

Artículo corto:

**ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS DE MOVILIDAD EN
ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMARIOS DE UN ZORRO ANDINO
(*Lycalopex culpaeus andinus*) MEDIANTE EL ISAS®**

**Epididymal sperm motility patterns in a culpeo fox (*Lycalopex culpaeus andinus*)
by ISAS®**

H. Cucho, C. Ordoñez, E. Ampuero, V. Alarcón, H. Quispe

Carrera Profesional de Zootecnia, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Perú

Email (H. Cucho): hernancucho@yahoo.com , (C. Ordoñez): cesaro7776@hotmail.com

RESUMEN

ABSTRACT

El objetivo de este estudio fue estimar los parámetros de movilidad de los espermatozoides epididimarios de un zorro andino evaluado por el Integrated Semen Analysis System - ISAS®. Se trabajó con los dos epididímos de un zorro adulto, los que fueron lavados usando un diluyente a base de Tris. Se capturaron 25 imágenes por segundo de las muestras obtenidas y se determinaron los diferentes patrones de movilidad (VCL, VSL, VAP, LIN, STR, WOB, ALH y BCF) de los espermatozoides del zorro andino.

Palabras clave: *Lycalopex culpaeus andinus*, *parámetro movilidad*, *espermatozoide*, *ISAS*

The objective of the present study was to estimate the patterns of epididymal sperm motility of a culpeo fox using the integrated semen analysis system – ISAS ®. Two epididymides adult fox were studied. Tris based diluents were used to wash the epididymides. Twenty five images were captured per second of the samples collected. The different motility patterns (VCL, VSL, VAP, LIN, STR, WOB, ALH and BCF) of sperm of the culpeo fox were determined.

Keywords: *Lycalopex culpaeus andinus*, *motility patterns*, *spermatozoa*, *ISAS*



INTRODUCCIÓN

El zorro andino (*Lycalopex culpaeus andinus*), es una especie que tiene una amplia distribución en la serranía del Perú encontrándolo desde las zonas de valle hasta las altas punas. Según la legislación peruana es una especie que no se halla dentro de las especies amenazadas de fauna silvestre legalmente protegidas. No hay reportes de las características seminales de esta especie, por lo que el presente estudio trata de estimar los parámetros de movilidad de los espermatozoides epididimarios del zorro andino empleando un sistema computarizado de análisis de semen (ISAS®).

Este estudio generará información que contribuirá a incrementar los conocimientos en este campo, pues es sabido que las especies silvestres muestran muchas dificultades reproductivas cuando se hallan en cautiverio.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio fue realizado entre agosto y septiembre del 2013 en el Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos (CICAS) La Raya de la Facultad de Agronomía y Zootecnia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (4200 a 5100 metros de altitud).

Las muestras de los espermatozoides se obtuvieron de los epidídimos de un zorro andino adulto (entre 2 – 4 años de edad) y de 9 kg de peso corporal. Los epidídimos fueron conservados a 37°C hasta su arribo al laboratorio (1 hora) y se procesaron inmediatamente a la llegada de los mismos. Los espermatozoides fueron colectados de la porción caudal de los epidídimos, este método proporciona mejores muestras que las obtenidas por electroeyaculación y pueden ser criopreservadas y usadas en inseminación artificial o fertilización *in vitro* (Gomendio *et al.*, 2006).

Los epidídimos fueron lavados con 0.3 ml de un diluyente a base de Tris (Tris: 3.025 g; ácido cítrico: 1.7 g, fructuosa: 1.25 g, agua bidestilada: 100ml) (Souza, 2009) y posteriormente se seccionaron con un bisturí. Un alícuota de 5 µl fue colocada en un microscopio UOP – UB200i, equipado con un lente de 10X de contraste de fase negativo para verificar la existencia de espermatozoides.

La movilidad del eyaculado fue evaluada en el módulo de movilidad del Integrated Semen Analysis System (ISAS® v1.2), un sistema computarizado de análisis de semen (Proiser R+D, Paterna, Valencia, España), que emplea un microscopio UOP – UB200i. Muestras de 5 µl se analizaron con un lente de 10X de contraste de fase negativo y platina térmica (37 °C); la señal de video fue adquirida con una video cámara Proiser 782C. Se capturaron 25 imágenes por segundo, analizando a los espermatozoides en la configuración establecida para perros. Las áreas de las partículas capturadas estuvieron comprendidas entre 5 y 80 µm², se utilizó una progresividad de 75% del STR (índice de rectitud) y una conectividad de 14, capturándose no menos 1600 células espermáticas por cada epidídimo en 10 campos.

Se determinó el porcentaje de espermatozoides estáticos, móviles progresivos y móviles no progresivos. También se determinaron los parámetros de velocidad de los espermatozoides: velocidad curvilínea (VCL), velocidad

rectilínea (VSL), velocidad media (VAP), índice de rectitud (STR), índice de linealidad (LIN), índice de oscilación (WOB), amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) y frecuencia de batida de la cabeza (BCF).

La concentración de espermatozoides (millones/ml), se evaluó en el ISAS® empleando la misma muestra utilizada para evaluar la movilidad.

Al ser un estudio de reporte de caso, se empleó la estadística descriptiva, determinándose medidas de tendencia central, variabilidad, forma y distribución. Se utilizó el procedimiento Univariate del SAS 8.0 para el análisis de los datos.

RESULTADOS

La concentración espermática fue de 33.84x10⁶ espermatozoides/ml en el epidídimo derecho y de 27.78 x 10⁶ espermatozoides/ml en el epidídimo izquierdo, con un promedio de 30.81 x 10⁶ espermatozoides/ml.

Tabla 1. Porcentajes de espermatozoides estáticos, móviles no progresivos y progresivos de los epidídimos derecho e izquierdo de un zorro andino. La movilidad espermática fue evaluada en el módulo de movilidad del Integrated Semen Analysis System (ISAS® v1.2), un sistema computarizado de análisis de semen (Proiser R+D, Paterna, Valencia, España)

	Epidídimo		Total espermatozoides	Promedio %
	Derecho (%)	Izquierdo (%)		
Estáticos	50.12	36.63	1640	44.04
Móviles no progresivos	47.58	55.03	1897	50.94
Móviles progresivos	2.30	8.34	187	5.02
	100.00	100.00	3724	100.00

Tabla 2. Parámetros de movilidad de los espermatozoides epididimarios de un zorro andino. La movilidad espermática fue evaluada en el módulo de movilidad del Integrated Semen Analysis System (ISAS® v1.2), un sistema computarizado de análisis de semen (Proiser R+D, Paterna, Valencia, España)

Parámetro	N	Promedio	DS	CV (%)	Asimetría	Curtosis
VCL (µm/s)	2084	80.4039	42.9717	53.4447	0.8494	1.4505
VSL (µm/s)	2084	27.5609	22.5609	82.6184	1.6404	4.7404
VAP (µm/s)	2084	52.5044	42.0218	80.0348	3.7222	28.1021
STR (%)	2084	34.2911	19.6622	57.3364	0.4841	-0.2661
LIN (%)	2084	52.2911	22.5978	43.2153	-0.2578	-0.6589
WOB (%)	2084	61.8582	19.5257	31.5653	0.4937	-0.4708
ALH (µm/s)	2084	3.5330	1.8069	51.1431	0.6725	0.2042
BCF (Hz)	2084	4.6287	3.1732	68.5546	0.4482	-0.0293

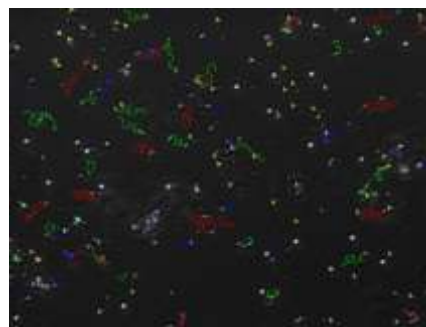


Figura 1. Campo de análisis del ISAS ® capturando espermatozoides del epidídimo derecho de un zorro andino.

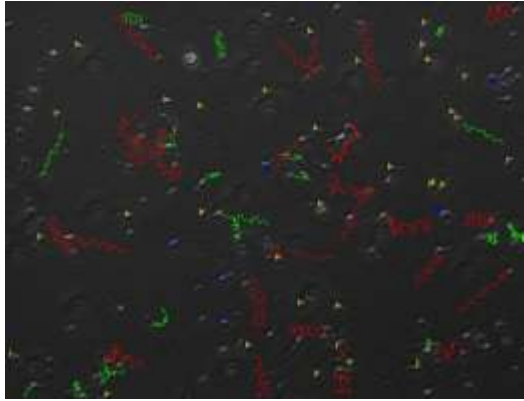


Figura 2. Campo de análisis del ISAS ® capturando espermatozoides del epidídimo izquierdo de un zorro andino

Se evaluaron 3724 espermatozoides de ambos epidídimos, y de acuerdo a los movimientos de los espermatozoides, el programa ISAS® los clasificó en estáticos, móviles no progresivos y móviles progresivos (tabla 1). El porcentaje de los espermatozoides móviles progresivos y no progresivos fue de 55.96%.

Para determinar los parámetros de movilidad de los espermatozoides se utilizaron 2084 espermas. Los resultados se muestran en la tabla 2, y en las figuras 1 y 2, se grafican los campos analizados por el ISAS®.

DISCUSIÓN

Este es el primer estudio en el que se evaluó la concentración, movilidad y los parámetros de movilidad de los espermatozoides epididimarios de un zorro andino mediante un sistema computarizado de análisis, las comparaciones se realizan con reportes realizados en perros y zorros plateados, ambas especies se encuentran en la misma Familia (Canidae). La concentración espermática obtenida en este estudio (30.81×10^6 espermatozoides/ml), es muy inferior a la reportada por Domoslawska *et al.*, (2013) en perros ($205.32 \pm 132.16 \times 10^6$ espermatozoides/ml) y por Forsberg *et al.*, (1989) en zorros plateados ($450 \pm 48 \times 10^6$ espermatozoides/ml). Las diferencias podrían deberse a que son especies diferentes, el método de colección ha sido diferente (en ambos caso por masturbación) y al hábitat de cada especie.

En relación a la movilidad, también es inferior a las reportadas en perros por Dorado *et al.*, 2011, y Domoslawska *et al.*, 2013, también es inferior a lo publicado por Forsberg *et al.*, 1989, en zorros plateados, las diferencias serían las mismas indicadas en el párrafo anterior, añadiendo que en el caso de los zorros plateados la evaluación ha sido por conteo.

Sobre los parámetros de movilidad de los espermatozoides del zorro andino, éstos muestran valores menores de VCL, VSL, VAP, LIN, STR, WOB y BCF, a los publicados por Dorado *et al.*, (2011), y Domoslawska *et al.*, (2013) en perros; solamente los valores de ALH son similares. La ALH es la desviación de la trayectoria media en términos de la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (Amann y Waberski, 2014) la similitud entre ambas especies podría deberse a que en ambas los patrones de movimiento son parecidos (figura 1 y 2).

REFERENCIAS

- Amann RP, Waberski D. Computer – assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potencial developments. *Theriogenology*. 2014; 81: 5–17.
- Domoslawska A, Zdunczyk S, Nizanski W, Janowski T. Assessment of semen quality in infertile dogs using computer – assisted sperm analysis by the Hamilton – Thorne Semen Analyser. *Bull Vet. Inst. Pulawy*. 2013; 57: 429–432.
- Dorado J, Gálvez MJ, Murabito MR, Muñoz Serrano A, Hidalgo M. Identification of sperm subpopulations in canine ejaculates: Effects of cold storage and egg yolk concentration. *Anim. Reprod. Sci.* 2011;127:106–113.
- Forsberg M, Fougner JA, Hofmo PO, Madej M, Einarsson EJ. Photoperiodic regulation of reproduction in the male silver fox (*Vulpes vulpes*). *J. Reprod Fert.* 1989; 87:115–123.
- Gomendio M, Malo AF, Soler AJ, Fernández Santos MR, Esteso M, García AJ, Roldan ERS, Garde JJ. Male fertility and sex ratio at birth in red deer. *Science*. 2006; 314: 1445 – 1447.
- Souza T. Avaliação andrológica e criopreservação de sêmen de pumas (*Puma concolor* Linnaeus, 1771) adultos. *Tesis Magister. Viçosa, Brasil. Universidad Federal de Viçosa*, 2009. 81 pp.

