

Artículo original:

CARACTERIZACIÓN MORFOMÉTRICA DE LOS ESPERMATOZOIDES DE ALPACAS USANDO EL INTEGRATED SPERM ANALYSIS SYSTEM (ISAS)

Morphometric characterization of alpaca sperms using the Integrated Sperm Analysis System (ISAS)

Ordóñez, C.*; E. Ampuero;
H. Cucho*; G. Chalco.

Universidad Nacional de San Antonio Abad del
Cusco - UNSAAC

*Email: cesaro7776@hotmail.com
bernancucho@yahoo.com

Palabras Clave:

Espermatozoide, morfología, CASA, alpaca

INTRODUCCIÓN

La crianza de alpacas se ubica en zonas con alturas mayores a 3,800 metros de altitud, aprovechando los pastizales de tipo césped de puna y bofedales localizados en dichas áreas, siendo una de las especies domésticas más eficientes.

La morfología del espermatozoide es un componente esencial de la evaluación seminal, en muchas especies la disminución del porcentaje de espermatozoides normales esta correlacionado con una disminución de la fertilidad (Jasko *et al.*, 1990).

El análisis de la morfometría de los espermatozoides asistido por computadora (CASA) fue desarrollado para eliminar diferencias subjetivas entre operadores, éste ya fue usado en alpacas (Buendía *et al.*, 2002) y llamas (Casaretto *et al.*, 2011); con el presente estudio se espera caracterizar los espermatozoides de alpacas (de diferentes edades) con el Integrated Sperm Analysis System (ISAS) en el Centro Experimental La Raya de la UNSAAC, Cusco.

MATERIALES Y METODOS

El estudio se llevó a cabo entre febrero y julio del 2011, en el Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos (CICAS) La Raya-UNSAAC, de la Región del Cusco, de 6323 ha, con alturas que van de los 4200 y 5100 metros de altitud.

Se utilizó 25 alpacas machos de la raza Huacaya (4 a 10 años de edad) y 25 hembras, todos los animales se emplearon para la colección de semen por espéculo vaginal luego de la cópula, para lo que se empleó un proctoscopio de uso humano y un tubo colector graduado, se realizó una sola colección por macho.

En el análisis de las características macroscópicas del semen, se consideró: Volumen (ml) y filancia (mm); de las características microscópicas solamente se evaluó la morfología.

Se preparó un frotis con las muestras de semen, depositándose 5 µl en el portaobjetos, luego de secada se procedió a teñir con Diff Quick, colorante compuesto de un fijador, compuesto I y compuesto II, en cada uno de los cuales se sumerge el frotis de espermatozoides por 10 segundos, hasta que se haya fijado la tinción, la cual se deja secar por unos 20 minutos antes de su evaluación.

La muestra teñida se evaluó en el módulo de morfometría del Integrated Sperm Analysis System (ISAS), empleando el lente de inmersión 100X de un microscopio de contraste de fases y fluorescencia UB200i con cámara. El sistema delineaba los bordes de los espermatozoides fotografiados (figura 1), la búsqueda y captura de las imágenes de espermatozoides fue manual.

Se capturaron 200 espermatozoides por muestra de semen de alpaca, las medidas básicas proporcionadas por el sistema fueron: área (µm²), largo, ancho y perímetro (µm) de la cabeza; también parámetros no dimensionales (elipticidad, elongación, rugosidad y

regularidad); porcentaje de acrosoma (%); área (µm²), ancho (µm), distancia (µm) y ángulo de inserción de la pieza intermedia. Los datos obtenidos se almacenaron en una computadora para su análisis posterior.

La distribución normal de los datos se evaluó con el test de Kolmogorov – Smirnov, para las variables normalmente distribuidas se empleó un diseño al azar anidado, con la prueba de medias 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.

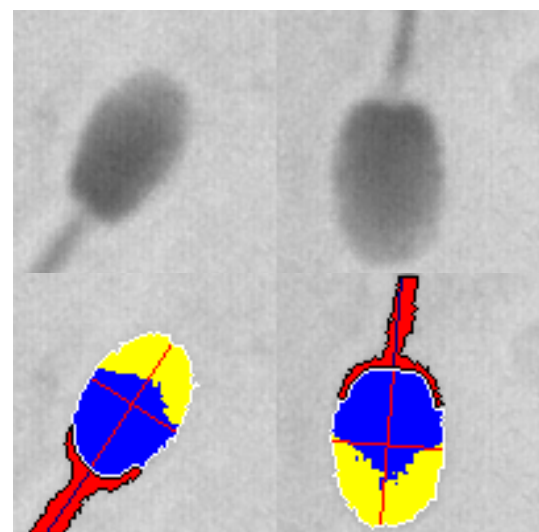


Figura 1. Espermatozoides capturados y analizados por el ISAS



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron 5000 espermatozoides, provenientes de la colección de semen de 25 alpacas machos, los resultados de la caracterización morfométrica de los espermatozoides se muestran en la Tabla 1.

Comparando las medidas halladas con las obtenidas por Buendía *et al.* (2002), también con un sistema computarizado de análisis, pero fueron similares los promedios de largo, ancho y regularidad, inferiores a lo reportado para área, rugosidad, elongación; y superiores en el perímetro y elipticidad. Estas diferencias pudieron deberse a la tinción usada por éstos (Hemacolor). En relación a las medidas morfométricas de las cabezas de los espermatozoides de llamas (Casaretto *et al.*, 2011), largo, ancho, área y perímetro son mayores a las encontradas en el presente estudio.

Las medidas de porcentaje de acrosoma y de la pieza intermedia (área, ancho, distancia y ángulo de inserción) no se reportaron en ningún estudio, por lo cual no es posible discutirlos.

Se ha encontrado coeficientes de variabilidad altos para área, largo, elipticidad, rugosidad, elongación y regularidad, en los tres primeros casos similar a lo observado por Buendía *et al.* (2002) para alpacas. En el caso de llamas (Casaretto *et al.*, 2011) halló coeficientes de variabilidad bajos en relación al presente estudio.

Tabla 1. Caracterización morfométrica de los espermatozoides de alpacas

Medida	Promedio	DS	CV (%)	Asimetría	Curtosis
Tamaño cabeza					
Largo (µm)	5.8877	0.6185	10.5047	0.9533	2.0339
Ancho (µm)	3.4985	0.3264	9.3283	0.0617	-0.3359
Área (µm ²)	15.0237	1.8050	12.0143	0.0349	-0.4121
Perímetro (µm)	17.5253	1.4438	8.2382	0.1141	0.0732
Forma cabeza					
Elipticidad *	1.6971	0.2347	13.8318	0.6870	0.9573
Rugosidad *	0.6188	0.0751	12.1363	0.9679	5.8667
Elongación *	0.2530	0.0628	24.8409	0.1236	0.0501
Regularidad *	1.0797	0.1121	10.3804	1.6598	6.6788
Acrosoma (%)	46.5766	9.9636	21.3919	-0.4508	-0.5665
Tamaño pieza intermedia					
Área (µm ²)	3.6569	0.9967	27.2551	0.0707	-0.4634
Ancho (µm)	1.7665	0.4659	26.3779	0.0418	-0.5841
Inserción pieza intermedia					
Distancia (µm)	0.2417	0.1981	81.9716	1.4579	1.8155
Ángulo (grados)	7.8476	5.8059	73.9836	1.0702	1.2062
* medidas no dimensionales					
5 { desviación estándar	CV	Coeficiente de variabilidad			

Según el test de Kolmogorov – Smirnov, solamente el perímetro presentaba distribución normal, las demás variables no se ajustan a una distribución normal, resultando similar a lo observado por Buendía *et al.* (2002) y Casaretto *et al.* (2011).

Para el perímetro del espermatozoide se halló diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para las edades de los animales siendo las alpacas de 4, 10 y 6 años las que presentaban mayores medidas en relación a las otras edades. Se encontró diferencias significativas ($P < 0.05$) entre edades de alpacas machos para el ángulo de inserción de la pieza intermedia; y diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para todas las demás variables (Tabla 2).

CONCLUSIONES

Se ha logrado caracterizar 13 variables morfométricas de los espermatozoides de alpacas empleando un sistema computarizado de análisis (ISAS), las cuales muestran gran variabilidad, también se hallaron diferencias significativas ($P < 0.05$) y altamente significativas ($P < 0.01$) entre edades de alpacas machos (4 a 10 años) para las variables en estudio.

Tabla 2. Medidas del tamaño de la cabeza de los espermatozoides de alpacas de diferentes edades.

Edad (años)	n	Largo (µm)	Ancho (µm)	Área (µm ²)	Perímetro (µm)
4	8	5.97	3.54	15.34	17.72
5	3	5.92	3.44	15.05	17.30
6	4	5.90	3.57	15.35	17.62
7	4	5.80	3.43	14.50	17.40
8	2	5.85	3.48	14.78	17.37
9	2	5.74	3.48	14.44	17.12
10	2	5.83	3.47	14.90	17.70

BIBLIOGRAFIA

- Buendía, P.; C. Soler; F. Paolicchi; G. Gago; B. Urquieta; F. Pérez-Sánchez; E. Bustos-Obregón. 2002. Morphometric characterization and classification of alpaca sperm heads using the Sperm-Class Analyzer® computer-assisted system. *Theriogenology*, 57:1207-1218
- Casaretto, C.; D. Lombardo; S. Giuliano; M. Gambarotta; M. Carretero; M. Miragaya. 2011. Morphometric analysis of llama (*Lama glama*) sperm head. *Andrologia*. Jul 18.
- Jasko, D.; D. Lein; R. Foote. 1990. Determination of the relationship between sperm morphologic classification and fertility in stallions: 66 cases (1987-1988). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 197:389-394



Alpaca Suri, campeón de la Feria Nacional, Sicuani, Cusco

