

Artículo original:

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL DE ALPACAS CON SEMEN FRESCO, REFRIGERADO Y DESCONGELADO COLECTADO POR ELECTROEYACULACIÓN

Artificial insemination with fresh, cooled and thawed alpaca semen collected with electroejaculation

Ordóñez C., Cucho H., Ampuero E., Antezana W., Cayo S. INTRODUCCIÓN

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

Email: hernancucho@yahoo.com

Palabras Clave:

Alpaca, electroeyaculación, semen, inseminación

La inseminación artificial con semen criopreservado tiene un rol importante en los programas de mejora genética, no sólo por acelerar el flujo de material genético de sectores superiores a inferiores, sino por facilitar el transporte de semen, evitando el costoso traslado de los reproductores y disminuyendo los riesgos sanitarios; en los trabajos realizados por Giuliano *et al.* (2008 y 2012) se ha determinado la fertilidad en llamas inseminadas con semen fresco y refrigerado colectado por electroeyaculación, el presente estudio pretende evaluar los porcentajes de fertilidad en la inseminación artificial con semen fresco, refrigerado y descongelado colectado por el mismo método en alpacas de la raza Huacaya.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo entre marzo y agosto del 2012, 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, con alturas que van de los 4200 a 5100 metros de altitud. Se utilizó 101 alpacas, 7 alpacas machos de la raza Huacaya de 5 a 8 años de edad para la colección de semen, y 94 alpacas hembras para la inseminación artificial. El tratamiento de inseminación artificial con semen fresco comprendió 30 alpacas hembras, con semen refrigerado 31 y con semen descongelado 33 alpacas hembras. Todos los animales exentos de problemas reproductivos y alimentados en pradera nativa. La colección de semen se realizó por electroeyaculación, bajo anestesia general, según la técnica descrita por Director *et al.* (2007), se empleó un coctel de ketamina 10% (2.5 ml/100 kgPV) y xilazina 2% (0.2 ml/20 kgPV). Se empleó un electroeyaculador ElectroJac5 (Ideal Instruments) en el proceso se intercalaron períodos de estimulación eléctrica y de reposo, el voltaje se incrementaba en una unidad, generalmente los eyaculados se produjeron a los 7 voltios. El semen colectado fue diluido en base Tris – dilutor A (tris: 3.028 g, ácido cítrico: 1.7 g, fructuosa: 1.25 g, yema de huevo: 25 ml, agua bidestilada: 75 ml, gentamicina: 50 mg), este se empleó en el semen colectado para inseminar con semen fresco y refrigerado. La inseminación con semen fresco se realizó 1.5 horas después de la colección; con el semen refrigerado 24 horas después de colectado y mantenido a 4°C en un Equitainer; y con el semen descongelado 15 días después de congelado. En la congelación del semen se pasó por las siguientes etapas: dilución (dilutor A), refrigeración a 4°C por 1 hora, glicerinado (dilutor B), empajillado (pajillas de 0.5 ml), equilibrado por 1 hora y congelado en el tanque de nitrógeno.

El dilutor B contenía las mismas cantidades de tris, ácido cítrico, fructuosa, yema de huevo y gentamicina que el dilutor A, con 68 ml de agua bidestilada y 7 ml de glicerol. Se empleó un macho para detectar las hembras receptivas a las que se les indujo la ovulación con 1 ml de GnRH (Conceptase®), la inseminación se realizó 24 horas después de la inducción empleando 0.5 ml de semen fresco, refrigerado o descongelado el cual contenía entre 10 y 16 millones de espermatozoides por dosis, la inseminación fue vía transvaginal empleando un proctoscopio de uso humano y una fuente de luz.

La fertilidad se determinó a los 30 días post inseminación vía ecografía transrectal (7.5 Mhz), visualizando la vesícula embrionaria. Se evaluó el volumen (ml) y color del semen colectado por electroeyaculación; concentración (millones de espermatozoides/ml), vitalidad (%) y motilidad (%) éstas últimas en las diferentes fases del estudio.

El eyaculado fue evaluado en el módulo de motilidad del Integrated Sperm Analysis System (ISAS® v1.1), un sistema computarizado de análisis de semen (Proiser R+D, Paterna, Valencia, España), las muestras fueron examinadas usando un microscopio UOP – UB200i, equipado con un lente de 10X de contraste de fase negativo y platina caliente; la señal de video fue adquirida con una video cámara Proiser 782C. Se empleó la configuración de captura de 25 imágenes por segundo, capturándose no menos 1000 células espermáticas en cada análisis las que fueron clasificadas en estáticas, móviles progresivas y móviles no progresivas; en este módulo del ISAS® también se realizó la evaluación de la concentración de espermatozoides, ambas evaluaciones se realizaron utilizando 5 µl de muestra.



La vitalidad se determinó con tinción de Hancock. Se determinó la estadística descriptiva del volumen, concentración, vitalidad y motilidad con el procedimiento Univariate del SAS. Para evaluar el porcentaje de fertilidad de las alpacas inseminadas con semen fresco, refrigerado y descongelado, se empleó una regresión logística con el procedimiento Genmod del SAS 9.1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron 12 colecciones de semen por electroeyaculación, el volumen promedio colectado fue de 1.58 ± 1.76 ml, el color predominante fue el blanco lechoso (58.33%) con una concentración de 84.08 ± 62.92 millones de espermatozoides por ml, los espermatozoides vivos en semen fresco fue de 59%, en semen refrigerado 53%, y en semen descongelado 39%. El volumen es inferior a lo reportado por Giuliano *et al.* (2008) en llamas, las diferencias son debidas a las especies evaluadas; Fernández Baca y Calderón (1965) señalan volúmenes similares en alpacas colectadas por el mismo método, aunque reporta contaminación por orina, lo cual no ocurrió en el presente trabajo y es debido al protocolo de sedación de animales. Giuliano *et al.* (2008) señalan una menor concentración de espermatozoides lo que podría deberse a que evaluó las colectas de llamas en diferentes estaciones del año, mientras este trabajo se realizó finalizando el verano cuando los machos muestran mejores performances reproductivas; la concentración reportada por Fernández y Calderón (1965) es muy inferior y se debe al protocolo de analgesia usado. El porcentaje de espermatozoides vivos en semen fresco son inferiores a lo reportado por Giuliano *et al.* (2008); pero superiores cuando se trata de semen refrigerado a lo señalado por Giuliano *et al.* (2012), esta disminución de espermatozoides vivos a medida que se avanza en el proceso de congelación, también es reportado por dicha autora. De acuerdo a los movimientos de los espermatozoides, el programa ISAS® los ha clasificado en estáticos, móviles progresivos y móviles no progresivos, cuyos datos se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Porcentaje de motilidad de los espermatozoides (estáticos, móviles progresivos y no progresivos) en semen fresco, refrigerado y descongelado

Tipo de semen	Móvil		Estático	
	Porcentaje (%)	Nº	Porcentaje (%)	Nº
Fresco	50.15	4	43.8	45.47
Refrigerado	39.33	3	5.90	54.77
Descongelado	82.41	5	1.48	16.11

En los casos de semen fresco y refrigerado la motilidad espermática (%) es superior a lo reportado por Giuliano *et al.* (2008 y 2012); en semen descongelado es inferior a lo obtenido por Ordoñez *et al.* (2011); empero el método de evaluación es diferente a los empleados en dichos estudios. Los resultados de la inseminación artificial de alpacas con los tres tipos de semen se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Porcentaje de fertilidad a los 30 días (ecografía) post inseminación de alpacas con semen fresco, refrigerado y descongelado colectado por electroeyaculación

Tipo de semen	Alpacas inseminadas	Alpacas preñadas	% Fertilidad
Fresco	30	10	33.33 a
Refrigerado	31	9	29.03 ab
Descongelado	33	3	9.09 b

Letras diferentes (a,b) existen diferencias significativas (p<0.05)

Se ha encontrado diferencias significativas (p<0.05) en los tratamientos evaluados, las que se muestran en la tabla 2. Los porcentajes de fertilidad obtenidos empleando semen fresco son menores a los reportados por Giuliano *et al.* (2012) y similares cuando se emplea semen refrigerado, la diferencia se deberían a los protocolos de inseminación; el porcentaje de fertilidad obtenido usando semen descongelado es similar a lo obtenido por Huillcahuamán (2012) usando semen colectado por aspiración vaginal.

CONCLUSIONES

Los porcentajes de fertilidad a los 30 días post inseminación con semen fresco y refrigerado colectados por electroeyaculación son similares, el segundo de los cuales nos permitiría el transporte de semen a lugares distantes al menos 10 horas del lugar de colección. En relación al uso de semen congelado aún falta determinar protocolos que nos permitan equiparar los porcentajes de preñez a los hallados con semen refrigerado.

BIBLIOGRAFIA

- Director A, Giuliano S, Carretero M, Pinto M, Trasorras V, Miragaya M. 2007. *J Camel Pract Res* 14: 203-206
- Fernández Baca S, Calderón W. 1965. Métodos de colección de semen de alpaca. Facultad de Medicina Veterinaria – Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú 12 pg.
- Giuliano S, Director A, Gambarotta M, Trasorras V, Miragaya M. 2008. *Anim Reprod Sci* 104: 359–369.
- Giuliano S, Chaves M, Trasorras V, Gambarotta M, Neild D, Director A, Pinto M, Miragaya M. 2012. *Anim Reprod Sci* 131:204-210.
- Huillcahuamán R. 2012. *Tesis Ingeniero Zootecnista*. Facultad de Agronomía y Zootecnia. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco 86 pg.
- Ordoñez C, Ampuero E, Cucho H, Bravo W, Sánchez J. 2011. *Spermova* 1: 104–105.

