Daniela y TELLO, Diego. Op. cit., p. 33.

⁴⁷QUISPE, Wilder. Op. Cit., p. 10.

principal y pieza terminal⁴⁸. En la figura 9 se muestra la estructura del espermatozoide del cuy.

Figura 9. Estructura del espermatozoide del cuy



Fuente: Fawcett, D. W. (1965). La anatomía del espermatozoide de mamíferos con especial referencia al conejillo de Indias. Revista para la Investigación celular y la anatomía microscópica. 67 (3), p 279–296. <http://doi.org/10.1007/BF00339376>

- Cabeza: Luis Aliaga, et al⁴⁹, señalan que la cabeza del espermatozoide del cobayo es oval y mide alrededor de 8 micras, en la cabeza se sitúan el núcleo y el capuchón acrosómico, todo envuelto en la membrana celular; la forma del núcleo determina la forma de la cabeza del espermatozoide, que a su vez es específico de cada especie y está sujeto a variaciones, pero en el conejillo de indias el gran tamaño del acrosoma es el que lo caracteriza. La función del acrosoma se le ha correlacionado con el aumento de la capacidad fertilizante de los espermatozoides, además 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. Mientras que la propiedad del núcleo está relacionada con ADN.

⁴⁸QUISPE, Wilder. Op. Cit., p.12.

⁴⁹ALIAGA, et al. Op. cit., p 188-191.

- Cuello: Daniela Tapia y Diego Tello ⁵⁰ señalan que el cuello es la región estrecha entre la cabeza y el comienzo de la vaina mitocondrial, quien a grandes rasgos cumple la función de proporcionar la energía necesaria para el movimiento del flagelo, el componente principal del cuello es la pieza de conexión cuya función es fijar la cola a la cabeza. Por otra parte Duane citado por Wilder Quispe⁵¹ afirma que el cuello es corto y estrecho entre la cabeza y la pieza media, además consta de un centriolo localizado centralmente y nueve fibras periféricas, orientadas longitudinalmente, comunicándose con las fibras exteriores de la pieza media.

- Pieza intermedia: Kathy Pinduisaca⁵² establece que esta pieza va relacionada con la vaina mitocondrial y se dice que existe alrededor de 80-85 mitocondrias por espermatozoide, Duane citado por Wilder Quispe sostiene que:

Se presenta una 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 esta y la pieza principal⁵³,

- Pieza principal: se caracteriza por una vaina compuesta de elementos fibrosos, es así que también es denominada, la hélice de la cola. 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.

- Pieza terminal: Dieter citado por Wilder Quispe "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"⁵⁴.

4.2.2.5 Características macroscópicas y microscópicas. La OMS citado por Wilder Quispe⁵⁵ indica un espermograma o semiograma es el estudio de la

⁵⁰TAPIA, Daniela y TELLO, Diego. Op. cit., p. 34.

⁵¹QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 11.

⁵²PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 15.

⁵³QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 11.

⁵⁴Ibíd., p. 15

⁵⁵Ibíd., p.16.

calidad de una muestra de esperma, también sostiene que los indicadores o parámetros que se deben evaluar son: el volumen de la muestra, el número de espermatozoides que contiene cada mililitro de semen y el porcentaje de ellos que presentan movilidad; expone además que 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). Además, se evalúa el porcentaje de espermatozoides cuya forma normal se ve alterada, 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. Daniela Tapia y Diego Tello⁵⁶ afirman que una evaluación macroscópica se puede realizar en la medida que se determine cuantitativa y cualitativamente el volumen, pH y color, en tanto que la caracterización microscópica permite conocer los porcentajes de concentración espermática, motilidad individual y masal, morfología y vitalidad del espermatozoide.

Bissonnette et al., citados por Kathy Pinduisaca⁵⁷ indican que el análisis de las características macroscópicas y microscópicas del semen es una importante herramienta a la hora de evaluar el potencial fecundante de los machos de diferentes especies y complementa la valoración fenotípica de los individuos, además en los programas de inseminación artificial, selección y de mejoramiento genético, la selección e identificación de los machos fértiles es fundamental para la correcta selección de material genético, sin embargo la valoración de la fertilidad del macho es limitada, debido a la complejidad del espermatozoide, fertilidad del semen, al proceso de fecundación y al proceso de recolección del semen en su conjunto.

4.2.2.5.1 Características macroscópicas. Wilder Quispe⁵⁸ Manifiesta de estos indicadores lo siguiente:

- **Color:** es blanquecino nítido o está enturbiado con otros tonos, como marrón, rojizo o amarillento, la opacidad está relacionada con la concentración, siendo incoloro en ausencia o baja concentración de espermatozoides. Además, en otras investigaciones se asevera que la aparición de estos colores en el semen se debe a alteraciones patológicas del aparato genital o a la mezcla del semen con orina durante la eyaculación; por otra parte, Wilder Quispe sostiene que el color blanco del semen es debido al líquido segregado de la próstata que contiene enzimas, ácido cítrico, lípidos y fosfatasa ácida. Ésta forma de 25% a un 30% de la base del semen.

⁵⁶TAPIA, Daniela y TELLO, Diego. Op. cit., p. 36.

⁵⁷PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 19.

⁵⁸QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 37-39.

Para la valoración de este parámetro se debe tener en cuenta que una vez es obtenido el eyaculado, se debe observar a través de un tubo transparente y se puede apreciar el aspecto o coloración que esté presente, siendo los colores más comunes el amarillento, Crema, Grisáceo, Blanco y rojo por la presencia de hematíes (células sanguíneas).

- pH: esta evaluación se puede determinar con el pH-metro o con tiras indicadoras de pH, se coloca una gota del eyaculado en una tira reactiva permitiendo que se impregne y cambie de color, enseguida se hace la comparación de la tira con el estándar incluido en el empaque de las tiras para realizar la lectura y determinar el valor del pH del eyaculado (el valor adecuado del semen se encuentra entre un 7,3 y 7,8 en la mayoría de mamíferos). Sin embargo, Wilder Quispe señala que 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.

- Volumen: esta medida se cuantifica en ml, y se determina según la especie animal, la cual tiene dos fracciones, una fracción rica en espermatozoides, formada por los espermatozoides almacenados fundamentalmente en la cola del epidídimo junto con las secreciones de la glándula prostática y bulbouretral; la segunda fracción es pobre en espermatozoides formada por gel seminal procedente de las glándulas vesiculares, en cuyas se ha encontrado que el volumen del eyaculado oscila entre 0,6 a 0,8 ml; sin embargo estos valores pueden variar en función de la estacionalidad, la edad del semental, la frecuencia de recogida, así como por las diferencias entre sementales y la técnica con la que se pretenda coleccionar la muestra seminal.

Wilder Quispe⁵⁹ describe que la muestra de semen se obtiene mediante un procedimiento sencillo, especialmente si se trata de animales acostumbrados a que rutinariamente se les extraiga semen, caso contrario requiere de entrenamiento y un poco más de tiempo para que el animal eyacule una muestra representativa. La cantidad coleccionada es necesaria para calcular el número total de espermatozoides en el eyaculado.

4.2.2.5.2 Características microscópicas. Pace et al., citado por Wilder Quispe afirman que “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”⁶⁰, por otra parte Daniela Tapia y Diego Tello⁶¹

⁵⁹QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 13-14.

⁶⁰Ibíd., p.2.

señalan que los parámetros microscópicos tradicionales no son lo suficientemente sensibles para evaluar la capacidad y eficacia de los espermatozoides para realizar la fecundación en el tracto reproductivo femenino. Sin embargo, cuando son combinados con la evaluación de la fertilidad espermática utilizando óvulos homólogos se ha mejorado la evaluación. Aunque esta sigue siendo incompleta ya que, la evaluación integral del semen también involucra su capacidad para llegar al sitio de la fertilización (traslado o transporte), capacidad para desarrollar una motilidad híper-activada, la reacción del acrosoma, la penetración a la zona pelúcida, la fusión con el plasma y descondensación de la cromatina, de esta manera se puede estudiar con mayor amplitud y precisión la viabilidad. Sin embargo, este análisis integral es muy difícil de desarrollar, debido a la enorme complejidad inherente de la función espermática.

- Motilidad y tipo de movimiento: Wilder: Quispe⁶² indica que los espermatozoides de mamíferos adquieren la capacidad de movimiento durante el transporte por el epidídimo, por lo tanto el espermatozoide necesita sufrir una activación en la motilidad para atravesar el tracto genital de la hembra y posteriormente, una híper activación del movimiento para llegar al punto de fecundación y penetrar la pared del ovocito; 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. Por consiguiente, la motilidad del espermatozoide es un indicador fundamental a tener en cuenta en la evaluación de la calidad seminal.

Sisk citado por Wilder Quispe⁶³ señala que los espermatozoides de cuyes tienen un movimiento curvilíneo con progresión hacia adelante irregular y la formación de rouleaux (paquetes) puede causar dificultades en la clasificación de la motilidad espermática en esta especie.

En una investigación realizada por M Freund⁶⁴ en 1969 para determinar las características del semen de cuy se recogieron 30 muestras a intervalos semanales de 29 cuyes no seleccionados (870 muestras), 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 la media para las características del semen entre animales. Por razones de abundancia, sólo la media para los cuatro cuyes con los más altos (Números 1 a

⁶¹TAPIA, Daniela y TELLO, Diego. Op. cit., p. 39.

⁶²QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 16-17.

⁶³Ibíd., p. 25.

⁶⁴FREUND, M. Interrelaciones entre las características del semen de cobaya recogido por electroeyaculación [en línea]. 1969, p 396. [Consultado: 20 de abril de 2020]. Disponible en Internet: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0190393>

4), los cuatro con los más bajos (Números 26 a 29), y los cuatro con las concentraciones medias de espermatozoides por eyaculación se incluyen (Números 13 a 16).

En el caso de la motilidad, no hubo mucha variabilidad entre los valores medios de los animales tabla 4, 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 ser considerada por el tipo inusual de motilidad que se encuentra en el semen de cuy, por este motivo resulta difícil hacer estimaciones precisas del porcentaje de motilidad. Freund sostiene que los patrones de natación de los espermatozoides de cuy son curvilíneos y se caracterizan por una progresión progresiva irregular, en comparación con el toro o los espermatozoides humanos.

Tabla 4. Algunas características del semen de cuy

Número Animal	Concentración Espermática (10 ⁶ /ml)	Volumen	Concentración Espermática por eyaculación	Motilidad %	Morfología Normal	Peso g
1	51,323	1	35,003	71	94	956
2	110,371	0,3	29	67	98	802
3	97,863	0,2	18,409	52	94	932
4	67,703	0,3	17,570	60	96	731
13	25,587	0,6	11,472	71	96	951
14	37,687	0,5	11,470	68	95	756
15	25,291	0,5	11,249	74	96	970
16	21,344	0,7	10,570	67	93	1212
26	14,271	0,6	5,448	70	92	858
27	28,010	0,3	4,426	59	96	686
28	10,753	0,3	3,023	72	97	885
29	13,181	0,6	2,875	59	97	864
Valor medio	41,782	0,5	13,376	66	95	875

Fuente: FREUND, M. Interrelaciones entre las características del semen de cobaya recogido por electroeyaculación [en línea]. 1969, p 397. [Consultado: 20 de abril de 2020]. Disponible en Internet: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0190393>

Phillips y col., citados por Alejandro Avalos⁶⁵ describen que la motilidad masal, es definida como el movimiento en remolinos del total de espermatozoides de la muestra. Normalmente la motilidad masal se valora de forma subjetiva en una escala de 0 a 5, con una puntuación de 5 cuando se observan oleadas o remolinos con movimiento rápido y vigoroso y de 0 cuando no se observa movimiento en ondas, la motilidad progresiva o individual se debe evaluar después de 2 minutos

⁶⁵AVALOS, Alejandro. Op. cit., p. 27

de terminado el proceso y conservarse a 30°C. Los espermatozoides deben normalmente moverse de modo, rápido y recto a través del campo.

La motilidad puede clasificarse como:

Muy buena: cuando el 80-100 % de espermatozoides presentan motilidad progresiva.

Buena: cuando el 60-79 % de espermatozoides presentan motilidad progresiva.

Regular: cuando el 40-59 % de espermatozoides presentan motilidad progresiva.

Pobre: cuando menos del 40 % de espermatozoides presentan motilidad progresiva.

Siendo el valor mínimo aceptable del 50 %.

- Aglutinación: Alejandro Avalos⁶⁶ explica que este indicador, también es apreciado en la misma preparación que se realiza para evaluar la movilidad espermática. En este caso se puede utilizar una escala semi-cuantitativa que se describe enseguida:

Sin aglutinación.

+ Unión entre algunos espermatozoides (solo en algunos campos).

++ Unión evidente de espermatozoides (en todos los campos).

+++ Agrupamiento masivo de todos los espermatozoides (en todos los campos).

Para ser considerada como aglutinación, esta unión debe ser entre: cabeza-cabeza, cabeza-cola, cola-cola. Descartando que sea alguna aglutinación inespecífica como la que ocurre al unirse los espermatozoides a células epiteliales presentes en el eyaculado.

- Porcentaje de espermatozoides vivos y muertos: Lucio Y et al., citados por Wilder Quispe mencionan que “la vitalidad o viabilidad espermática indica la proporción de espermatozoides totales vivos de acuerdo al criterio de inclusión del colorante y 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)”⁶⁷.

⁶⁶AVALOS, Alejandro. Op. cit., p. 31.

⁶⁷QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 41.

Alejandro Avalos⁶⁸ señala que el método tradicional es la tinción con eosina-nigrosina, que también se utiliza para la valoración de las morfo anomalías. El procedimiento muestra una extensión donde aparecen células vivas de color blanco sobre un fondo púrpura, o teñidas de rosa si están muertas.

El mayor inconveniente que presenta el uso de la eosina-nigrosina es que, al ser un colorante hipotónico que se añade a una muestra que no ha sido fijada químicamente, puede producir morfologías anormales en los espermatozoides, especialmente defectos en la cola; sugiere que para realizar el procedimiento se toman 4 µl de la muestra con espermatozoides y se mezclan con 4 µl de solución de eosina al 0,5 % mezclando suavemente y permitiendo la tinción por dos minutos. Se realiza la evaluación en diferentes campos para observar espermatozoides con una coloración rojiza aquellos que hayan perdido la permeabilidad celular y se consideran muertos y por otra parte aquellos sin coloración indicando que conservan la permeabilidad y se consideran como vivos. Se cuentan al menos 100 espermatozoides en total, haciendo la diferencia entre vivos y muertos y de esta manera se determina el porcentaje de vitalidad.

- Concentración del eyaculado: Kathy Pinduisaca indica que “la concentración espermática se calcula mediante el uso de una cámara de Neubauer, es considerado un método muy preciso para el conteo de células espermáticas. La fracción espermática se designa en millones de espermatozoides por mililitro y en base al volumen total de eyaculado”⁶⁹.

Ortiz citado por Daniela Tapia y Diego Tello⁷⁰ añade que en la determinación de la concentración espermática se utilizan las cámaras hemocito métricas o espectrofotómetros y se prepara una dilución 1:20, 1:10 o 1:50 con cada muestra homogenizando bien el semen con el diluyente. Luego se realiza el recuento y se determina la concentración en millones/ml dividiendo el promedio del recuento para el factor 1+9, 1+19 o 1+49. Utilizando una de estas técnicas Alberto Caycedo, determinó una concentración de $0,25 \cdot 10^3$ espermatozoides/cm³ en cuyes.

Wilder Quispe⁷¹ sostiene que la evaluación del volumen y de la concentración espermática es fundamental 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 del macho reproductor.

⁶⁸AVALOS, Alejandro. Op. cit., p. 28-29.

⁶⁹PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 30

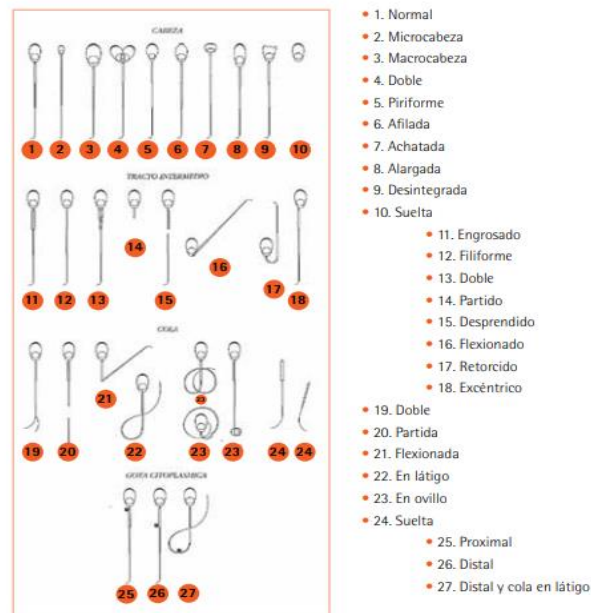
⁷⁰TAPIA, Daniela Y TELLO, Diego. Op. cit., p. 37

⁷¹QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 16.

- Formas anormales: Wilder Quispe⁷² menciona que la cabeza de los espermatozoides de mamíferos presenta importantes variaciones en la forma entre las diferentes especies, por ejemplo, es ovoide y discoidal en el conejo, toro y cerdo, falciforme en ratón, rata y hámster, algo aplanada y elipsoide en el hombre, las morfo anomalías se dan en proceso de producción de los espermias a nivel de los testículos; las anomalías incluye tamaño y forma inusual de la cabeza, encorvamiento de la parte media, presencia de gotas citoplasmáticas proximales y cabezas separada, las anomalías secundarias se producen a nivel del epidídimo durante la maduración estas incluyen colas curvadas o enrolladas y gotas citoplasmáticas distales. La forma de los espermatozoides es una característica importante porque afecta a la motilidad y está relacionado directamente con la fertilidad. El cálculo del porcentaje de formas anormales puede realizarse en el momento del recuento de espermatozoides en la cámara de Neubauer, realizando una tinción total y observando con el microscopio.

Daniela Tapia y Diego Tello⁷³ explican que en el análisis morfológico se debe reconocer que los espermatozoides del cuy presentan una forma ovalada y ensanchada en la parte superior. Pero cualquier otra forma o alteración en la cabeza, pieza intermedia o cola debe ser considerado como anomalía, en la figura 10 se observan las Morfo-anomalías que se pueden presentar.

Figura 10. Morfo-anomalías en espermatozoides



Fuente: Manual práctico para profesionales de inseminación artificial porcina. KUBUS S.A [fotografía]. 2010, p. 37.

⁷²QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 18.

⁷³TAPIA, Daniela Y TELLO, Diego. Op. cit., p. 38.

4.3 METODOS DE RECOLECCIÓN DEL SEMEN

Estos métodos se han ideado con el fin de extraer una fracción cada vez más completa de semen, entre estos métodos encontramos la vagina artificial, técnica de la mano enguantada y la técnica de electroeyaculación.

4.3.1 Vagina artificial. Este es el método más ampliamente difundido en la actualidad para la recolección del semen de bovinos, ovinos y equinos. Permite superar varios de los inconvenientes de la recolección directa en la vagina o la colección por masaje; consiste en la utilización de un sencillo y fácilmente utilizable aparato o vagina artificial.

Daniel Arencibia y Luis Rosario describen la vagina artificial de la siguiente manera:

El cuerpo de la vagina (tubo de pvc) está recubierto en su interior por una capa de goma-espuma. Dentro del cuerpo de la vagina se coloca el látex formando una cámara aislada donde se coloca el agua caliente, de manera tal que el agua nunca tome contacto con el semen. En el extremo posterior del tubo rígido se coloca un tubo colector graduado para la recolección del semen.

El volumen y la calidad del semen dependen de la camisa utilizada en la vagina artificial, la cual debe estar seca y no se debe utilizar gel, además hay que realizar un cuarto de vuelta del látex dentro de la vagina, pues los pliegues que se forman permiten una estimulación al macho⁷⁴.

4.3.2 Mano enguantada. Angelino citado por Arieta Román et al.,⁷⁵ describen que esta técnica requiere dos personas, una para efectuar el masaje rectal y otra para colectar el semen, en toros particularmente se ubica y mantiene en una manga o prensa; después de remover completamente las heces del recto, se debe aplicar un masaje longitudinal repetitivo hacia delante y atrás, principalmente sobre la terminación de los canales deferentes, de las vesículas seminales y de la región de la próstata, introduciendo la mano y el antebrazo en el recto del animal. Esto ocasiona que el semen fluya hacia la uretra pélvica al iniciarse la pulsación del musculo uretral, el masaje deberá continuar en sincronía con las pulsaciones mientras que otra persona recoge con una probeta de vidrio la fracción rica en espermatozoides.

⁷⁴ARENCEBIA, Daniel y ROSARIO, Luis. consideraciones practicas acerca de la calidad del semen de conejos aplicados en estudios de toxicología de la fertilidad. [en línea]. Ciudad de la Habana, Cuba. 2009, p. 5. Vol. 10, núm. 8. [Consultado: 27 de septiembre de 2019]. Disponible en internet: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63617143011>

⁷⁵ARIETA, Román, et al. Métodos de extracción de semen bovino. [en línea]. Revista Red Vet. México. 2009, p. 7. Vol. 15, núm. 05. [Consultado: 29 de julio de 2020]. Disponible en internet: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050514.html>

4.3.3 Electroeyaculador. Kathy Pinduisaca⁷⁶ señala que el electroeyaculador es un dispositivo electrónico diseñado para regular la corriente eléctrica por medio de un transformador, dotado de unos controles para la selección y ajuste de los estímulos eléctricos, tales como: forma de onda (sinusoide, cuadrática o triangular), voltaje de salida, controles de modulación de amplitud, duración, e intervalo entre estímulos sucesivos; estos estímulos eléctricos son similares a los que envía el cerebro a las glándulas sexuales, accesorias y al pene, con lo que se logra una erección, estimulación y finalmente una eyaculación.

Carmelina García y Jesús Moncayo señalan que en cuyes:

No existe una técnica específica de obtener semen, en diferentes investigaciones se utiliza un electroeyaculador el cual está diseñado con el fin de no causar daño al normal funcionamiento fisiológico del animal. Las partes que lo conforman son:

- Relajador muscular: es un aparato que transmite ondas eléctricas y mecánicas, las cuales funcionan a partir de electroimanes que se conectan a conductores rígidos que vibran a una frecuencia fija. El campo electromagnético es vibratorio, la frecuencia de vibración se puede variar de acuerdo a la longitud del conductor rígido.
- Regulador del tono muscular: es un circuito electrónico que funciona con base a pulsaciones eléctricas originadas por un generador de pulsos equipado por un integrado 555 (oscilador); junto con él se encuentran unas bobinas para amplificar la señal (transformador elevador). Este aparato tiene de entrada 9 voltios de corriente continua, y de salida de 20 a 25 voltios de corriente continua controlable, de las bobinas salen los terminales con corriente elevada a los electrodos, y de estos al animal.
- Shock eléctrico: es una descarga eléctrica proveniente de un transformador reductor, el voltaje de entrada es de 110 voltios, y se reduce a 30 o 50 voltios, en cada salida se conectan los electrodos y se conectan al animal⁷⁷.

4.4 DILUYENTES UTILIZADOS

Alberto Caycedo⁷⁸ expone que los diluyentes son sustancias hidrosolubles y de baja toxicidad, cuya función es la protección, funcionalidad e integridad de la membrana del espermatozoide, para que estas funciones se mantengan en equilibrio, el diluyente debe contener nutrientes como los que posee la yema de huevo que combinada con azúcares como la glucosa, fructuosa, manosa, arabinosa y rafinosa ofrecen el aporte energético a los espermatozoides, otros actúan como crioprotectores pues mantienen o incrementan la presión osmótica

⁷⁶PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 23.

⁷⁷GARCÍA, Carmelina y MONCAYO, Jesús. Op.cit., p. 39.

⁷⁸CAYCEDO, Alberto. Op cit., p 280.

de manera extracelular en los espermatozoides, además deben contener un amortiguador con amplio rango de estabilización de pH y agentes antimicrobianos puesto que el semen es un medio ideal para la proliferación de diferentes bacterias gram negativas como son la *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp, *Staphylococcus* spp, *Corynebacterium* spp, entre otros, es así que la adición de agentes antimicrobianos se hace necesario para reducir su proliferación; sostiene además que algunas cantidades y agentes antimicrobianos utilizados son la penicilina G 1000-1500 UI/ml, estreptomicina 1000-1500 UI/ml, polimixina B 200-1000 UI/ml, a parte de estos agentes en ocasiones se suele usar glicerol que es un crioprotector o anticongelante que evita la formación de cristales de hielo y la muerte celular.

Daniela tapia y Diego Tello desarrollaron una investigación con el objetivo de:

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 espermática⁷⁹.

⁷⁹TAPIA, Daniela Y TELLO, Diego. Op. cit., p. 2.

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1 LOCALIZACIÓN

Esta investigación se llevó a cabo en la Granja Experimental de Botana, propiedad de la Universidad de Nariño, ubicada en el corregimiento de Catambuco, vereda Botana, a 7 Km de la ciudad San Juan de Pasto, Departamento de Nariño, a una altura de 2.820 msnm, con una temperatura que varía entre 12,4°C a 16°C y precipitación media anual de 694 mm, corresponde a una formación bosque seco montano bajo (bs-MB), está ubicada a 1°0.3'4.0"N y 77°44'57.5"O⁸⁰.

5.2 POBLACIÓN OBJETO Y MUESTRA

Para la colecta del semen se empleó 30 cuyes mejorados de 90 días de edad, con pesos superiores o iguales a 900 g, elegidos según los registros que se llevan en la producción de la Granja Experimental Botana en cuanto a la numeración que tiene cada animal.

Dentro de las instalaciones se les asigna un número consecutivo más una letra que sitúa la poza en donde se encuentre.

5.3 INSTALACIONES, MATERIALES Y EQUIPOS

El trabajo de campo se desarrolló en las instalaciones del programa de cuyes, el cual cuenta con dos áreas, una enfocada a levante y engorde, en donde los animales se encuentran agrupados en pozas y en jaulas, para objeto de esta investigación se mantuvo a los animales en jaulas individuales de 25 cm de ancho por 50 cm de largo y 1,40 cm de alto figura 11, la extracción del semen se realizó en estas instalaciones y el análisis de todas las variables tanto macroscópicas como microscópicas en el laboratorio de inseminación artificial del programa porcícola de la universidad de Nariño.

5.3.1 Materiales.

- 30 capilares
- 1 rollo de Tiras de pH
- 30 jeringas insulínicas
- 30 microtainers 1,5 ml
- 1 caja de portaobjetos
- 1 caja de cubreobjetos

⁸⁰IDEAM. Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales: San Juan de Pasto; [20 de septiembre de 2019]. Disponible en: <http://www.ideam.gov.co>

- 1 frasco de aceite de inmersión
- 1 placa de calentamiento
- 5 ml de eosina
- 1 cámara de Neubauer
- 30 puñetas plásticas de 1 ml
- 500 ml de suero fisiológico al 3 %
- 250 ml de citrato formol
- Matraz aforado de 100 ml.

Figura 11. Elaboración de jaulas individuales y aislamiento de animales



5.3.2. Equipos.

- Electroeyaculador
- 1 Balanza Discover Ek5055, peso máximo 5 Kg y una escala: 1 Gr/ 0.05 Oz
- 1 microscopio Primo Star de 10X a 100X aumentos máximo

5.4 MANEJO

El manejo que se dio a los cuyes (*Cavia porcellus*) de la línea genética mejorada de 90 días de edad fue el siguiente:

5.4.1 Periodo de adaptación. Durante el proceso de investigación la población objeto (30 cuyes mejorados de 80 días de edad), se manejaron en jaulas individuales de 25 cm de ancho por 50 cm de largo y 1,40 m de alto, durante 10 días antes de la extracción hasta que cumplieran los 90 días de edad, se les puso música para reducir el estrés, se manipuló a los animales mediante el contacto físico acariciándolos durante y después del proceso extracción por un espacio de tiempo de 5 minutos aproximadamente.

5.4.2 Plan de alimentación. 7:30 am se suministró 40 g de concentrado animal/día, a las 10:00 forraje verde 500 g animal/día el cual estuvo compuesto por ryegrass perenne (*Lolium perenne*), kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y leguminosas como la achicoria (*Cichorium intybus*).

5.4.3 Plan sanitario. Se seleccionó a los reproductores machos desparasitados según los registros del programa cuyícola de la universidad de Nariño, se les suministró vitaminas para minimizar el efecto del estrés por manipulación, se ubicó los animales en su respectiva jaula individual realizando diariamente la limpieza de las mismas.

5.5 VARIABLES A EVALUAR

5.5.1 Diseño del electroeyaculador. Tomando como referencia investigaciones previas para poder establecer una idea clara sobre el manejo técnico y electrónico, se procedió a programar el dispositivo con una referencia de entre 4 y 15 pulsaciones máximas seguida de una descarga de voltaje de corriente de máximo 12 V y mínimo 5 V, con esta referencia se hizo un mínimo de 2 repeticiones del protocolo con un descanso máximo de 60 segundos y un mínimo de 1 segundo entre cada repetición, hasta encontrar el máximo de repeticiones con el fin de obtener el mayor volumen posible del eyaculado

5.5.2 Características macroscópicas.

5.5.2.1 Color. Se determinó mediante observación directa, contrastando la muestra sobre un fondo oscuro calificándolo de cuatro maneras:

- 1 blanco cremoso.
- 2 color del semen rojizo contaminación con sangre.
- 3 color amarillento contaminación con orina.
- 4 color marrón contaminación por heces.

5.5.2.2 pH. De cada eyaculado se tomó una muestra con un microcapilar impregnando con una gota la tira indicadora de pH y finalmente se verificó el color que indica la tira con los valores de referencia que vienen en la caja figura 12.

Figura 12. Escala de pH



5.5.2.3 Volumen. Para esta medida se dispuso el total del eyaculado en micro tubos de plástico, graduados de 1,5 ml y se pesó el eyaculado en una balanza Discover Ek5055 con capacidad mínima de 1 g después de tarar previamente el micro túbulo.

5.5.3 Características microscópicas.

5.5.3.1 Motilidad y tipo de movimiento. Se efectuó mediante visualización microscópica, teniendo en cuenta los siguientes pasos:

- Se tomó una muestra de semen fresco del eyaculado con un microcapilar y se depositó una gota en un portaobjetos atemperado a 37 °C y sobre ella se colocó el cubreobjetos.
- La muestra se observó a través del microscopio a 10X y 40X respectivamente evaluando el movimiento general, valoración medida porcentualmente de la siguiente manera:

Muy buena: cuando el 80-100 % de espermatozoides presentan motilidad progresiva.

Buena: cuando el 60-79 % de espermatozoides presentan motilidad progresiva.

Regular: cuando el 40-59 % de espermatozoides presentan motilidad progresiva.

Pobre: cuando menos del 40 % de espermatozoides presentan motilidad progresiva.

- El tipo de movimiento se evaluó visualmente teniendo en cuenta la siguiente escala:

0= Sin movimiento.

1= Desplazamiento en círculo y algunos progresivos.

2= Movimientos progresivos y sinuosos.

3= Movimientos progresivos rápidos.

4= Movimientos progresivos muy rápidos.

5.5.3.2 Aglutinación. Se evaluó al mismo tiempo en que se desarrolló la observación de la motilidad, midiéndolo según la escala que establece el manual Kubus de la siguiente manera:

- 0 nula aglutinación.
- 0+ aglutinación leve.
- 0++ aglutinación media.
- 0+++ aglutinación severa.

Las células aglutinadas no se consideraron en el porcentaje total de células en movimiento.

5.5.3.3 porcentajes de espermatozoides vivos y muertos. Para evaluar este porcentaje se verificó mediante la tinción vital (Eosina) con observación de las placas teñidas con eosina y se procedió de la siguiente manera:

- Sobre un portaobjetos se depositó cuatro gotas de eosina y dos gotas de semen.
- Se efectuó la extensión realizando un frotis con un cubreobjetos sobre un portaobjetos atemperado a 37 °C y se secó al aire.
- Se observó los espermatozoides que están vivos de color blanco sin teñir.
- Los espermatozoides teñidos por la Eosina serán los espermatozoides muertos.

- Se evaluó de forma porcentual de 1 a 100 %. Para sacar el porcentaje de espermatozoides vivos se procedió a observar el frotis a 100 aumentos, contando los espermatozoides 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 espermatozoides vivos.

5.5.3.4 Concentración del eyaculado. Para este procedimiento se utilizó la cámara de Neubauer teniendo en cuenta los siguientes pasos:

- Se homogenizó bien el eyaculado antes de tomar 0,1 ml de semen puro con la ayuda de una pipeta.
- Se preparó una dilución 1:100 en una solución de suero fisiológico formolado al 3 %, para lo que se utilizó un matraz aforado de 100 CC.
- Se homogenizó suavemente la mezcla y se tomó con una pipeta Pasteur una gota para llenar la cámara de Neubauer.
- Se ajustó bien el cubreobjetos en la cámara de Neubauer.
- Se situó la pipeta Pasteur entre el cubreobjetos y la cámara, dejando que el retículo de la cámara se llene por capilaridad.
- Se observó en el microscopio óptico Primo Star a 40X
- Se contó el número de espermatozoides presentes en 16 cuadros de los cuatro lados de la cámara.
- Se contaron aquellos espermatozoides cuyas cabezas estén situadas dentro de los 16 cuadros.
- Se aplicó la siguiente fórmula para determinar el número de espermatozoides por ml.

Número de espermatozoides contados \times 10.000 \times dilución utilizada

5.5.3.5 Formas anormales. El cálculo del porcentaje de formas anormales se efectuó mediante visualización microscópica.

- Se fijó una muestra con solución de citrato-formol y se observó en un microscopio las morfo-anomalías existentes en 50-100 células contadas con objetivo de 40 o 100 aumentos.

- Se efectuó el conteo siguiendo la información de la figura 10.

5.6 MODELO FICHA INDIVIDUAL PARA RECOLECTAR INFORMACIÓN DEL SEMEN

Para tomar los datos de forma oportuna se creó una ficha para recolectar los datos en cada una de las extracciones, como se observa en la figura 13.

Figura 13. Ficha individual

EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS MACRO Y MICROSCÓPICAS DEL SEMEN DE CUYES (<i>Cavia porcellus</i>) de 90 días de edad	
hoja de resultados	
# _____	Cuy # _____ peso _____
CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	
1	Color Marrón _____ Amarillo _____ rojo _____ blanco cremoso _____
2	volumen _____
3	pH _____
CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS	
4	Porcentaje de motilidad _____
5	Tipo de movimiento 0 _____ 1 _____ 2 _____ 3 _____ 4 _____
6	Aglutinación 0 _____ 0+ _____ 0++ _____ 0+++ _____
7	Porcentaje de espermatozoides vivos y muertos _____
8	Concentración del eyaculado _____
9	Formas anormales # tipo de forma _____

5.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron analizados mediante estadística descriptiva (Media, desviación estándar, error estándar y coeficiente de variación), desarrollada en Excel.

- Media

$$\frac{\sum_{i=1}^N X_i}{n}$$

Siendo (X_1, X_2, \dots, X_N) el conjunto de observaciones
 n= número de observaciones

- Error estándar

$$SE = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Siendo:

SE= error estándar de la muestra
s= desviación estándar muestral
n= número de muestras

- Desviación estándar

$$s = \sqrt{\frac{\sum (xi - \mu)^2}{n}}$$

Siendo:

s= desviación estándar muestral
n= número de muestras
xi= cada valor de la muestra
 μ = media

- Coeficiente de variación:

$$CV = \frac{s}{|\mu|} * 100$$

Siendo:

s= desviación estándar
 μ = media

$0 \leq CV \leq 10$ % variabilidad muy baja

$10\% \leq CV \leq 25$ % baja variabilidad

$25\% \leq CV \leq 40$ % variabilidad moderada

$40\% \leq CV \leq 50\%$ alta variabilidad

$CV \geq 50\%$ variabilidad muy alta

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1 DISEÑO DEL ELECTROEYACULADOR

El dispositivo se programó bajo el lenguaje C, de uso en un compilador de sublimertext, la frecuencia a la que se programó tiene un límite o máxima de 60 estimulaciones sobre segundo o minuto y una mínima de 1 sobre segundo o minuto, las características nominales que tiene son: 12V DC 3ª; una salida programable de 5V a 12V y una onda a la salida, cuadrada simétrica, el dispositivo cuenta con una pantalla LCD de 16 por 2 (filas por columnas), un encoder como método de selección, tiene una memoria para el almacenamiento de configuraciones. Posteriormente se hizo unas pruebas con el osciloscopio para observar y determinar la salida normal de las pulsaciones, además se de una prueba final para determinar la salida de la corriente y el voltaje, en la figura 14 muestra la elaboración y calibración del electroeyaculador.

Figura 14. Elaboración y calibración electroeyaculador



6.2 PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN DE SEMEN DE CUY

6.2.1 Pesaje. Se tomó con una balanza y una jaula para inmovilizar el cuy, obteniendo como resultado un promedio en el peso de 1133,3g y un error estándar de 47,73g; encontrándonos en este caso en el peso ideal a esta edad según los datos señalados por Cadena López citada por Mauricio Quishpe y Carolina Brahona⁸¹ que están entre 800 a 1500g; así mismo Lilia Chaucha⁸² señala que los

⁸¹QUISHPE, Mauricio y BRAHONA, Carolina. Op. cit., p. 120.

cuyes mejorados se caracterizan por ser más precoces e incluso el reflejo de la monta lo desarrollan en el primer mes de vida, además de tener una buena conversión alimenticia son animales que tienen un peso promedio al nacimiento de 148,4 g y alcanzan 1091,3 g a las 13 semanas, en la figura 15 se observa el proceso del pesaje individual.

Figura 15. Pesaje individual



Luego del pesaje de cada animal el procedimiento para la extracción del semen consistió en los siguientes pasos figura 16:

- Periodo de adaptación 10 días antes de realizar la extracción
- Después del periodo de adaptación se le suministra vitaminas para mitigar el estrés, y se procede a iniciar el procedimiento
- Sujetar al cuy e inmovilizarlo, descartar las heces del ano
- Limpiar el ano y pene con suero fisiológico
- Limpiar la espada del electroeyaculador con suero fisiológico

⁸²CHAUCA, Lilia. Op. cit., p. 37.

- Situar el microtainer en la punta del glande del pene
- Introducir la espada del electroeyaculador con una profundidad de 5 cm en el recto.
- Inducir la estimulación según el protocolo guardado en el electroeyaculador, tabla 5
- Realizar un masaje genital durante todo el proceso en la zona genital
- Se repite el proceso después de descansar 5 minutos
- Se recibe el eyaculado en el microtainer y se almacena a 37 grados centígrados
- Se retira la espada del ano del cuy y se limpia con suero fisiológico
- Se limpia la zona perianal del cuy y se pone el animal en su jaula respectiva

Figura 16. Limpieza, desinfección y toma de muestra del semen

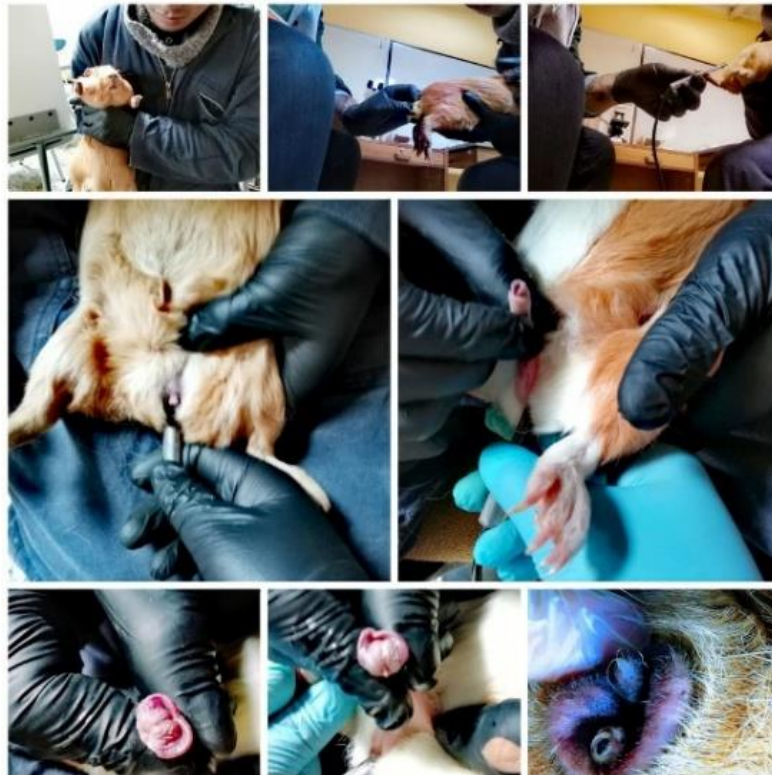


Tabla 5. Protocolo de extracción experimental

VOLTAJE					2 repeticiones
5	7	9	11	12	
15 Pulsos segundo	15 Pulsos segundo	20 Pulsos segundo	20 Pulsos segundo	20 Pulsos segundo	
Descanso	Descanso	Descanso	Descanso	Descanso	
4 segundos	4 segundos	4 segundos	4 segundos	4 segundos	
DESCANSO DE 5 MINUTOS					

*Cada voltaje se repite 4 veces, duración del proceso de extracción 18:20 minutos

Especificaciones del protocolo:

- Repetir 4 veces: 15 pulsos sobre segundo de 5 voltios.
- Descanso de 4 segundos sin aplicar voltaje.
- Repetir 4 veces: 15 pulsos sobre segundo de 7 voltios.
- Descanso de 4 segundos sin aplicar voltaje.
- Repetir 4 veces: 20 pulsos sobre segundo de 9 voltios.
- Descanso 4 segundos sin aplicar voltaje.
- Repetir 4 veces: 20 pulsos sobre segundo de 11 voltios.
- Descanso de 4 segundos sin aplicar voltaje.
- Repetir 4 veces: 20 pulsos sobre segundo de 12 voltios.
- Descanso de 15 segundos sin aplicar voltaje.
- 2 repeticiones del proceso.
- Descanso del animal durante 5 minutos estimulando de forma manual el pene.
- 2 repeticiones del proceso.

Durante el proceso de extracción se observó y se hizo necesaria la manipulación por medio de un masaje en los genitales del cuy, dado que la sola utilización del electroeyaculador no permitió una eyaculación completa del semen.

El protocolo se evaluó en 30 cuyes de 90 días de edad, con pesos superiores o iguales a 900 g seleccionados según los registros que se lleva en la producción de la Granja Experimental Botana, este proceso se realizó en diferentes días como se observa en la tabla 6.

Tabla 6. Fechas de extracciones

# cuy	fecha de extracción	peso g	edad días	extracción positiva	extracción negativa
2085-C	2/01/2020	1025	90		x
2132-D	2/01/2020	1207	90	x	
2245-C	2/01/2020	1029	90		x
2158-D	2/01/2020	1141	90		x
2171-B	2/01/2020	1153	90	x	
2309-D	2/01/2020	989	90		x
2264-A	2/01/2020	1127	90		x
1961-A	2/01/2020	1138	90		x
2315-B	2/01/2020	1014	90	x	
2261-A	2/01/2020	1170	90		x
2156-D	2/01/2020	1152	90		x
2336-A	2/01/2020	1194	90	x	
2373-C	25/01/2020	1090	90		x
2157-D	25/01/2020	1252	90		x
1964-A	25/01/2020	1159	90		x
2313-A	25/01/2020	1140	90	x	
2036-B	25/01/2020	1228	90		x
2035-B	25/01/2020	1100	90	x	
2133-D	25/01/2020	1120	90		x
2091-C	25/01/2020	1180	90		x
2072-A	25/01/2020	1177	90		x
2168-C	25/01/2020	1115	90	x	
2028-B	25/01/2020	1151	90		x
2043-C	25/01/2020	1223	90		x
2085-C	8/02/2020	1233	90		x
2157-D	8/02/2020	1128	90		x
1964-A	8/02/2020	1205	90		x
2313-A	8/02/2020	1320	90		x
2036-B	8/02/2020	1330	90		x
2035-B	8/02/2020	1123	90		x

Actualmente no se habla de una técnica eficaz en específico para la extracción de semen de cuyes, por lo cual en esta investigación se buscó estandarizar un protocolo de electroeyaculación que se ajuste y funcione de manera eficiente en esta especie; encontrando durante este lapso varias dificultades para la obtención del volumen total del eyaculado, así como la ineficacia de la extracción de semen en 23 cuyes que hicieron parte de la muestra experimental, la cual se puede deber a factores externos como el estrés, el corto tiempo de adaptación a la técnica

utilizada, la programación en cuanto a los impulsos, profundidad de inserción del transductor en el ano, voltaje y duración del protocolo utilizado, por lo que el uso del electroeyaculador y su protocolo se debe reestructurar en futuras investigaciones, los resultados se limitaron a 7 muestras provocando un acortamiento de los datos reportados en cuanto a la valoración mediante estadística descriptiva.

Kathy Pinduisaca⁸³ realizó una investigación en la que se consideró que los factores determinantes para inducir la eyaculación en cuyes mediante la técnica de electroeyaculación, son el voltaje (V), frecuencia (F) y profundidad de inserción del transductor (P). Los protocolos de estimulación fueron diseñados al combinar los niveles de cada factor de estudio (V, F y P), se obtuvo doce tratamientos con cuatro replicaciones cada uno, de estos tratamientos únicamente dos fueron efectivos V3F1P1 y V3F2P1 y generaron respuesta eyaculatoria en donde inmediatamente se evaluó el semen extraído. Las respuestas efectivas a los estímulos generados por los protocolos de las dos investigaciones se deben a las características similares respecto a la profundidad de inserción del transductor rectal, además en ambos estudios se encontraron problemas respecto a la profundidad de la inserción, provocando una contaminación con orina en las muestras colectadas; a lo que la autora manifiesta puede ser causada cuando el voltaje máximo necesario es excedido o cuando el transductor rectal es posicionado más cranealmente además señala que en muchas especies la contaminación del semen con orina es bastante problemática, lo que indica que hay poca separación anatómica entre las fibras nerviosas que controlan la micción y la eyaculación, y/o las fibras nerviosas pueden tener origen similar.

6.3 PROTOCOLO PARA EVALUAR CARACTERÍSTICAS MACRO Y MICROSCÓPICAS DE SEMEN DE CUY

La metodología de evaluación seminal se adaptó del protocolo para el análisis de semen porcino, extraída del manual Kubus⁸⁴, al no contar con los materiales que este manual menciona fue necesario modificar el protocolo, cambiando el pH metro por tiras de pH, utilizar solamente eosina para la tinción de espermatozoides vivos y muertos y reemplazar la cámara de Bürker por la cámara de Neubauer, el protocolo resultante se observa en el tabla 7.

⁸³PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 33-35.

⁸⁴Manual práctico para profesionales, inseminación artificial porcina, equipo técnico KUBUS, S.A. Las Rosas Madrid. p 27-43.

Tabla 7. Protocolo para analizar muestras en laboratorio

1.	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	OBSERVACIONES	PRUEBAS DE LABORATORIO	MATERIALES
1.1	Color	Blanco cremoso, amarillo, rojizo, marrón	Visualización Contrastar con un fondo negro	Microtainers
1.2	pH	7	Tira de pH	Tiras de pH
1.3	Volumen	0,6-0,8 ml	Se pesa microtainer, se tara y se saca el volumen por diferencia,	Microtainers de 1.5 ml
2.	CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS			
2.1	% motilidad	1-100% Se tiene en cuenta el movimiento grupal, sin contar las aglutinaciones presentes Valor mínimo aceptado 50%	Visualización microscópica global	Microscopio Porta objetos Placa de calentamiento Cubre objetos Aceite de inmersión (Fosforera)

	CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS	OBSERVACIONES	PRUEBAS DE LABORATORIO	MATERIALES
2.2	Tipo de movimiento	0 espermatozoides sin movimiento 1 espermatozoides con desplazamiento en círculos y algunos progresivos 2 movimientos progresivos sinuosos 3 movimientos progresivos rápidos 4 movimientos progresivos muy rápidos	Visualización microscópica (analizando 100 espermatozoides)	Microscopio Porta objetos Placa de calentamiento Cubre objetos Aceite de inmersión (Fosforera)
2.3	Aglutinación	0 nula aglutinación 0+ aglutinación leve 0++ aglutinación media 0+++ aglutinación severa	Visualización microscópica global	Microscopio Porta objetos Placa de calentamiento Cubre objetos (Fosforera)
2.4	% espermatozoides vivos y muertos	Permeabilidad de la membrana a la tinción Espermatozoides muertos aparecen teñidos 1-100%	Tinción vital con observaciones al microscopio	Microscopio Porta objetos Eosina- Porta objetos
2.5	Concentración del eyaculado	N° espermatozoides/ml	Conteo en cámara de Neubauer (dilución 0,1ml de semen :10 ml de agua destilada)	Microscopio Pipeta plástica de 1ml Dilución 1\100 en suero fisiológico al 3% Cámara de Neubauer Pipetas glóbulos rojos
2.6	Formas anormales	Normal-anormal	Observación en microscopio	Microscopio Porta objetos Citrato formol

Se encontró que cada característica evaluada en laboratorio figura 17 de acuerdo a las adaptaciones del manual Kubus fue exitosa, excepto la técnica para evaluar el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos bajo tinción con Eosina, la proporción semen/eosina utilizada posiblemente no es la adecuada, los resultados de laboratorio realizados con el protocolo propuesto de esta investigación se indica en la tabla 8.

Figura 17. Aplicación del protocolo de laboratorio



Tabla 8. Resultados de laboratorio de muestras de semen de cuyes (*Cavia porcellus*) mejorados de 90 días de edad

Identificación Animales	Color	pH	volumen ml	% Motilidad	Tipo de movimientos
2313-A	Blanco	7	0,3	60	1
2168-C	Blanco	7	0,2	70	2
2035-B	Blanco	7	0,35	60	1
2132-D	Blanco	7	0,5	80	2
2171-D	Blanco	7	0,1	55	1
2315-B	Blanco	7	0,25	90	3
2336-A	Blanco con coloraciones amarillentas	7	0,4	80	2
Suma			2,1	490	
Media			0,3	70	
Desviación Estándar			0,13	13,04	
Error Estándar			0,05	4,93	
Coeficiente de Variación			44,10%	18,45%	
Tamaño de la Muestra			7	7	

* Tipo de movimiento.

0= Sin movimiento.

1= Desplazamiento en círculo y algunos progresivos.

2= Movimientos progresivos y sinuosos.

3= Movimientos progresivos rápidos.

4= Movimientos progresivos muy rápidos.

N° de Animales	Aglutinación	% espermatozoides muertos	Concentración espermática millones de espermatozoides	% formas anormales
2313 - A	0+	100	14,4	10
2168 - C	0++	100	14	15
2035 - B	0+	100	19,6	15
2132 - D	0+	95	21	12
2171 - D	0	97	6,8	15
2315 - B	0+	90	11,2	10
2336 - A	0+	90	15,2	18
Suma		672	102,2	95
Media		96	14,6	13,57
Desviación Estándar		4,50	4,81	2,99
Error Estándar		1,70	1,82	1,13
Coeficiente de Variación		4,70%	32,98%	22,05%
Tamaño de la muestra		7	7	7

* Aglutinación

0= Nula aglutinación.

0+= Aglutinación leve

0++= Aglutinación media

0+++= Aglutinación severa

6.4 CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

6.4.1 color. El semen evaluado presentó un color blanquecino con tonos amarillentos, Wilder Quispe⁸⁵ en su investigación las muestras de semen colectadas de cuyes de la línea Perú y Andina es blanco nácar; el color blanco del semen es debido al líquido segregado de la próstata que contiene enzimas, ácido cítrico, lípidos y fosfatasa ácida. Ésta forma un 25-30 % de la base del semen, también indica que las coloraciones extrañas como es el amarillo pueden ser un problema del aparato genital o la mezcla de semen con orina, de igual manera el color blanco cremoso o blanco nácar puede deberse al tipo de alimentación recibida durante la fase experimental; de igual manera Kathy Pinduisaca⁸⁶ señala que el color blanquecino del semen está relacionado con la concentración espermática siendo incoloro en ausencia o baja concentración de espermatozoides, además sostiene que el color amarillento en el semen puede estar causado por la profundidad a la que se inserta en transductor rectal y al voltaje de salida del electroeyaculador, en la figura 18 se detalla la forma en que se hizo el contraste para determinar el color del semen.

Figura 18. Muestra de semen en microtainer



⁸⁵QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 37.

⁸⁶PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 35.

6.4.2 pH. Se encontró un pH de 7, Wilder Quispe⁸⁷ sostiene que 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, en su investigación encontró un pH de 6,89 para la línea Andina y 6,87 para la línea Perú y con los que concluye que no hay ningún efecto sobre el volumen, datos ligeramente inferiores a los encontrados en esta investigación.

Zabludovsky et al., citados por Wilder Quispe⁸⁸ señalan que la concentración anormal de calcio y pH pueden inhibir la fertilización por alteración de la capacitación espermática, ocasionando defectos intracelulares en la movilidad.

6.4.3 Volumen de eyaculado. Se obtuvo un promedio de 0,3 ml por eyaculado con una variabilidad alta de 44,1 %, en este sentido Kathy Pinduisaca⁸⁹ reporta la evaluación de su protocolo con 4 muestras experimentales obteniendo una variabilidad moderada, este valor nos indica que no hay una homogeneidad en los datos además de la falta de muestras para poder disminuir este valor y así brindar una mayor confiabilidad a esta característica, el valor promedio se encuentra por encima de los datos reportados por Carmelina García y Jesús Moncayo⁹⁰ quien obtuvieron 0,1 ml y se encuentra por debajo de los datos reportados por Wilder Quispe⁹¹ de 0,6ml para la línea andina y 0,8 ml para la línea Perú y muy cercanos a los datos reportados por Kathy Pinduisaca citada por Sheyla Aragón con un promedio de 0,22 ml⁹² y Freud citado por Sheyla Aragón con 0,5 ml por medio de la técnica de electroeyaculación⁹³.

Las diferencias de los valores reportados por estos autores con respecto a los obtenidos en esta investigación pueden variar debido a la edad de los cuyes, estrés por manipulación, falta de acostumbramiento, la frecuencia de recogida, así como por las diferencias entre sementales y la técnica con la que se colectó la muestra seminal. Wilder Quispe⁹⁴ sostiene que la muestra de semen se obtiene mediante un procedimiento sencillo, especialmente si se trata de animales acostumbrados a que rutinariamente se les extraiga semen, caso contrario requiere de entrenamiento y un poco más de tiempo para que el animal eyacule una muestra representativa. De esta manera con volúmenes tan pequeños se hace más difícil el manejo en el laboratorio, por lo cual para esta investigación se limitó el número y tipo de pruebas para su evaluación.

⁸⁷QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 65.

⁸⁸Ibíd., p. 67.

⁸⁹ARAGON, Sheyla. Op. cit., p. 7.

⁹⁰GARCÍA, Carmelina y MONCAYO, Jesús. Op. cit., p. 23.

⁹¹QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 37-39.

⁹²ARAGON, Sheyla. Op. cit., p. 7.

⁹³Ibíd., p. 7.

⁹⁴QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 13-14.

6.5 CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS

6.5.1 Motilidad y tipo de movimiento Se encontró un promedio de motilidad de 70 % con una variabilidad baja de sus datos de un 18,45 %, Sheyla Aragón⁹⁵ reporta para esta característica una variabilidad del 11.10 % en 5 muestras experimentales que fue objeto de su investigación indicándonos homogeneidad en los datos reportados pero debido a las pocas muestras obtenidas la confiabilidad de la característica se ve reducida, el porcentaje de motilidad de 70 % es mayor comparándolo con los valores reportados por Kathy Pinduisaca⁹⁶ quien obtuvo 0 % de motilidad y manifiesta que esos resultados se pueden deber a deficiencias nutricionales. Por otro lado los valores obtenidos son muy cercanos al valor reportado por Freud citado por Sheyla Aragón⁹⁷ con 66 % de motilidad, este porcentaje se lo considera bueno ya que se encuentra entre el 60 y 79 % y es aceptable según Wilder Quispe ya que se encuentra por encima del mínimo aceptado del 50 %; así mismo sostiene que los patrones de natación de los espermatozoides de cuy son curvilíneos y se caracterizan por una progresión irregular, en comparación con el toro o los espermatozoides humanos; en contraste con esta afirmación, Sisk citado por Wilder Quispe⁹⁸ señala que los espermatozoides de cuyes tienen un movimiento curvilíneo con progresión hacia adelante irregular y la formación de rouleaux (paquetes) puede causar dificultades en la clasificación de la motilidad espermática en esta especie, en esta investigación se observó tres tipos de movimientos: desplazamiento en círculo y algunos progresivos, movimientos progresivos y sinuosos y movimientos progresivos rápidos.

Daniela Tapia y Diego Tello⁹⁹ exponen que la motilidad del esperma 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.

J Graham¹⁰⁰ indica que la motilidad progresiva, morfología normal, metabolismo energético activo, capacidad para desarrollar una motilidad híper-activada, integridad estructural y funcional de la membrana, integridad de las enzimas asociadas a la fecundación, capacidad de penetración y transferencia óptima del material genético son las cualidades que deben tener los espermatozoides de un eyaculado fecundante. Sin embargo, este análisis integral es muy difícil de desarrollar, debido a la enorme complejidad inherente de la función espermática.

⁹⁵ARAGON, Sheyla, Op. cit., p. 50.

⁹⁶PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 35.

⁹⁷ARAGON, Sheyla, Op. cit., p. 8.

⁹⁸QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 25.

⁹⁹TAPIA, Daniela Y TELLO, Diego. Op. cit., p. 20.

¹⁰⁰GRAHAM, J. Crio preservación of stallion spermatozoa. [en línea]. Te veterinario clínicos ofertas North América. Equine practice. P 131. [consultado: 5 de mayo de 2020]. Disponible en internet: [https://doi.org/10.1016/s0749-0739\(17\)30300-0](https://doi.org/10.1016/s0749-0739(17)30300-0)

Rubio et al., citado por Wilder Quispe¹⁰¹ sostienen que las evaluaciones microscópicas de motilidad son en su mayor parte subjetivas por lo que pueden estar sujetas a variaciones según el observador; sin embargo la motilidad espermática es una característica fundamental a tener en cuenta en la calidad seminal.

6.5.2 Aglutinación. Se observó nula aglutinación en una sola muestra, 5 muestras con aglutinación leve y una muestra con aglutinación media; Alejandro Avalos¹⁰² señala que, para ser considerada como aglutinación, esta unión se debe dar entre: cabeza-cabeza, cabeza-cola, cola-cola. Descartando que sea alguna aglutinación inespecífica como la que ocurre al unirse los espermatozoides a células epiteliales presentes en el eyaculado, en estos resultados se pudo observar formaciones de paquetes lo que para Sisk citado por Wilder Quispe¹⁰³ son agrupaciones cabeza a cabeza denominada rouleaux y que se puede afirmar es una característica propia del semen de cuy.

Según Dukes y Swenson, citados por Wilder Quispe¹⁰⁴ 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; esta característica es importante en la valoración seminal ya que puede afectar directamente la motilidad e interfiriendo en el conteo de la concentración espermática.

6.5.3 % de espermatozoides vivos y muertos. Las pruebas de laboratorio reportaron una media de 96 % con una variabilidad muy baja de 4,7 % indicando homogeneidad en los datos pero con base a lo señalado por Alejandro Avalos quien sugiere que para realizar el procedimiento se toman 4 µl de la muestra con espermatozoides y se mezclan con 4 µl de solución de eosina al 0,5 % mezclando suavemente y permitiendo la tinción por dos minutos y posteriormente observando en diferentes campos de visualización en el microscopio, se determinó que la proporción eosina/semen no es la adecuada, debido a que ésta característica está relacionada con la motilidad obtenida de 70 % descartando la confiabilidad del valor reportado para la característica de espermatozoides vivos y muertos además se limitó la cantidad de pruebas debido a la cantidad mínima de semen colectado.

El valor reportado en esta investigación se pudo deber además a factores como temperatura a la cual se mantuvo las muestras y a que el método de tinción eosina no era el adecuado pudiéndolo variar este reactivo por nigrosina o combinación de los dos reactivos en futuras investigaciones y Hernández citado por Kathy

¹⁰¹QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 41.

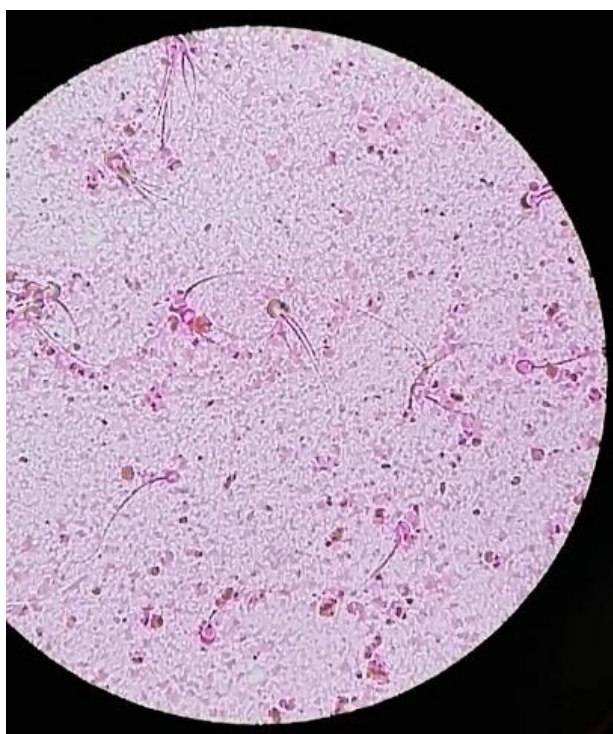
¹⁰²AVALOS, Alejandro. Op. cit., p. 31.

¹⁰³QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 25.

¹⁰⁴Ibíd., p. 22.

Pinduisaca¹⁰⁵ afirma que la viabilidad espermática se determina con la evaluación de la integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides y cuando hay alteraciones en los componentes estructurales y fisiológicos de los espermatozoides el principal factor asociado es el estrés oxidativo por la desestabilización del sistema antioxidante, afectando directamente a la sobrevivencia y capacidad fecundante, por otra parte sostiene que vitaminas como la E y algunos minerales como el selenio, zinc, manganeso, hierro y cobre ejercen protección contra el daño oxidativo, en la figura 19 se observa la tinción de los espermatozoides por eosina y como la membrana es permeable a esta tinción.

Figura 19. Tinción Eosina, observación de espermatozoides vivos y muertos



6.5.4 Concentración espermática. Los resultados de laboratorio indicaron una concentración espermática en promedio de 14,6 millones de espermatozoides/eyaculado presentando esta característica una variabilidad moderada de 32,98 % indicándonos la irregularidad de los datos y la necesidad de aumentar las muestras objeto para maximizar la confiabilidad, el promedio de esta característica supera a los expuestos por Kathy Pinduisaca citada por Sheyla Aragón¹⁰⁶ con un valor de 11,02 millones de espermatozoides, valores cercanos a

¹⁰⁵PINDUISACA, Kathy. Op. cit., p. 39.

¹⁰⁶ARAGON, Sheyla, Op. cit., p. 9.

los datos reportados por Freud citado por Sheyla Aragón¹⁰⁷ de 13,37 millones de espermatozoides mediante la técnica de la electroeyaculación.

Loor citado por Sheyla Aragón¹⁰⁸ reporta un valor de 256,8 millones de espermatozoides los cuales fueron extraídos directamente del epidídimo, lo que no sería conveniente ya que para realizar este procedimiento el cuy debe ser sacrificado o por medio de microcirugía extirpar uno de los testículos ocasionándole daño físico al animal; con la técnica utilizada en esta investigación se redujo el daño físico manteniendo al cuy en un estado adecuado para futuras reproducciones después de la extracción.

Finalmente, Petrunkina y Harrison citados por Wilder Quispe¹⁰⁹ indican que la importancia de la determinación 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, se considera como valor aceptable, una concentración de no menos de 750.000 espermatozoides por milímetro cúbico para aceptar el eyaculado para congelación, en la figura 20 se observan los 16 cuadros que contiene la cámara de Neubauer para el conteo de espermatozoides.

Figura 20. Conteo de espermatozoides en cámara de Neubauer (16 cuadros)



¹⁰⁷ARAGON, Sheyla, Op. cit., p. 9.

¹⁰⁸Ibíd., p. 9.

¹⁰⁹QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 16.

6.5.5 Formas anormales. Al determinar esta característica se obtuvo un porcentaje promedio de 13,57 % de espermatozoides con formas anormales teniendo una variabilidad baja de un 22,05 %, Wilder Quispe¹¹⁰ sustenta que las formas de los espermatozoides son una característica importante ya que ésta afecta la motilidad y la fertilidad del semen y que el rango de aceptabilidad debe ser inferior al 30 % de espermatozoides con formas anormales y observó en su investigación que el 9,33 % de los espermatozoides presentó formas anormales para la raza Perú y 9 % para la Andina respectivamente; valor ligeramente inferior al reportado en esta investigación de 13,57 % resultado que puede estar relacionado a la tinción o a los reactivos usados en su determinación y no a defectos ocasionados en los testículos o a factores intrínsecos del animal.

Daniela Tapia y Diego Tello¹¹¹ explican que en el análisis morfológico se debe reconocer que los espermatozoides del cuy presentan una forma ovalada y ensanchada en la parte superior. Pero cualquier otra forma o alteración en la cabeza, pieza intermedia o cola debe ser considerado como anormalidad.

Las formas anormales presentes en las muestras analizadas fueron: espermatozoides en forma de látigo, partidos, desprendidos y sueltos, según el manual de inseminación del equipo técnico Kubus¹¹² y se observó en los resultados de esta investigación que los espermatozoides de cuy, suelen agruparse en paquetes que algunos autores denominan rouleaux unidos cabeza a cabeza, esta observación concuerda con lo reportado por Alberto Caycedo citado por Daniela Tapia y Diego Tello¹¹³, quien menciona que los espermatozoides del cuy se agrupan en paquetes de 5 a 7 espermatozoides, acoplados cabeza con cabeza, en su mayoría se pudo evidenciar paquetes de 6 espermatozoides como se observa en la figura 21 y en la figura 22 se observa un espermatozoide en forma de látigo.

¹¹⁰QUISPE, Wilder. Op. cit., p. 62.

¹¹¹TAPIA, Daniela Y TELLO, Diego. Op. cit., p. 38.

¹¹²KUBUS S.A, Op. cit., p. 37.

¹¹³TAPIA, Daniela Y TELLO, Diego. Op. cit., p. 38.

Figura 21. Muestra de semen fijada con citrato formal visualización a 40X, espermatozoide en forma de látigo

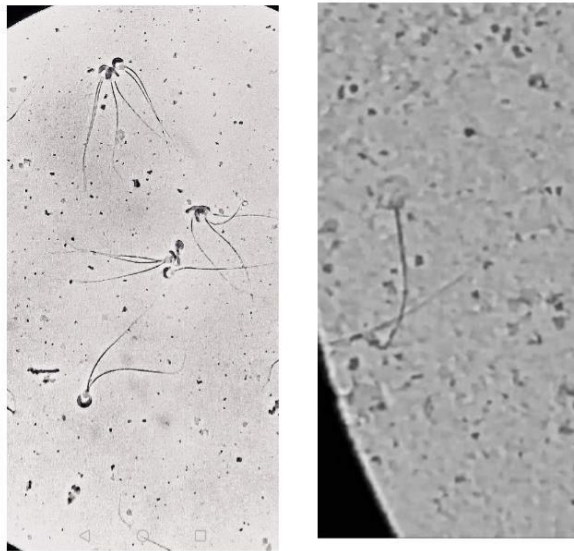


Figura 22. Paquete de 6 espermatozoides



7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

- El diseñar y construir un electroeyaculador experimental facilita el proceso de extracción de semen en una especie como el cuy, dado que el tamaño y forma de los genitales no permite utilizar de manera eficiente otra técnica de extracción seminal.
- La elaboración del protocolo para el manejo del electroeyaculador experimental resultó poco eficiente para la extracción de semen aunque no se presentó daño físico ni muerte de los animales, la integración de las características macroscópicas y microscópicas del semen de cuy son de gran importancia a la hora de evaluar al macho reproductor; sin embargo, la baja efectividad en los 23 cuyes a los que no se logró extraer el semen, se debe posiblemente a factores externos como el ambiente de extracción, a la no adaptación de la técnica empleada, referente al voltaje, impulsos y la profundidad de inserción del transductor.
- El protocolo de laboratorio resultante fue exitoso al evaluar todas las características macroscópicas y microscópicas exceptuando la valoración de espermatozoides vivos y muertos teniendo como resultados: coloración del semen blanco lechoso con algunas coloraciones amarillentas, volumen 0,3ml, pH de 7, motilidad de 70%, espermatozoides vivos y muertos 96%, concentración espermática $14,6 \times 10^6$ espermatozoides/eyaculado y formas anormales del 13,57%.
- En la producción comercial de cuyes el manejo de parámetros reproductivos proporciona una información técnica y precisa para tomar decisiones sobre la producción cuyícola.

7.2 RECOMENDACIONES

- Para minimizar el estrés y obtener una mejor respuesta a la técnica de electroeyaculación en los cuyes, es recomendable mejorar el ambiente de los animales como es el aumento del área de las jaulas individuales, someterlos a períodos de adaptación y entrenamiento amplios eligiendo espacios donde no haya ruido hasta conseguir el acostumbramiento de la técnica.
- Se recomienda ajustar el protocolo del electroeyaculador referente a factores ambientales, manipulación teniendo una mesa de inmovilización y replantear la programación del electroeyaculador en cuanto al voltaje, estímulos por segundo o minuto y los descansos establecidos.

- Ajustar la técnica de tinción, modificando la proporción del reactivo/semén y evaluar la adición de nigrosina para la evaluación de espermatozoides vivos y muertos para obtener así un resultado coherente frente a las características microscópicas evaluadas.
- Es importante que para futuras investigaciones se aumente el número de muestras para mejorar los parámetros de las características evaluadas y generar así una mayor confiabilidad de los datos reportados.

BIBLIOGRAFIA

ALEMANY, Alexandra. Estudio molecular de la meiosis en mamíferos. [en línea]. Tesis doctoral. En: Universidad de la Illes Balears, Palma de Mallorca 2017, 230 p. [consultado: 29 de julio de 2020]. Disponible en internet: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/458994/tesamas1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

ALIAGA, Rodríguez, et al. Producción de cuyes. 1 ed. Lima-Perú: fondo editorial de la Universidad católica Sedes Sapientiae. 2009, 808 p.

ARAGON, Sheyla. Características macroscópicas, microscópicas, estimación de parámetros de motilidad y determinación de subpoblaciones espermáticas en semen de cuy [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de ingeniero zootecnista. Cusco La Raya, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, facultad de Ciencias Agrarias. 2019, 103 p. [Consultado: 24 de febrero de 2020].

Disponible en Internet: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/UNSAAC/4280>

ARENCIBIA, Daniel y ROSARIO, Luis. Consideraciones practicas acerca de la calidad del semen de conejos aplicados en estudios de toxicología de la fertilidad [en línea]. En: revista electrónica de veterinaria. España 2009, 16 p.

Disponible en internet:

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63617143011>

ARIETA, Román, et al. Métodos de extracción de semen bovino. [en línea]. Revista Red Vet. México. 2009, 9 p. Vol. 15, núm. 05. [Consultado: 29 de julio de 2020].

Disponible en internet: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050514.html>

AVALOS, Alejandro, *et al.* Recolección y manipulación seminal in vitro. [en línea]. En: Universidad Autónoma Metropolitana, ciudad de México 2018, 58 p. [Consultado: 27 de septiembre de 2019]. Disponible en internet: www.casadelibrosabiertos.uam.mx/contenido/contenido/Libroelectronico/recoleccion_manipulacion.pdf

CAYCEDO, Alberto. Experiencias investigativas en la producción de cuyes contribución en el desarrollo técnico de la explotación. 1 ed. Pasto-Colombia 2000, 323 p.

CHAUCA, Lilia. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*) [en línea]. En: Instituto Nacional de Investigación Agraria. La Molina 1997. [Consultado: 12 de septiembre de 2019]. Disponible en Internet: <http://www.fao.org/3/W6562S/w6562s01.htm>

FREUND, M. Interrelationships among the characteristics of guinea-pig semen collected by electro-ejaculation. J Reprod Fertil. [En línea].1969, 393-403 p. [Consultado: 20 de abril de 2020]. Disponible en Internet: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0190393>

GARCÍA, Carmelina y MONCAYO, Jesús. Crio conservación de semen e inseminación artificial en cuyes (*Cavia porcellus*). Trabajo de grado para obtener el título de zootecnista. Universidad de Nariño. Facultad de Ciencias Pecuarias. Programa zootecnia. Pasto 1997, 83 p.

GÓMEZ, Carlos. Evaluación de la efectividad de un electro-eyaculador experimental comparado a uno de marca comercial en ovinos [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de médico veterinario y zootecnista. Universidad central del Ecuador. Quito 2013, 93 p. [Consultado: 12 de septiembre de 2019]. Disponible en internet: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/4292/1/T-UCE-0014-49.pdf>

GRAHAM, J. Crio preservación of stallion spermatozoa. [en línea]. Te veterinario clínicos ofertas Northz América. Equine practice. 131-147 p. [consultado: 5 de mayo de 2020]. Disponible en internet: [https://doi.org/10.1016/s0749-0739\(17\)30300-0](https://doi.org/10.1016/s0749-0739(17)30300-0)

IDEAM. Instituto de hidrología, meteorología y estudios ambientales. San Juan de Pasto. 2019.

LOOR, Alex. Caracterización morfológica del espermatozoide del cobayo (*Cavia porcellus*) en el cantón Latacunga [en línea]. Tesis previa a la obtención del título de médico veterinario y zootecnista. Universidad técnica de Cotopaxi unidad académica de ciencias agropecuarias y recursos naturales carrera de medicina veterinaria. Latacunga-Ecuador 2015, 69 p. [Consultado: 18 de septiembre de 2019].

Disponible en Internet:
http://tarwi.lamolina.edu.pe/~emellisho/Reproduccion_archivos/Practica%201-aparato%20macho%20hembra.pdf.

LÓPEZ, Javier. Tecnologías y biotecnologías de la reproducción colecta y crio-preservación de semen [en línea]. Nicaragua 2016, 100 p. [Consultado: 5 de septiembre de 2019]. Disponible en Internet:
https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Reproduccion_Animal.pdf

Manual práctico para profesionales, inseminación artificial porcina, equipo técnico KUBUS, S.A. Las Rosas Madrid. 97 p.

PINDUISACA, Kathy. Colecta y evaluación de semen de cuyes (*Cavia porcellus*), extraído por la técnica de electro eyaculación [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de médico veterinario zootecnista. Centro Experimental Uyumbicho, Universidad central del Ecuador, facultad de medicina veterinaria y zootecnia, 2018. 70 p. [Consultado: 12 de septiembre de 2019].

Disponible en Internet:
https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15292/1/TUCE00140702018.pdf&ved=2ahUKEwj_q73iYPIAhWK2FkKHc9dDVwQFjAAegQIBxAC&usq=AOvVaw0odurEt0laokfmV62gp2BL

QUISHPE, Mauricio y BRAHONA, Carolina. Inducción de súper ovulación de cobayas primerizas, usando gonadotropina sérica con tres dosis diferentes. (en línea). Trabajo de grado para obtener el título de médico veterinario zootecnista, 2012. 120 p. [Consultado: 20 de septiembre de 2019].

Disponible en internet: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/653>

QUISPE, Wilder. Características espermáticas y calidad del semen de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*) [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de doctor en ciencias. Universidad nacional de Cajamarca escuela de posgrado. Perú 2018, 142 p. [Consultado: 12 de septiembre de 2019].

Disponible en Internet:
<https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/2132/CARACTER%25C3%258DSTICAS%2520ESPERM%25C3%2581TICAS%2520Y%2520CALIDAD%2520DEL%2520SEMEN%2520DE%2520DOS%2520RAZAS%2520DE%2520CUYES%2520%2528Cavia%2520porcellus%2529%252C%2520EN%2520EL%2520V.pdf%3Fsequence%3D1%26isA>

llowed%3Dy&ved=2ahUKEwiH_P6xmZTpAhWDI-
AKHScKAsgQFjABegQIBxAH&usg=AOvVaw2rhHUe_uZ0kWD7wzGXZmm4

RAE. Real Academia Española. Diccionario de la lengua española. Vigésima segunda edición. 2001.

TAPIA, Diego y TELLO, Daniela. Evaluación cuali-cuantitativa de espermatozoides de la cola del epidídimo de cuyes (*cavia porcellus*) criollos y mejorados en dos edades reproductivas [en línea]. Trabajo de grado para obtener el título de médico veterinario y zootecnista. Universidad central del Ecuador, facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Quito 2018, 119 p. [Consultado: 5 de septiembre de 2019]. Disponible en Internet: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/25404/1/TESIS%20Tapia-Tello.pdf>

VIVAS, Jerry. Especies Alternativas: Manual de Crianza de Cobayos (*Cavia porcellus*) [en línea]. En: Universidad Nacional Agraria, Managua, NI. Managua. 2009, 49 p. [consultado: 13 de septiembre de 2019]. Disponible en internet: <http://repositorio.una.edu.ni/2472/1/RENLO1V856.pdf>