

Artículo original:

AVANCES EN LA DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DEL ESPERMATOZOIDE DE ALPACA EN SEMEN DILUIDO USANDO EL INTEGRATED SPERM ANALYSIS SYSTEM (ISAS)

Progress in the Determination of Alpaca Sperm Velocity in Diluted Semen Using the Integrated Sperm Analysis System (ISAS)

Ordóñez C.; E. Ampuero; H. Cucho;
E. Franco.

INTRODUCCIÓN

Universidad Nacional de San Antonio Abad del
Cusco – UNSAAC.

*Email: cesaro7776@hotmail.com,
hernancucho@yahoo.com

Palabras Clave:

Espermatozoide, alpaca, CASA, movilidad

La motilidad del espermatozoide, en términos generales se refiere al movimiento activo de los espermatozoides, este es un requisito para que estos puedan colonizar el oviducto durante la fase de transporte espermático en tracto genital de la hembra (Holt y Van Look, 2004), en el caso de los camélidos la mayoría de espermatozoides de un eyaculado sin diluir muestran movimiento oscilatorio sobre sí mismo, solamente del 5 al 10% tiene movimiento progresivo (Bravo *et al*, 1997).

Actualmente, los sistemas de análisis seminal asistidos por computadora (CASA) permiten efectuar una valoración más precisa de la motilidad espermática, ya que permiten distinguir entre espermatozoides con distintos tipos de movimiento y velocidad. Con el presente estudio se espera iniciar la determinación de las velocidades del espermatozoide de alpacas en semen diluido con el Integrated Sperm Analysis System (ISAS).

MATERIALES Y METODOS

El estudio se llevó a cabo entre diciembre del 2011 y febrero del 2012, en el Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos (CICAS) La Raya de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, con alturas que van de los 4200 y 5100 metros de altitud.

Se utilizó una alpaca macho de la raza Huacaya de 7 años de edad con un peso de 65 kg, su alimentación era en pradera nativa.

La colección de semen se realizó por electroeyaculación, bajo anestesia general, según la técnica descrita por Director *et al*. (2007) en dos oportunidades y con un intervalo de 21 días entre colecta.

En el análisis de las características macroscópicas del semen, se consideró: Volumen (ml) y filancia (mm). El semen colectado fue diluido con Triladyl® para ovinos hasta lograr una concentración de 30 a 35 millones por ml.

Se uso el ISASD4C (placa de conteo) de 20 µm de altura, en la cual se colocó 5 µl de semen diluido. El eyaculado fue evaluado en el módulo de motilidad del Integrated Sperm Analysis System (ISAS), empleando el lente de 10X de contraste de fase negativo de un microscopio de contraste de fases y fluorescencia UB200i con cámara. Se usaron dos configuraciones en cada evaluación (captura de 25 fotos y 50 fotos por segundo), capturándose al menos 200 células espermáticas en cada análisis.

Las variables evaluadas fueron:

- VCL: Velocidad curvilínea en micras/segundo
- VSL: Velocidad lineal en micras/segundo
- VAP: Velocidad promedio en micras /segundo
- STR: Índice de rectitud (VSL/VAP) en porcentaje
- LIN: Índice de linealidad (VSL/VCL) en porcentaje

- WOB: Índice de oscilación (VAP/VCL) en porcentaje
- ALH: Amplitud del movimiento lateral de la cabeza (micras/segundo)
- BCF: Frecuencia de batida de la cabeza en Hz

La distribución normal de los datos se evaluó con el test de Kolmogorov – Smirnov, para las variables normalmente distribuidas se empleó un arreglo factorial con las configuraciones en la captura de fotos y el número de colectas como fuentes de variabilidad, y las medias analizadas con la prueba de Duncan. Las variables que no presentaban distribución normal se analizaron con el test de Kruskal – Wallis; todos los cálculos estadísticos se realizaron en el SAS 9.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El promedio del volumen colectado fue de 1.4 ml, con una filancia de 16 mm, la concentración promedio fue de 62 millones de espermatozoides por ml.

Con las configuraciones de captura de 25 y 50 fotos por segundo se evaluaron 2 colectas, como se detalla en la tabla 1.

Tabla 1. Espermatozoides capturados por configuración y colecta

GÉNERO MORFOTIPO	25 fotos por segundo		50 fotos por segundo	
	1ra colecta (%)	2da colecta (%)	1ra colecta (%)	2da colecta (%)
Estáticos	274 (85.4)	212 (82.5)	270 (86.5)	186 (79.5)
Móviles no progresivos	25 (7.8)	12 (4.7)	13 (4.2)	19 (8.1)
Móviles progresivos	22 (6.8)	33 (12.8)	29 (9.3)	29 (12.4)
Total	321 (100.0)	257 (100.0)	312 (100.0)	234 (100.0)



Los espermatozoides que muestran movimiento progresivo se hallan entre el 6.8 al 12.8%, similar a lo reportado por Bravo *et al.* (1997). Las características generales de velocidad de los espermatozoides de alpacas se muestran en la tabla 2, los valores hallados son menores a los reportados en burros catalanes (Miró *et al.*, 2005), ovinos (Bravo *et al.*, 2011), vacunos (Muiño *et al.*, 2009), entre otros. En relación a las desviaciones estándar, éstas son elevadas como las describieron los autores antes mencionados.

Tabla 2. Características generales de las velocidades de los espermatozoides de alpacas.

Variable	N	Promedio	DS	CV (%)	Test K - S
VCL (µm/s)	113	68.2309	17.7307	25.9863	0.0540
VSL (µm/s)	113	19.9168	8.1448	40.8942	<0.0100
VAP (µm/s)	113	38.2230	13.3638	34.9627	0.0221
STR (%)	113	52.9743	14.5569	27.4792	>0.1500
LIN (%)	113	29.3460	9.8893	33.6990	0.1136
WOB (%)	113	56.6389	15.3544	27.1092	<0.0100
ALH (µm/s)	113	2.7761	1.2719	45.8159	<0.0100
BCF (Hz)	113	7.6416	2.8961	37.8997	<0.0100

5 { desviación estándar CV Coeficiente de variabilidad

Según el test de normalidad de Kolmogorov – Smirnov (test K-S), las variables de velocidad curvilínea, índice de rectitud y de linealidad presentan distribución normal; la velocidad curvilínea muestra diferencias altamente significativa entre la configuración de captura (P<0.01) y el índice de rectitud entre colectas (P<0.05) y la interacción de configuración por colectas (P<0.01).

Las demás variables se analizaron con el test de Kruskal-Wallis, los que se muestran en la tabla 3, hallándose en todos ellos diferencias altamente significativas (P<0.01) entre la configuraciones de captura (25 y 50 fotos por segundo)

Tabla 3. Características de las velocidades de espermatozoides de alpacas según la configuración de captura de fotos y número de colecciones

Configuración	N	VCL (µm/s)	VSL (µm/s)	VAP (µm/s)	STR (%)	LIN (%)	WOB (%)	ALH (µm/s)	BCF (Hz)
Captura									
25 fotos/s	55	69.89**	18.36*	33.92**	54.17 _{NS}	26.48**	49.37**	3.79**	6.46**
50 fotos/s	58	66.65**	21.39*	42.31**	51.84 _{NS}	32.07**	63.53**	1.81**	8.76**
Colecta									
Primera	51	68.81 _{NS}	20.22 _{NS}	36.09 _{NS}	56.08*	29.54 _{NS}	52.98**	2.74 _{NS}	8.24 _{NS}
Segunda	62	67.76 _{NS}	19.67 _{NS}	39.97 _{NS}	50.42*	29.19 _{NS}	59.65**	2.81 _{NS}	7.15 _{NS}

** (P<0.05) * (P<0.05) NS: no significativo

CONCLUSIONES

Se ha iniciado la determinación de velocidades del espermatozoide de alpacas (8 variables) en semen diluido, todos muestran desviaciones estándar altas como ocurre con otras especies. Evaluando dos configuraciones de captura de fotos, se ha encontrado diferencias significativas (P<0.01) altamente significativas y P<0.05, en la mayoría de casos es mayor cuando se capturó 50 fotos por segundo.

En relación a las dos colectas realizadas, en la mayoría de variables no se halló diferencias significativas.

BIBLIOGRAFIA

- Bravo J.; J. Montanero; R. Calero; T.J. Roy .2011. Identification of sperm subpopulations with defined motility characteristics in ejaculates from Ile de France rams. *Animal Reproduction Science*. 129: 22-29.
- Director A.; S. Giuliano; M. Carretero; M. Pinto; V. Trasorras; M. Miragaya. 2007. Electroejaculation and seminal characteristics in llama (Lama glama). *J. Camel. Pract. Res*. 14(2):203-206
- Holt W.V.; K.J. Van Look. 2004. Concepts in sperm heterogeneity, sperm selection and sperm competition as biological foundations for laboratory test of semen quality. *Reproduction*, 127 (5): 527-535.
- Miró J.; V. Lobo; A. Quintero- Moreno; A. Medrano; A. Peña; T. Rigau. 2005. Sperm motility patterns and metabolism in Catalanian donkey semen. *Theriogenology*, 63: 1706-1716.
- Muiño R.; A.I. Peña; A. Rodríguez; C. Tamargo; C. Hidalgo. 2009. Effects of cryopreservation on the motile sperm subpopulations in semen from Asturiana de los Valles bulls. *Theriogenology*, 72: 860-868

