

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL  
CUSCO**

**FACULTAD CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA**



**CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS, MICROSCÓPICAS,  
ESTIMACIÓN DE PARÁMETROS DE MOTILIDAD Y  
DETERMINACIÓN DE SUBPOBLACIONES ESPERMÁTICAS EN  
SEMEN DE CUY (*Cavia porcellus*).**

**Tesis presentada por la Bachiller en Ciencias**

**Agrarias:**

**SHEYLA ARAGON CRUZ Para optar al título  
profesional de INGENIERO ZOOTECNISTA**

**ASESORES:**

**Ing. Msc. HERNÁN CARLOS CUCHO DOLMOS**

**Ing. Mgt. AYDEE MEZA CHATATA**

**CUSCO – LA RAYA**

**2019**

## DEDICATORIA

Al forjador de mi camino, mi padre celestial, el que siempre me acompaña, a Dios y a mi Mama **NAZARIA** por iluminar mi camino, quien desde el cielo me guía y seguramente está orgullosa de este logro.

A mi querido **PAPA:**

**BERNANDINO**

Por su comprensión, motivación y apoyo que me ha brindado para lograr todas y cada una de mis metas así como me impulsa a lograr mis sueños y anhelos.

A mis **HERMANOS:**

**ZAIDA, ZENAIDA, SHARMELY Y MARCO**

Por darme el apoyo, confianza, consejos y recursos para lograrlo, que han sido el pilar fundamental en mi formación como profesional.

A mis **SOBRINOS:**

**DANAE, HARUMI Y JOAQUIN**

Por contagiarme su felicidad con cada sonrisa inocente.

A mis verdaderos amigos con los que compartí momentos inolvidables en estos últimos años juntos **SUHANIS.**

En especial a mis **MEJORES AMIGAS:**

**MITZI Y RUFINA**

Les agradezco por su desinteresada ayuda, por echarme una mano cuando lo necesitaba y por los buenos momentos que compartimos.

## AGRADECIMIENTO

- Expresar mi agradecimiento y reconocimiento a la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, por el aporte en la investigación de animales menores andinos y a mis queridos docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Escuela Profesional de Zootecnia por que contribuyeron en mi formación profesional y me brindaron sabios consejos.
- A mis asesores: Ing. Msc. Hernán Carlos Cucho Dolmos e Ing. Mgt. Aydee Meza Chatata, por sus orientaciones en el proceso experimental, análisis de resultados y culminación del presente trabajo de investigación.
- A todo el personal técnico y administrativo que labora en el Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos CICAS – La Raya UNSAAC; quienes me brindaron comprensión y apoyo.
- A mis amigos y compañeros de la universidad del código 2013- I: Mayumi y Bebo, Mitzi, Rufina, Ada, Mónica, Judith, Iván, Urbano, Alex, Romario, John, Julio, Daniel, Natali, Carlita, y a todos los demás que se me van de la mente gracias por brindarme su amistad.
- A mi madrina Disnarda por su dedicación, motivación, criterio y aliento; es un privilegio poder contar con su guía y ayuda.
- A mis tíos Carolina, Carlos, Teobaldo, Yajaira por estar incondicionalmente conmigo durante estos años, quienes me ayudaron e impulsaron a construir mis metas.
- A los compañeros que me apoyaron: Mitzi, Rufina, Mónica, Iván, Eduar, Julián, Urbanito, Ruth y OLger, quienes me acompañaron durante los arduos y agradables momentos en el Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos (CICAS) - La Raya - UNSAAC.

## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	<b>iv</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA</b> .....	<b>3</b>
1.1.1. Desarrollo del problema: .....	3
1.1.2. PROBLEMA GENERAL .....	3
1.1.3. PROBLEMA ESPECÍFICO .....	3
<b>1.2. OBJETIVOS</b> .....	<b>4</b>
1.2.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
1.2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	4
<b>1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>5</b>
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>7</b>
<b>ANTECEDENTES</b> .....	<b>7</b>
<b>2.1. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS</b> .....	<b>7</b>
2.1.1. VOLUMEN.....	7
2.1.2. COLOR.....	7
<b>2.2. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS</b> .....	<b>8</b>
2.2.1. MOTILIDAD .....	8
2.2.2. CONCENTRACIÓN:.....	8
2.2.3. VITALIDAD .....	9
2.2.4. FUNCIONALIDAD DE LA MEMBRANA ESPERMÁTICA.....	10
2.2.5. REACCIÓN ACROSOMAL.....	11
2.2.6. PARÁMETROS DE MOTILIDAD .....	11
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>17</b>
<b>2.3. GENERALIDADES DEL CUY</b> .....	<b>17</b>
<b>2.4. ANATOMÍA REPRODUCTIVA DEL MACHO</b> .....	<b>17</b>
2.4.1. TESTÍCULO .....	18
2.4.2. EPIDÍDIMO.....	18
2.4.3. CONDUCTO DEFERENTE .....	19
2.4.4. VESÍCULAS SEMINALES.....	19
2.4.5. PRÓSTATA .....	20
2.4.6. GLÁNDULA BULBOURETRAL .....	21
2.4.7. PENE.....	21
<b>2.5. MÉTODOS DE COLECCIÓN DE SEMEN</b> .....	<b>22</b>
2.5.1. RECOLECCIÓN SEMINAL POST-MORTEM.....	22
2.5.2. RECOLECCIÓN SEMINAL POR ELECTROEYACULACIÓN .....	23
<b>2.6. SEMEN</b> .....	<b>24</b>
2.6.1. EL ESPERMATOZOIDE.....	24

2.6.2. AGLUTINACIÓN DE ESPERMATOZOIDES EN ROULEAUX. ....	25
<b>CAPÍTULO III.....</b>	<b>27</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>27</b>
<b>3.1. DEL LUGAR DE ESTUDIO.....</b>	<b>27</b>
3.1.1. Ubicación geográfica.....	27
3.1.2. Duración del estudio.....	28
<b>3.2. MATERIALES DE ESTUDIO .....</b>	<b>28</b>
3.2.1. Materiales para la colección de semen. ....	28
3.2.2. Reactivos e insumos .....	29
3.2.3. Materiales de laboratorio. ....	29
3.3.5. Equipo de laboratorio. ....	30
<b>3.4. DEL LABORATORIO.....</b>	<b>30</b>
<b>3.5. METODOLOGÍA DE ESTUDIO.....</b>	<b>31</b>
3.5.1. De los animales. ....	31
3.5.2. De la alimentación e instalación. ....	31
3.5.3. De la preparación de los animales para la etapa de experimentación. 31	
3.5.4. Preparación del dilutor.....	32
3.5.5. Preparación del electroeyaculador. ....	32
3.5.6. Colección de semen por electroeyaculación. ....	33
<b>3.6. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES.....</b>	<b>35</b>
3.6.1. Evaluaciones macroscópicas .....	35
3.6.2. Evaluaciones microscópicas.....	36
<b>3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</b>	<b>43</b>
a) Para las variables macroscópicas y microscópicas.....	43
b) Para los parámetros de motilidad .....	43
c) Para determinar el número de subpoblaciones .....	44
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>45</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>45</b>
<b>4.1. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DE SEMEN COLECTADO POR ELECTROEYACULACIÓN.....</b>	<b>45</b>
4.1.1. Características macroscópicas.....	45
4.1.2. Características microscópicas.....	46
<b>4.2. Parámetros de motilidad.....</b>	<b>54</b>
4.2.1. Velocidad curvilínea (VCL). ....	54
4.2.2. Velocidad rectilínea (VSL). ....	55
4.2.3. Velocidad media (VAP). ....	57
4.2.4. Índice de linealidad (LIN).....	59
4.2.5. Índice de rectitud (STR).....	61
4.2.6. Índice de oscilación (WOB). ....	62

4.2.7. Amplitud del movimiento lateral de la cabeza (ALH). .....	64
4.2.8. Frecuencia de batida de la cabeza (BCF). .....	66
<b>4.3. IDENTIFICACIÓN DE SUBPOBLACIONES ESPERMÁTICAS.....</b>	<b>68</b>
4.3.1. Variables utilizadas.....	68
4.3.2. Determinación de subpoblaciones espermáticas. ....	69
<b><i>CAPÍTULO V.....</i></b>	<b>72</b>
<b>CONCLUSIÓN .....</b>	<b>72</b>
<b><i>CAPÍTULO VI.....</i></b>	<b>73</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>73</b>
<b><i>CAPÍTULO VII.....</i></b>	<b>74</b>
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>74</b>
<b><i>ANEXOS .....</i></b>	<b>84</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Volumen y métodos de colección de semen de cuyes.....	7
<b>Tabla 2.</b> Color, método de colección de semen por autores.....	8
<b>Tabla 3.</b> Motilidad espermática de semen de cuy, métodos de colección y autores.....	8
<b>Tabla 4.</b> Promedio de concentración de espermatozoide de semen en cuyes, métodos de colección y autores. ....	9
<b>Tabla 5.</b> Promedio del porcentaje de espermatozoides vivos de semen de cuyes, método de colección y autores. ....	10
<b>Tabla 6.</b> Parámetros cinéticos por un solo espermatozoide y en rouleaux de espermatozoides de la región 5 del epidídimo del cuy silvestre ( <i>Cavia aparea</i> ) .....	14
<b>Tabla 7.</b> Parámetros de motilidad en ratas. ....	14
<b>Tabla 8.</b> Parámetros y promedio de motilidad en cuyes domésticos. ....	15
<b>Tabla 9.</b> Numero de subpoblaciones espermáticas según especies y autores....	16
<b>Tabla 10.</b> Peso de cuyes al inicio y final y edad.....	31
<b>Tabla 11.</b> Componente del dilutor para el semen fresco para semen de cuy. ....	32
<b>Tabla 12.</b> Volumen de semen de cuyes colectados por el método de electroeyaculación. ....	45
<b>Tabla 13.</b> Color de semen de cuyes colectados por el método de electroeyaculación. ....	46
<b>Tabla 14.</b> Motilidad progresiva del semen de cuyes colectados por electroeyaculación. ....	47
<b>Tabla 15.</b> Motilidad no progresiva de semen de los cuyes colectados por electroeyaculación. ....	47
<b>Tabla 16.</b> Motilidad total de semen de los cuyes colectados por electroeyaculación. ....	48
<b>Tabla 17.</b> Concentración espermática del semen de cuyes colectados por electroeyaculación. ....	49
<b>Tabla 18.</b> Espermatozoides vivos de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación. ....	50
<b>Tabla 19.</b> Funcionalidad de la membrana espermática (reacción total) de semen de los cuyes, colectados por el método de electroeyaculación. ....	51
<b>Tabla 20.</b> Funcionalidad de la membrana espermática (reacción fuerte) de semen de cuyes, colectados por el método de electroeyaculación. ....	52
<b>Tabla 21.</b> Funcionalidad de la membrana espermática (reacción moderada) de semen de los cuyes, colectados por el método de electroeyaculación.....	52
<b>Tabla 22.</b> Integridad acrosomal de los espermatozoide de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación. ....	53
<b>Tabla 23.</b> Velocidad curvilínea de los espermatozoides por animal obtenida según el ISAS.....	54
<b>Tabla 24.</b> Velocidad curvilínea de los espermatozoides por la aglutinación de células espermáticas (colas), obtenidas según el ISAS. ....	55

<b>Tabla 25.</b> Velocidad rectilínea de los espermatozoides por animal, obtenida según el ISAS.....	56
<b>Tabla 26.</b> Velocidad rectilínea de los espermatozoides por la aglutinación de células espermáticas (cola), obtenida según el ISAS. ....	57
<b>Tabla 27.</b> Velocidad media de los espermatozoides por animal obtenida según el ISAS.....	58
<b>Tabla 28.</b> Velocidad media de los espermatozoides por la aglutinación de las colas obtenidas según el ISAS CASA.....	58
<b>Tabla 29.</b> Índice de linealidad de los espermatozoides por animal obtenida según el ISAS CASA. ....	59
<b>Tabla 30.</b> Índice de linealidad de los espermatozoides por la aglutinación de células espermáticas (colas), obtenidas según el ISAS. ....	60
<b>Tabla 31.</b> Índice de rectitud de los espermatozoides por animal, obtenida según el ISAS CASA.....	61
<b>Tabla 32.</b> Índice de rectitud de los espermatozoides por la aglutinación de las colas, obtenidas según la ISAS CASA.....	62
<b>Tabla 33.</b> Índice de oscilación de los espermatozoides por animal, obtenida según el ISAS. ....	63
<b>Tabla 34.</b> Índice de oscilación de los espermatozoides por la aglutinación de células espermáticas las colas, obtenida según el ISAS. ....	64
<b>Tabla 35.</b> Amplitud del movimiento lateral de la cabeza de los espermatozoides por animal obtenida según el ISAS CASA. ....	65
<b>Tabla 36.</b> Amplitud del movimiento lateral de la cabeza de los espermatozoides por células espermáticas (cola), obtenidas según el ISAS CASA. ....	66
<b>Tabla 37.</b> Frecuencia de batida de la cabeza de los espermatozoides por animal, obtenida según el ISAS CASA.....	67
<b>Tabla 38.</b> Frecuencia de batida de la cabeza de los espermatozoides por la aglutinación de las colas, obtenidas según el ISAS CASA. ....	68
<b>Tabla 39.</b> Resultado del análisis principal de componentes, realizado en los datos del análisis de esperma procesado por el programa PRINCOM. ....	69
<b>Tabla 40.</b> Subpoblaciones espermáticas (SPE) y parámetros de motilidad, obtenidas del semen de cuyes colectados por electroeyaculación.....	69

## ÍNDICE DE FIGURA.

<b>Figura 1.</b> Terminología estándar de algunos de algunos parámetros de motilidad (VCL, VSL, VAP Y ALH), obtenidos por el sistema CASA.....	13
<b>Figura 2.</b> Estructura de Glándula.....	22
<b>Figura 3.</b> Estructura del espermatozoide de cuy.....	25



## ÍNDICE DE FOTOS.

<b>Foto 1.</b> Centro de Investigación de Camélidos Sudamericanos. (CICAS- La Raya) .....	27
<b>Foto 2.</b> Materiales para la colección de semen de cuyes. ....	28
<b>Foto 3.</b> Reactivos para la evaluación de semen de cuy. ....	29
<b>Foto 4.</b> Equipo Integrate Semen Analysis System (ISAS) v 1.1 CASA(a), equipo Motic Plus Images 2.0 (b) .....	30
<b>Foto 5.</b> Electroeyaculador Minitube e 320 (a) y transductor diseñado para los cuyes (Sumar <i>et al.</i> ,1968) (b). ....	33
<b>Foto 6.</b> Pasos para la colección de semen por el método de electroeyaculación en cuyes. ....	35
<b>Foto 7.</b> Muestra de colección de semen en el tubo colector. ....	36
<b>Foto 8.</b> Imagen de la evaluación de la motilidad espermática de semen de cuy, evaluada con el equipo (ISAS). ....	37
<b>Foto 9.</b> Imagen de la evaluación del patrón de movimiento de espermatozoides de cuy, utilizando el (ISAS). ....	38
<b>Foto 10.</b> Imagen de la evaluación de la concentración espermática de semen de cuy, utilizando el (ISAS). ....	39
<b>Foto 11.</b> Imagen del análisis de la vitalidad espermática, espermatozoides de color rojo (muerto) y espermatozoide de color blanco (vivos). Evaluada en el Motic Plus Images .....	40
<b>Foto 12.</b> Imagen de la funcionalidad de la membrana, reacción de células al estrés hiposmótico, a y b respuesta positiva a la solución osmótica, c célula sin reacción frente al estrés hiposmótico, evaluada en el Motic Plus Images. ....	41
<b>Foto 13.</b> Imagen de la integridad acrosomal del espermatozoide de cuy. Espermatozoide teñido de azul (acrosoma intacto) (a) y espermatozoide sin teñir (acrosoma ausente) (b), evaluada en el Motic Plus Images. ....	42

## ÍNDICE DE GRAFICOS.

<b>Grafico 1.</b> Representación de subpoblaciones en semen de cuyes, evaluado con el SAS v 8.0 (Statistical Analysis System). ....	71
---	----

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> ANVA para el volumen de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.....	84
<b>Anexo 2.</b> ANVA para la motilidad progresiva de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.....	84
<b>Anexo 3.</b> ANVA para la motilidad no progresiva de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.....	84
<b>Anexo 4.</b> ANVA para la motilidad total de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.....	85
<b>Anexo 5.</b> ANVA para la concentración de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.....	85
<b>Anexo 6.</b> ANVA para la vitalidad de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.....	85
<b>Anexo 7.</b> ANVA para la funcionalidad de la membrana (reacción fuerte) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación. ....	86
<b>Anexo 8.</b> ANVA para la funcionalidad de la membrana (reacción moderada) de semen de cuyes, colectadas por electroeyaculación. ....	86
<b>Anexo 9.</b> ANVA para la funcionalidad de la membrana (reacción total) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación. ....	86
<b>Anexo 10.</b> ANVA para la integridad acrosomal de semen de cuyes, colectada por electroeyaculación.....	87
<b>Anexo 11.</b> ANVA para la velocidad curvilínea (VCL) de semen de cuyes, colectadas por electroeyaculación. ....	87
<b>Anexo 12.</b> ANVA para la velocidad rectilínea (VSL) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación. ....	87
<b>Anexo 13.</b> ANVA para la velocidad media (VAP) de semen de cuyes, colectadas por electroeyaculación.....	88
<b>Anexo 14.</b> ANVA para el índice de linealidad (LIN) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación. ....	88
<b>Anexo 15.</b> ANVA par el índice de rectitud (STR) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.....	88
<b>Anexo 16.</b> ANVA para el índice de oscilación (WOB) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación. ....	89
<b>Anexo 17.</b> ANVA para la amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.....	89
<b>Anexo 18.</b> ANVA para la colección de batido de la cabeza (BCF) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.....	90

## GLOSARIO

ALH	: Amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza ( $\mu\text{m}$ )
BCF	: Espermatozoide Frecuencia de batida de la cabeza (Hz)
LIN	: Índice de linealidad (%)
STR	: Índice de rectitud (%)
VCL	: Velocidad curvilínea ( $\mu\text{m/s}$ )
VSL	: Velocidad rectilínea ( $\mu\text{m/s}$ )
VAP	: Velocidad media ( $\mu\text{m/s}$ )
WOB	: Índice de oscilación (%)
EE	: Electroeyaculación

## RESUMEN

El estudio: “Características macroscópicas, microscópicas, estimación de parámetros de motilidad y determinación de subpoblaciones espermáticas en semen de cuy (*Cavia porcellus*)”, se realizó desde el mes de Febrero a Julio del 2018 en el Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos CICAS -La Raya de la Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Zootecnia, de la UNSAAC. Se colectó muestras de semen de 5 cuyes domésticos machos del tipo 1, de 3- 4 meses de edad, por el método de electroeyaculación, realizándose un total de 21 colectas. Las variables macroscópicas se evaluaron visualmente y las variables microscópicas se evaluaron con el Integrated Semen Analysis System: se empleó la estadística descriptiva en las variables macroscópicas y un arreglo factorial en bloques para las variables microscópicas. No se halló diferencias significativas entre animales ( $p>0.05$ ), para la motilidad progresiva, motilidad no progresiva, motilidad total, concentración, vitalidad, funcionalidad de la membrana espermática e integridad de la membrana acrosomal. Los parámetros de motilidad como VCL, VSL, VAP, LIN, WOB, STR, ALH Y BCF, presentan diferencias significativas entre animales ( $p<0.05$ ). Se hallaron diferencias significativas entre la aglutinación de colas ( $p<0.05$ ), siendo los espermatozoides aglutinados de 4 y más de 5 colas los que presentan mayor promedio en los parámetros de motilidad de la VCL, VSL, VAP Y ALH, mientras que los espermatozoide de 1 cola son los que presentan mayor promedio en los parámetros de motilidad del LIN, STR, WOB Y BCF. Con el procedimiento PRINCOMP del SAS, se determinaron el número de PCA, luego con FASTCLUS se establecieron los clúster que vienen a ser las subpoblaciones. Se identificaron 4 subpoblaciones espermáticas: SPE 1, es calificada como lentos; SPE 2, es calificada como rápidos; SPE 3, es calificada como muy rápidos y SPE 4, es calificada como intermedios.



## INTRODUCCIÓN

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 (Yamasaki *et al.*, 2005).

La conservación de la biodiversidad zoo-genética es importante para salvaguardar el patrimonio genético formado a lo largo de los años y adaptado a los diversos ecosistemas. Lograr la conservación y el uso sostenible de la biodiversidad implica lograr beneficios para el ser humano, sin agotar el recurso y de esa manera asegurar las posibilidades de aprovechamiento para las próximas generaciones (Mujica, 2010).

La viabilidad celular espermática decrece rápido y substancialmente luego de la eyaculación. Muchos investigadores, especialistas en reproducción animal están tratando de diseñar el “análisis seminal ideal”, que valore adecuadamente y prediga la fertilidad de una muestra seminal. Así, el análisis de semen ideal sería aquel que de forma sencilla y eficaz permitiera conocer de manera predictiva la capacidad fecundante de un eyaculado (Mellisho, 2010).

En los cuyes machos la obtención de semen es difícil, considerando que es una especie de temperamento nervioso y poco adaptable a programas de adiestramiento para el uso de instrumentos como vagina artificial. Por ello es necesario utilizar técnicas alternativas, como la electroeyaculación (Aleuy, 2008).

La electroeyaculación ha demostrado ser un método exitoso en pequeños mamíferos y es ampliamente utilizado en bovinos y pequeños rumiantes para la evaluación de los reproductores machos (Brito y Reinoso, 2017; Gómez, 2013). Consiste en aplicar estímulos eléctricos de bajo voltaje para activar los centros

nerviosos que intervienen en el proceso de la eyaculación, a través de un equipo generador de impulsos eléctricos que transmite los estímulos a una determinada frecuencia, voltaje y corriente que son conducidos a través de un transductor de tamaño y proporciones adecuadas para la especie, dotado de electrodos que permiten el paso de la corriente eléctrica (Yamasaki *et al.*, 2005).

El propósito de este estudio fue coleccionar y evaluar semen de cuyes, extraído mediante la técnica de electroeyaculación, los trabajos de investigación realizados referidos a las características microscópicas en el cuy doméstico (*Cavia porcellus*) son limitados, con esta técnica de obtención de espermatozoides por electroeyaculación se evaluó las características macroscópicas (volumen y color), microscópicas (motilidad, concentración, vitalidad, funcionalidad de la membrana espermática e integridad acrosomal del espermatozoide), parámetros de motilidad y subpoblaciones espermáticas.

# CAPÍTULO I

## 1.1. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

### 1.1.1. Desarrollo del problema:

En la región y a nivel mundial, la investigación del espermatozoide de cuy, es muy escasa, existen vacíos en el conocimiento de ésta, que podrían ser investigados por el presente estudio.

Los trabajos realizados en reproducción y biotecnologías reproductivas en cuyes de laboratorio datan desde 1960 hasta 1990, donde los cuyes eran utilizados como modelo animal en investigaciones biomédicas (Shomer *et al.*, 2015); en los siguientes años el cuy fue reemplazado por rodentidos del suborden myomorpha (ratas). Cabe indicar que la información que se tiene de los aspectos reproductivos del cuy, corresponde a cuyes criados y manejados bajo condiciones de bioterios, por lo que es imprescindible realizar investigaciones en líneas de cuyes comerciales. Por tanto, la información disponible respecto a la reproducción del cuy macho es limitada, más aún en el caso de la colección, dilución y la caracterización del semen.

### 1.1.2. PROBLEMA GENERAL

- ¿Cuáles serán las características microscópicas, macroscópicas, parámetros de motilidad y subpoblaciones espermáticas en semen de cuy (*Cavia porcellus*) tipo 1, obtenido mediante los métodos de colección de semen por electroeyaculación?

### 1.1.3. PROBLEMA ESPECÍFICO

- ¿Cuáles serán las características microscópicas y macroscópicas del semen de cuy (*Cavia porcellus*), colectado por electroeyaculación?
- ¿Cuáles serán los parámetros de motilidad, Velocidad Curvilínea (VCL), Velocidad Rectilínea (VSL), Velocidad Media (VAP), Índice de Rectitud (STR), Índice



de Linealidad (LIN), Índice de Oscilación (WOB), Amplitud media del Desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide ( ALH), Frecuencia de batida de la cabeza (BCF) de los espermatozoides de cuy(*Cavia porcellus*) ?

- ¿Cuáles serán las subpoblaciones espermáticas de semen de cuy (*Cavia porcellus*), colectado por electroeyaculación?

## **1.2. OBJETIVOS**

### **1.2.1. OBJETIVO GENERAL**

- Determinar las características microscópicas, macroscópicas parámetros de motilidad y subpoblaciones espermáticas en semen del cuy (*Cavia porcellus*) tipo 1, obtenido por electroeyaculación.

### **1.2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Determinar las características macroscópicas (volumen, color) y microscópicas (motilidad, vitalidad, concentración, funcionalidad de la membrana espermática e integridad acrosomal del espermatozoide) del semen fresco del cuy (*Cavia porcellus*), colectado por electro eyaculación.
- Determinar los parámetros de motilidad (VCL, VSL, VAP, LIN, STR, WOB, ALH, BCF) de los espermatozoides de cuy (*Cavia porcellus*).
- Determinar las subpoblaciones espermáticas de semen de cuy (*Cavia porcellus*).

### **1.3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

La región del Cusco, es la segunda productora de cuyes a nivel nacional con alrededor de 1715,000 ejemplares, en 91,500 unidades familiares, que representa alrededor del 14% de la poblacional nacional de esta especie (INEI, 2012), la mayor parte en los valles interandinos de sus provincias, constituyéndose en los últimos años como uno de los mayores generadores de ingresos de las familias campesinas de la región (DRA Cusco, 2015), es por ello que su población viene incrementándose rápidamente.

Las principales ventajas de extraer semen de cuyes reproductores, es facilitar el transporte y manipulación del semen, reducir el número de reproductores machos en los núcleos reproductivos, prevenir enfermedades al introducir animales a la unidad de producción , desarrollar e instaurar programas de inseminación artificial y la más relevante es trabajar en la implementación de nuevas biotecnologías (Gomez, 2013; Tamayo, 2013).

La problemática radica en el poco interés de desarrollar investigaciones en el área de mejoramiento genético e implementación de biotecnologías reproductivas en la producción cavícola. El aporte de conocimientos y la implementación de biotecnologías reproductivas como la inseminación artificial (IA), preservación de semen, inseminación intrauterina (IAIU), trasplante embrionario, conllevó a un evidente incremento de la productividad en el sector ganadero (Rodríguez *et al.*, 2011) y representa una opción de mejora genética altamente eficiente que podría usarse como modelo para replicarse en 2 otras especies de interés zootécnico (Rodríguez *et al.*, 2011).

Pero aún existen vacíos en el conocimiento de esta especie, por ejemplo la fisiología del espermatozoide del cuy, ha sido escasamente estudiada, es por ello que planteamos la presente investigación a fin de determinar las características

microscópicas, macroscópicas, parámetros de motilidad y subpoblaciones espermáticas del espermatozoide del cuy (*Cavia porcellus*), empleando un sistema CASA (Sistema Computarizado de Análisis de Semen), en el cual este estudio generará información básica, que serviría para la aplicación de las biotecnologías de la reproducción en cuyes, como es la vitrificación o transferencia de embriones, entre otros.

## **CAPÍTULO II**

### **ANTECEDENTES**

#### **2.1. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS**

##### **2.1.1. VOLUMEN**

El volumen del semen está conformado por las secreciones de varias glándulas. los testículos y el epidídimo sólo contribuyen con el 5 % del contenido (principalmente espermatozoides y testosterona), en tanto las vesículas seminales entre el 46% y 80% (enzimas responsables de la coagulación de semen y fructosa), la próstata entre el 13% y el 33% (varias sustancias, entre ellas el antígeno específico de la próstata que participa en la licuefacción del semen) y las glándulas bulbouretrales y uretrales entre el 2% y 5% (sustancias lubricantes y ocasionalmente anticuerpos causante de la infertilidad) (Montoya, 2009).

**Tabla 1. Volumen y métodos de colección de semen de cuyes.**

<b>Autores</b>	<b>Método de colección</b>	<b>Volumen (ml)</b>
Pinduisaca (2018).	Electroeyaculación	0.22
Durrant, (1984).	Electroeyaculación	0.7
Freund (1969).	Electroeyaculación	0.5

Fuente: autores indicados

##### **2.1.2. COLOR**

Blanco nacarado normal, indica buena calidad seminal. Se deben desechar los eyaculados que presenten una coloración grisácea, rojiza (con sangre, por lesiones en el pene o uretra), marrón por contaminación con heces fecales, amarillo por presencia de pus u orina con mal olor o con sedimentos anormales (Arencibia, 2009).

**Tabla 2. Color, método de colección de semen por autores.**

<b>Autores</b>	<b>Método de colección</b>	<b>Color</b>
Durrant, (1984).	Electroeyaculación	blanquecino
Loor, (2015).	Extirpación de epidídimo	blanco cremoso
Mise, (2014).	Post mortem	blanco lechoso

Fuente: autores indicados.

## **2.2. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS**

### **2.2.1. MOTILIDAD**

La motilidad del espermatozoide del cuy silvestre, es muy característica, siendo este curvilíneo e irregular, estando en la mayoría de los casos, unidos por la cabeza (Sumar *et al.*, 1968).

Yucra (2013). en el trabajo realizado en cuyes ,colectado a partir del epidídimo, reporta una motilidad no progresiva (MNP) de 20.45 % y una motilidad progresiva de 6.16 %.

**Tabla 3. Motilidad espermática de semen de cuy, métodos de colección y autores.**

<b>Autores</b>	<b>Método de colección</b>	<b>Motilidad (%)</b>
Pinduisaca, (2018).	Electroeyaculación	0.00
Freund (1969).	Electroeyaculación	66.00
Loor, (2015).	Extirpación de epidídimo	73.50
Tapia y Tello, (2016).	Extirpación de epidídimo	46.00
Mise, (2014).	Post mortem	73.00
Unchupaico <i>et al.</i> , (2006).	Post mortem	42.27

Fuente: autores indicados.

### **2.2.2. CONCENTRACIÓN:**

Hafez (1989), sostiene que es esencial la determinación precisa del número de los espermatozoides por mililitro de semen, por ser este una característica muy variable con la especie.

**Tabla 4. Promedio de concentración de espermatozoide de semen en cuyes, métodos de colección y autores.**

<b>Autor</b>	<b>Método de colección</b>	<b>Concentración (millones/ml)</b>
Pinduisaca, (2018).	Electroeyaculación	11.02
Freund (1969).	Electroeyaculación	41.78
Tapia y Tello (2016).	Extirpación de epidídimo	78,90
Yucra (2013).	Post mortem	823.30
Mise (2014).	Post mortem	258.60
Loor (2015).	Extirpación de epidídimo	256.80
Unchupaico <i>et al.</i> , (2006).	Post mortem	36.80

Fuente: autores indicados.

### **2.2.3. VITALIDAD**

La viabilidad celular espermática está relacionada directamente con la motilidad progresiva, morfología normal, metabolismo energético activo, capacidad para desarrollar una motilidad hiperactivada, integridad estructural y funcional de la membrana, integridad de las enzimas asociadas con la fecundación, capacidad de penetración y transferencia óptima del material genético (Mellisho, 2010).

La vitalidad espermática también es un indicador de la calidad seminal. Hay numerosas publicaciones sobre la utilidad de diversos métodos en los cuales se analiza el estado de la cromatina espermática. Uno de los más sencillos es el uso de la naranja de acridina (AO), con el cual se comprueba el grado de desnaturalización del ADN espermático en función de su unión al colorante naranja de acridina (Ortega *et al.*, 2010).

El estudio de la viabilidad espermática normalmente se basa en el análisis de la integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides, mediante el uso de dos fluorocromos combinados: uno de ellos sólo es capaz de atravesar las membranas plasmáticas dañadas o degeneradas, y por tanto permite identificar a las células muertas o en proceso de degeneración, mientras que el otro es capaz

de atravesar membranas celulares intactas y por tanto permite identificar la población de células viables (Muiño, 2008).

**Tabla 5. Promedio del porcentaje de espermatozoides vivos de semen de cuyes, método de colección y autores.**

<b>Autores</b>	<b>Método de colección</b>	<b>Vitalidad (%)</b>
Loor (2015).	Extirpación de epidídimo	86.70
Tapia y Tello (2016).	Extirpación de epidídimo	35.90
Mise (2014).	Post mortem	93.00
Yucra (2013).	Post mortem	58.28

Fuente: autores indicados.

#### **2.2.4. FUNCIONALIDAD DE LA MEMBRANA ESPERMÁTICA**

Evaluar integridad y funcionalidad espermática hace énfasis a la valoración de la membrana plasmática y acrosomal, ya que participan en el transporte de moléculas y adaptación del metabolismo al medio circundante. para calificar la permeabilidad de las membranas se aplican pruebas como; el test de resistencia osmótica (ORT), el test de resistencia hiperosmótica (HRT) o el test de endósmosis o hiposmótico (HOST) (Rubio y Quintero, 2000).

La membrana fue evaluada según la técnica mencionada por (rubio y quintero, 2000). Utilizando una solución hipoosmotica se contabilizaron 100 células espermáticas en varios campos de la placa, siendo considerados los espermatozoides que conservan la integridad funcional aquellos que presentaron edema o enrollamiento en la cola (Ribeiro *et al.*, 2014).

Tapia y Tello (2016), indica que integridad de la membrana plasmática (HOST) en cuyes mejorados es de  $18.0 \pm 2.82\%$ , colectado por extirpación quirúrgica del epidídimo.

### **2.2.5. REACCIÓN ACROSOMAL**

La reacción acrosomal en el espermatozoide de mamífero es un proceso que incluye la fusión y vesiculación de la membrana acrosomal- externa y la membrana plasmática que la recubre. Este evento es tan esencial para la fertilización como la movilidad espermática adecuada, ya que permite la secreción y liberación de las enzimas que se encuentran tanto en la matriz acrosomal como en las membranas (Meizel , 1984).

Un criterio importante de microscopía electrónica para considerar la reacción acrosomal como " verdadera ' es la fusión de la membrana acrosomal remanente con la membrana plasmática en la región ecuatorial, conservándose así la continuidad de las membranas espermáticas (Meizel , 1978) (Friend *et al.* , 1977). Existen también reacciones acrosomales " falsas " las cuales se observan en los espermatozoides muertos o en degeneración (Meizel ,1978).

Chavarria (1984), determina la reaccion acrosomal en cuyes es de  $13,8 \pm 5,4 \%$ , se obtuvieron quirúrgicamente, colectados de los epidídimos.

### **2.2.6. PARÁMETROS DE MOTILIDAD**

Quintero Moreno, (2003), indica los parámetros que evalúan la velocidad y la trayectoria que realiza la cabeza de los espermatozoides.

#### **2.2.6.1. Parámetros que evalúan la velocidad de desplazamiento de los espermatozoides.**

- a) Velocidad Curvilínea (VCL): Velocidad promedio de desplazamiento de la cabeza del espermatozoide a lo largo de su trayectoria real. Se mide en  $\mu\text{m}/\text{seg}$ .
- b) Velocidad Rectilínea (VSL): Velocidad promedio de la cabeza del espermatozoide a lo largo de una línea recta, desde la primera hasta la última posición. Se mide en  $\mu\text{m}/\text{seg}$ .

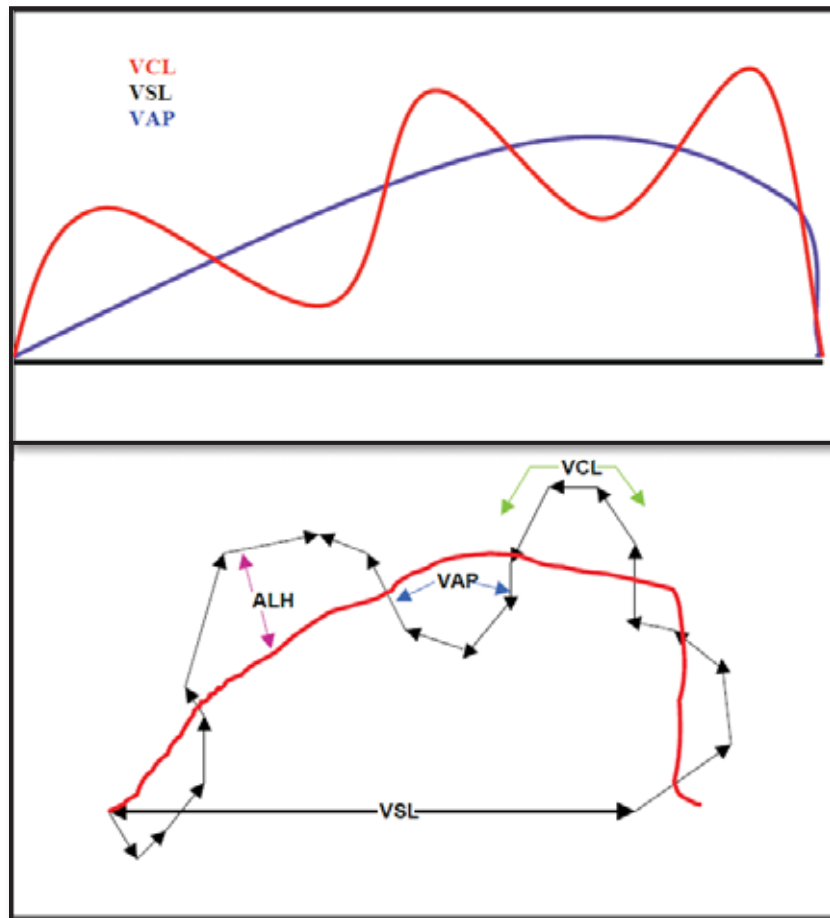


- c) Velocidad promedio de desplazamiento (VAP): Velocidad promedio de la cabeza del espermatozoide a lo largo de su trayectoria promedio. Se mide en  $\mu\text{m}/\text{seg}$ .
- d) Porcentaje de linealidad (LIN): Relación entre VSL y VCL. Se mide en porcentaje (%).
- e) Índice de rectitud (STR): Relación entre VSL y VAP. Se mide en porcentaje (%).

Así mismo, se puede evaluar la trayectoria que realiza la cabeza del espermatozoide, a través de los parámetros tales como:

- a) Índice de oscilación (WOB): Relación entre VAP y VCL. Se mide en porcentaje (%).
- b) Amplitud del desplazamiento lateral de cabeza (ALH): Valor promedio lado a lado de la cabeza en cada ciclo de batido. Se mide en  $\mu\text{m}$ .
- c) Frecuencia de batido (BCF): Frecuencia con la cual la verdadera trayectoria del espermatozoide cruza la trayectoria promedio. Se mide en Hz.
- d) Amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide (ALHMed): Desplazamiento medio efectuado por la cabeza del espermatozoide en su trayectoria curvilínea, de un lado a otro de la trayectoria media o lineal. Se mide en  $\mu\text{m}^2$ .
- e) Amplitud máxima del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide (ALHmax): Máximo desplazamiento medio efectuado por la cabeza del espermatozoide en su trayectoria curvilínea, de un lado a otro de la trayectoria media o lineal. Se mide en  $\mu\text{m}^2$ .

**Figura 1.** Terminología estándar de algunos parámetros de motilidad (VCL, VSL, VAP Y ALH), obtenidos por el sistema CASA.



Fuente: (Quintero, 2003).

En la tabla 06, se muestra los resultados de los parámetros cinéticos, evaluados por una sola cola y en rouleaux de espermatozoides de la región 5 (distal del epidídimo) de cuyes salvajes (*Cavia aperea*). Los órganos fueron sacados a través de una incisión abdominal y luego se volteó para exponer a la superficie dorsal, esta maniobra reveló septos más uniformes del tejido conectivo, el epidídimo en regiones reconocibles se realizó una inserción de los testículos.

**Tabla 6. Parámetros cinéticos por un solo espermatozoide y en rouleaux de espermatozoides de la región 5 del epidídimo del cuy silvestre (*Cavia aparea*)**

<b>Parámetro</b>	<b>Células solas (N=35)</b>	<b>Rouleaux (N=260)</b>
<b>VAP ( <math>\mu\text{m/s}</math> )</b>	62.6 $\pm$ 3.0	68.1 $\pm$ 1.4
<b>VSL ( <math>\mu\text{m/s}</math> )</b>	61.2 $\pm$ 3.0	64.8 $\pm$ 1.4
<b>VCL ( <math>\mu\text{m/s}</math> )</b>	79.5 $\pm$ 4.4	84.8 $\pm$ 1.2
<b>ALH (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	9.66 $\pm$ 1.43	8.02 $\pm$ 0.31
<b>BCF (Hz)</b>	13.65 $\pm$ 0.53	14.41 $\pm$ 0.20
<b>STR (%)</b>	94.5 $\pm$ 3.0	93.7 $\pm$ 0.8
<b>LIN (%)</b>	77.1 $\pm$ 3.5	76.0 $\pm$ 1.2
<b>WOB (%)</b>	78.8 $\pm$ 3.4	79.7 $\pm$ 1.0

Fuente: (Cooper *et al.*, 2000).

En la tabla 7, se muestran los parámetros cinéticos de la motilidad en ratas, los cuales fueron colectados por el método post mortem. Los espermatozoides fueron aislados del epidídimo izquierdo.

**Tabla 7. Parámetros de motilidad en ratas.**

<b>Parámetros</b>	<b>Promedio <math>\pm</math>SD</b>
<b>Motilidad (%)</b>	50.31 $\pm$ 9.15
<b>Motilidad progresiva (%)</b>	27.69 $\pm$ 7.34
<b>DSL(<math>\mu\text{m}</math>)</b>	17.65 $\pm$ 2.15
<b>VAP (<math>\mu\text{m/s}</math>)</b>	52.73 $\pm$ 9.25
<b>VCL (<math>\mu\text{m/s}</math>)</b>	81.10 $\pm$ 13.88
<b>VSL ( <math>\mu\text{m/s}</math> )</b>	42.37 $\pm$ 5.92
<b>STR (%)</b>	81.00 $\pm$ 0.04
<b>LIN (%)</b>	53.00 $\pm$ 0.04
<b>WOB (%)</b>	65.00 $\pm$ 0.03
<b>ALH(<math>\mu\text{m}</math>)</b>	4.52 $\pm$ 1.26
<b>BCF(Hz)</b>	22.37 $\pm$ 2.71

Fuente: (Adamkovicova *et al.*, 2016).

En la tabla 8, se muestran los parámetros cinéticos de la motilidad, en cuyes domésticos, estos fueron colectados por el método post mortem. Los espermatozoides fueron aislados del epidídimo izquierdo.

**Tabla 8. Parámetros y promedio de motilidad en cuyes domésticos.**

<b>Descripción</b>	<b>Promedio</b>	<b>±DS</b>
<b>VCL (um/s)</b>	46.618	20.192
<b>VSL (µm/s)</b>	14.729	5.748
<b>VAP (µm/s)</b>	28.693	11.946
<b>LIN (%)</b>	33.399	16.576
<b>STR (%)</b>	51.137	14.166
<b>WOB (%)</b>	62.110	15.210
<b>ALH (µm)</b>	2.063	1.320
<b>BCF (Hz)</b>	3.552	1.853

Fuente: (Yucra, 2013).

#### **2.2.6.2. DETERMINACIÓN DE SUBPOBLACIONES ESPERMÁTICAS.**

El CASA (Sistema Computarizado de Análisis de Semen), permite identificar la existencia de subpoblaciones de espermatozoides con distintos patrones de movimiento que coexisten en la misma muestra de semen (Davis y Siemers, 1995; Holt, 1996; Abaigar *et al.*, 1999). En los últimos años se ha demostrado la existencia de subpoblaciones espermáticas con distintos patrones de movimiento en los eyaculados de todas las especies estudiadas hasta la fecha. Además, se ha observado que espermatozoides pertenecientes a distintas subpoblaciones responden de forma diferente ante procesos como la crío preservación o la exposición al efecto de agentes capacitantes (Holt, 1996; Abaigar *et al.*, 1999).

**2.2.6.2.1. Parámetros que se deben tomar en cuenta para la clasificación en subpoblaciones según (Muiño *et al.*, 2006), son:**

- a) Velocidad curvilínea (VCL).
- b) Velocidad rectilínea (VSL).
- c) Velocidad promedio de desplazamiento (VAP).
- d) Porcentaje de linealidad (LIN), relación entre VSL y VCL. Se mide en porcentaje (%).
- e) Índice de rectitud (STR), relación entre VSL y VAP. Se mide en porcentaje (%).
- f) Índice de oscilación (WOB), relación entre VAP y VCL. Se mide en porcentaje (%).
- g) Amplitud del desplazamiento lateral de cabeza (ALH).
- h) Frecuencia de batido (BCF).

**Tabla 9. Numero de subpoblaciones espermáticas según especies y autores.**

<b>Especie</b>	<b>N° de subpoblaciones</b>	<b>Autores</b>
<b>Caninos</b>	4	Dorado <i>et al.</i> , 2010
<b>Caprinos</b>	4	
<b>Toros Holstein</b>	4	Muiño <i>et al.</i> , 2006
<b>Caninos</b>	4	Iguer-ouada y Verstegen, 2001
<b>Equinos</b>	4	Quintero moreno,2003
<b>Porcinos</b>	3	
<b>Conejos</b>	4	
<b>Burros catalanes</b>	4	Miro <i>et al.</i> , 2004
<b>Carneros</b>	5	Bravo <i>et al.</i> , 2011
<b>Mono titi</b>	3	Abaigar <i>et al.</i> , 1999
<b>Humano</b>	5	Davis <i>at al.</i> ,1995
<b>Alpacas</b>	3	Meza,2014

## REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 2.3. GENERALIDADES DEL CUY

El cuy (*Cavia porcellus*), es clasificado taxonómicamente como perteneciente al orden Rodentia, suborden Hysticomorpha, familia Caviidae, género Cavia y subespecie *Cavia porcellus* (Chauca, 1997).

Es un pequeño mamífero del orden de los roedores originarios de la zona andina del Perú y otros países sudamericanos. Tiene el cuerpo compacto y mide entre 20 y 40 centímetros. El pelo de algunas especies es largo y la textura puede ser áspera o suave. El color puede ser blanco, negro o leonado; también los hay de pelaje con rayas o manchas de colores oscuros sobre fondo blanco. Su dieta consiste en materia vegetal. La mayoría cría una vez al año, aunque hay una especie que lo hace varias veces si las condiciones ambientales son favorables. La camada suele estar formada por 2 o 4 crías que nacen en un avanzado estado de desarrollo, pues son capaces de alimentarse por ellas mismas desde el día siguiente a su nacimiento. El cuy por su rápida reproducción y por su crianza económica, ofrece las mejores perspectivas para contribuir a elevar el estándar de vida de la población con el consumo de carne en la alimentación (Chauca, 1997).

### 2.4. ANATOMÍA REPRODUCTIVA DEL MACHO

Es el encargado de elaborar semen en el cual los espermatozoides son transportadas hasta el aparato genital femenino, se encuentra formado por testículos, el conducto espermático, el pene y el prepucio más las glándulas vesiculares, próstata y bulbo uretrales (Gómez, 2009).

### **2.4.1. TESTÍCULO**

Se encuentran ubicados dentro del abdomen, debajo del nivel del ano, a los lados de las vejigas urinarias; son de forma ovoide, miden aproximadamente 22 mm de largo y 18 mm de ancho con un peso que varía entre 2.5 a 3 gramos, pudiendo llegar hasta 4 gramos (Zuñiga y Quisiyupanqui, 1995).

Durante la fase de excitación que precede al coito, los testículos descienden por los canales inguinales a un fondo de saco ciego, formado por el tejido subcutáneo y piel de la región inguinal. Una vez descendidos pueden ser observados a simple vista por debajo de la piel, en la que se producen los abultamientos. En el fondo del saco al que descienden (en su porción más profunda y central) se ubica el musculo cremaster externo que permite la migración temporal y a voluntad de los testículos hacia la cavidad abdominal (Alba, 1990).

El testículo presenta tres compartimientos: el extracelular (contiene vasos sanguíneos, linfáticos, tejido conectivo y abundantes células de Leydig que son productoras de testosterona), el compartimiento pretubular (rodea al túbulo seminífero y está constituido por células mioides, fibroblastos unidos estrechamente y por fibras colágenas que constituyen junto con el compartimiento extratubular, la barrera hematotesticular) y el compartimiento intratubular (contiene células de Sertoli y el epitelio germinal) (Alba 1990; Arraú *et al.*, 1981).

### **2.4.2. EPIDÍDIMO**

La cabeza del epidídimo nace en el hilo del testículo y se proyecta caudalmente formando el cuerpo, que se adhiere al cuerpo dorsal del testículo para luego formar la cola del epidídimo que tiene la forma de un cono truncado de donde sale el conducto deferente y en cuya porción más externa se inserta el musculo cremaster externo. Se halla conformado por un tubo flexuoso retorcido sobre sí mismo varias

veces, presenta 12 mm de largo por 9 mm de ancho (Zuñiga y Quisiyupanqui, 1995).

Hoy se acepta que la cola del epidídimo actúa como un órgano de almacenamiento, mientras que la cabeza y el cuerpo están relacionados con la maduración de los espermatozoides. Los gametos secretados por el túbulo seminífero hacia el epidídimo son inmóviles, inmaduros y no tienen la capacidad fértil (Alba, 1990).

Este órgano cumple tres funciones importantes: es reservorio de gametos, es lugar de maduración de los espermatozoides, a través de sus secreciones, forma parte del semen (Alba, 1990).

#### **2.4.3. CONDUCTO DEFERENTE**

Son tubos musculares, que al momento de la eyaculación, impulsan los espermatozoides desde el epidídimo al conducto eyaculador de la uretra prostática. Son, además un poco más gruesos en sus porciones terminales y miden aproximadamente 4 cm de largo. Se inician en la cola del epidídimo, siguen una dirección anterior; luego llegan a la altura de la vejiga urinaria y se dirigen posterior y dorsalmente hacia la línea media para unirse con las vesículas seminales a la altura de la sínfisis pelviana y pasar por encima de los uréteres. El conducto deferente, luego de cruzar el uréter, se dilata formando la ampolla, en cuyo extremo desemboca la vesícula seminal respectiva, para luego unirse a la uretra prostática mediante los conductos eyaculadores. Esta estructura participa en el almacenamiento de los espermatozoides para su eyaculación (Alba, 1990 y Calamera, 1977).

#### **2.4.4. VESÍCULAS SEMINALES.**

Las vesículas seminales son dos glándulas que desembocan en común con los vasos deferentes por medio de dos conductos eyaculadores (Holting, 1995).



Están constituidas por 2 porciones de 2 cuernos muy semejantes a los cuernos uterinos de la vaca, cuyo contenido fijado en formol al 10% toma una coloración crema, se hallan ubicados en cada lado de la columna vertebral en su porción lumbral, sus medidas promedio son 12 cm de largo y 6 mm de diámetro en su porción media. La mayor parte del esperma esta proporcionado por ellas adquiriendo en el cuy relativamente gran tamaño (Zuñiga y Quisiyupanqui, 1995). El contenido de las vesículas seminales presenta cuatro fracciones, de las cuales una es soluble. Por otro lado, ha sido estudiado mediante cromatografía de columna de celulosa. Otra es muy básica y probablemente represente la proteína coagulante del semen del cobayo. Las restantes no son coagulantes, se detectan en el suero y son probablemente intrínsecas del epitelio de las vesículas seminales. En estas vesículas existen prostaglandinas, especialmente de las series E y F, las cuales tienen importancia en la fertilidad en razón a su probada actividad contráctil sobre el musculo liso (Alba, 1990).

#### **2.4.5. PRÓSTATA**

Está situada sobre el cuello de la vejiga y el nacimiento de la uretra, a la que se abre mediante varios conductos excretores. La secreción prostática contiene fosfatasas acidas, prótidos, lípidos y hexosas (Aliaga *et al.*, 2009).

Es una glándula formada por 2 lóbulos adosados a las partes en que terminan las vesículas seminales, partes de la uretra y de los conductos deferentes; cada lóbulo mide 19mm de largo y 9mm de ancho, tienen una función de secreción del tipo cilíndrico pseudoestratificado de núcleos grandes (Zuñiga y Quisiyupanqui, 1995).

La secreción prostática varía considerablemente en cuanto a su composición química, de acuerdo a las diferentes especies de animales. En los roedores, es un fluido ácido con un pH de 6.5 conocido por la completa ausencia de azúcares reductores. Contiene fibrinolisisina muy activa, así como diestrasa y glucoronidasa,

responsables principales de la mucolisis del semen coagulado previamente de las vesículas seminales. También se encuentra una gran cantidad de ácido cítrico y de lecitinas (Marberger *et al.*, 1962).

#### **2.4.6. GLÁNDULA BULBOURETRAL**

Es una glándula par de aspecto sacular, que se presenta en todos los animales domésticos. Está situada en el tercio posterior de la uretra y se compone de una capsula delgada y fibrosa que contiene el parénquima multilocular. La glándula se halla normalmente retraída por una membrana también fibrosa sobre su propio eje, en forma de guisante (Aliaga, 1979).

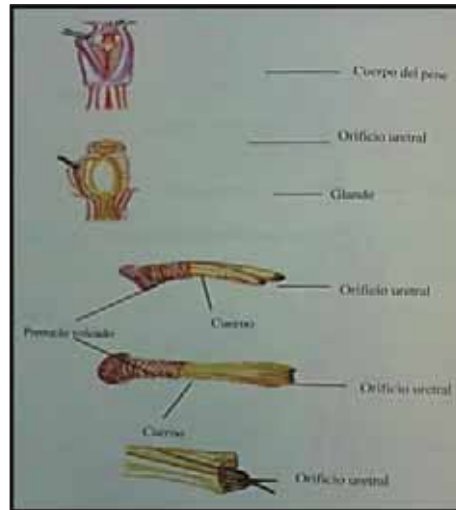
#### **2.4.7. PENE**

El pene es el órgano masculino de la copula y comprende tres partes diferentes: el glande (extremo libre), el cuerpo intermedio (contiene los cuerpos cavernosos) y las raíces insertadas en el arco esquelético de la pelvis (Alba, 1990).

En el momento de la erección esta curvatura, tienen un promedio de 4cm de largo desde su raíz y 5mm de diámetro. El prepucio o vaina está formado por una capa fibrosa muscular, el glande tiene la forma de cono truncado presentándose en su porción ventral una hendidura en cuyo centro se halla el meato urinario (Zuñiga y Quisiyupanqui, 1995).

Por debajo del glande existe una especie de saculacion en cuyo interior se encuentra 2 prolongaciones a manera de colmillos de consistencia dura, cartilaginoso, queratizada, que se proyecta hacia adelante con sus extremos curvados suavemente hacia arriba; esta estructura posiblemente contribuye al orgasmo de la hembra que es frecuentemente vascularizado de consistencia esponjosa (Zuñiga y Quisiyupanqui, 1995).

**Figura 2.** Estructura del Glante



Fuente: (Aliaga *et al.*, 2009)

## **2.5. MÉTODOS DE COLECCIÓN DE SEMEN**

### **2.5.1. RECOLECCIÓN SEMINAL POST-MORTEM**

Se trata de una técnica primitiva y muy generalizada en animales salvajes, de tal modo que después de su muerte se extraen las ampollas de Henle, se ligan sus comunicaciones respectivas con los conductos deferentes y uretra y se mantienen en refrigeración de 2 a 5° c hasta utilizar el contenido seminal (Perez, 1965).

Si bien su mayor inconveniente es la recolección del eyaculado incompleto por ausencia de secreciones glandulares para genitales. En tales circunstancias, el eyaculado no presenta las condiciones de cuagulabilidad en el aparato genital femenino (Pérez, 1966).

La supervivencia de los espermatozoides en la ampolla de Henle puede conseguirse normalmente hasta los 4-5 días, aunque la capacidad fecundante desaparece mucho antes (24 – 72 horas). De aquí la necesidad de usar el contenido seminal lo

antes posible a la recogida post-mortem; en general se obtiene escasa capacidad fecundante. En este caso, los espermatozoides se encuentran en las peores condiciones de conservación "in vitro", fenómeno relacionado con la situación (agitación del seminal) momentos antes su muerte. Sin embargo, gracias a esta técnica de recolección seminal, se han obtenido los primeros cruces entre el conejo doméstico y el salvaje y otras especies (Pérez, 1966).

### **2.5.2. RECOLECCIÓN SEMINAL POR ELECTROEYACULACIÓN**

El cuy sin ser anestesiado se sujeta en posición decúbito-dorsal con el tren posterior ligeramente levantado: el electro rectal lubricado con una solución de jabón, era insertado en el recto a una profundidad de 3cm más o menos, después de remover las heces fecales completamente. Es necesario sujetar convenientemente al animal para evitar que antes de las primeras descargas de corriente, expela el electro o le haga daño, recordar de no haber demasiada presión sobre el pecho, cuello y cabeza ya que fácilmente se asfixia. Esta operación requiere paciencia y delicadeza (Sumar *et,al.*,1968).

Se consigue erección del pene después de 5 a7 descargas de voltio de 2 a 3 segundos de duración con intervalos de descanso de 10 segundos más o menos. En esta etapa se observa en algunos casos una pequeña descarga de orina que hay que absorber con algodón hidrófilo: una serie de mayor de 10 descargas es mejor para conseguir la eyaculación y para obtener muestras viables en la mayoría de los casos; la frecuencia fluctuada entre 20 y 40 ciclos por segundo. La apariencia del eyaculado varia de un coagulo pobre de espermatozoides (vaginal plug, para los autores americanos) a un fluido lechoso no coagulable rico en espermatozoide y buena motilidad. Ninguno de los animales eyaculo más de tres veces por semana; cuando una colección se hizo por primera vez a un animal, se obtuvo un coagulo muy firme con pocos espermatozoides o casi ninguno, pero en sucesivas

colecciones al mismo animal, con intervalos de 2 días, la cantidad del coágulo decrecía considerablemente y se incrementaba el fluido rico en espermatozoides en el cuy doméstico (Sumar ,*et al.*,1968).

El animal estaba restringido por una agarradera del pecho de cuero, las extremidades superiores e inferiores se encontraban atadas para evitar el daño a los animales. Los cuartos traseros estaban atados, un cordón y una correa elástica se usó para mantener el animal presionado en contra del electrodo lumbar. El pelo fue recortado de la parte lumbar y de la región sacra. El electrodo fue aplicado a la piel para asegurar contacto eléctrico con el electrodo lumbar. El electrodo anal fue en el que se metió lubricado intercalado de 4 a 6 cm en el recto. Una serie de estímulos de 3 s con un periodo de descanso de 12 s. el semen fue usualmente eyaculado durante la primera parte para fluir durante los períodos sucesivos de estimulación (Freund , 1969).

## **2.6. SEMEN**

El semen es la suspensión celular líquida que contiene los gametos masculinos (espermatozoides) y las secreciones de los órganos accesorios del aparato reproductor masculino. La porción líquida de dicha suspensión, que se forma durante la eyaculación, se conoce como plasma seminal (Hafez, 1989).

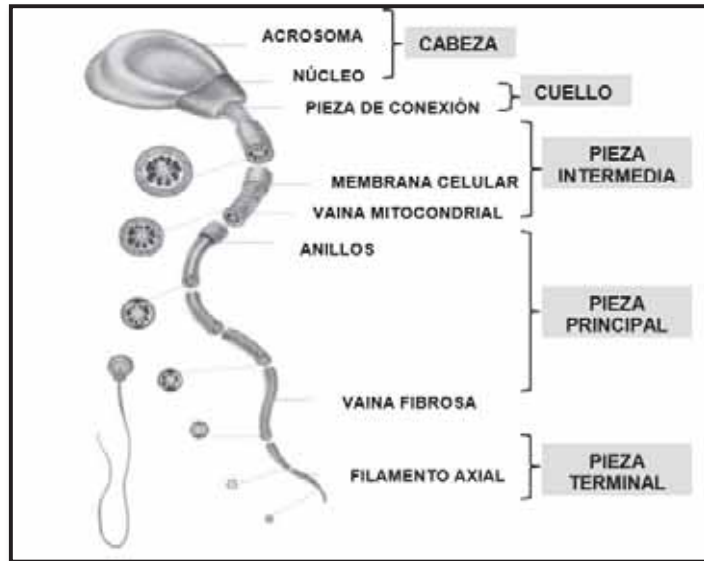
La producción de espermatozoides y el tamaño testicular están altamente correlacionados, por lo tanto, tamaño testicular constituye un señalizador cuantitativo de producción de espermatozoides (Franca *et al.*,1998; Johnson *et al.*,2000).

### **2.6.1. EL ESPERMATOZOIDE**

En el caso de los mamíferos como el cobayo sus espermatozoides están estructuralmente conformados por dos partes principales, la cabeza y la cola (Tulsiani y Abou-Haila, 2012). La cola está subdividida en cuatro regiones; el cuello, pieza media, pieza principal y pieza final. Mientras que los principales componentes

de la cabeza, son el acrosoma y el núcleo (Fawcett, 1963). La cabeza del espermatozoide del cuy (*Cavia porcellus*), es ancha, simétrica y tiene forma de disco con la parte final truncada. El acrosoma cubre alrededor del 50% de la longitud total de la cabeza (Gallardo *et al.*, 2002).

**Figura 3.** Estructura del espermatozoide de cuy.



Fuente:(Fawcett, 1965).

Los espermatozoides tienen origen en los túbulos seminíferos de los testículos. Estos túbulos contienen una serie compleja de células germinales en desarrollo que constituirán los gametos masculinos. El espermatozoide entero está cubierto por un plasmolema o membrana plasmática (Hafez, 1989).

El acrosoma o casquete acrosómico, es una estructura de doble pared situada entre la membrana plasmática y la porción anterior de la cabeza del espermatozoide. Un cuello une la cabeza del espermatozoide con su cola (flagelo), la cual a su vez es subdividida en los segmentos medio, principal y caudal o terminal (Hafez, 1989).

### **2.6.2. AGLUTINACIÓN DE ESPERMATOZOIDES EN ROULEAUX.**

La aglutinación cabeza con cabeza o cola con cola o de forma mixta, causa inhibición del transporte espermático. Se desconoce la significación inmunológica de la aglutinación espermática en la fecundidad (Hafez, 1989).

Cooper *et al.*, (2000). Indica que a diferencia de los espermatozoides del *Galea musteloides* los espermatozoides del *Cavia aperea*, hicieron aglutinación en rouleaux.

Williamson *et al.*,(1980). Los conejillos de indias fueron inseminados con espermatozoides del conducto deferente, donde están característicamente organizados en rouleaux. En la parte del epidídimo proximal donde el rouleaux es infrecuente, la fertilidad fue muy reducida de 16 hembras inseminadas, solo 4 estaban preñada. La formación de rouleaux en la inseminación es el indicativo de la madures fisiológica como también morfológica.

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. DEL LUGAR DE ESTUDIO.

##### 3.1.1. Ubicación geográfica.

El estudio se realizó en el Centro de Investigación en Camélidos Sudamericanos CICAS – LA RAYA, perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela Profesional de Zootecnia de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC) localizada en el distrito de Maranganí, provincia de Canchis, región del Cusco, carretera principal Cusco – Puno.

- Latitud sur. 14° 00' - 15° 45'
- Longitud oeste. 69° 00' - 75° 00'
- Altitud. 4 200 m.s.n.m.
- Promedio de precipitación pluvial. 965 mm
- Temperatura promedio anual. 6.54 °C - 13.5 °C

Fuente: Estación meteorológica del CICAS “La Raya” (1995)



**Foto 1.** Centro de Investigación de Camélidos Sudamericanos. (CICAS- La Raya).



### 3.1.2. Duración del estudio

El estudio se realizó entre los meses de febrero a julio del 2018.

## 3.2. MATERIALES DE ESTUDIO

### 3.2.1. Material biológico

- Se utilizaron 5 cuyes machos del tipo 1

### 3.2.2. Materiales para la colección de semen.

- Electroeyaculador (Minitube)
- Balanza de 50 kg de capacidad.
- Anestésicos (Ketamina y Xilacina).
- Jeringa tuberculina
- Papel toalla o secante
- Libreta de campo, registros y lapiceros
- Cámara digital.
- Gel de ecografía.
- Guantes descartables.
- Tubos colectores de 5 cm de largo y 1 cm de diámetro



**Foto 2.** Materiales para la colección de semen de cuyes.

### 3.2.3. Reactivos e insumos

- Base TRIS (tris, d-fructuosa, ácido cítrico)
- Agua bidestilada estéril
- Papel secante
- Jeringas 10 ml
- Coloración-tinción Hemacolor
- Host más formaldehido
- Solución Hipoosmotica: citrato de sodio y fructuosa (HOST test)
- Eosina y Nigrosina (Vitalidad)



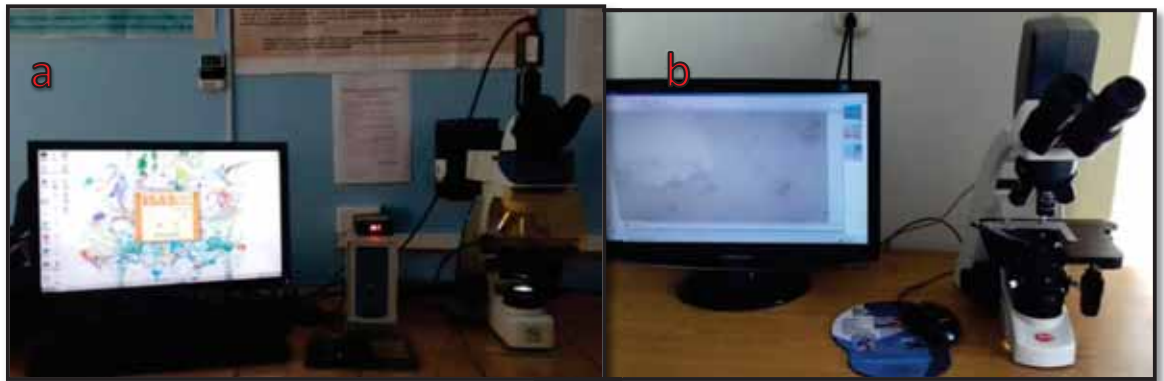
Foto 3. Reactivos para la evaluación de semen de cuy.

### 3.2.4. Materiales de laboratorio.

- Lamina portaobjetos
- Lamina cubreobjetos
- Micro pipeta de 0.5-10  $\mu$ l (BOECO Germany SP series) y Tips de 0.5 -10  $\mu$ l y de 10 - 100  $\mu$ l.
- Balanza
- Papel bond.
- Lapiceros indeleble

### 3.3.5. Equipo de laboratorio.

- Computadora con software isas v 12.
- Software SAS v8 (análisis estadístico).
- Impresora.
- Cámara digital.
- Baño maría seco (Minitube)
- Microsmómetro (Löser)
- Motic Plus Images 2.0



**Foto 4.** Equipo Integrate Semen Analysis System (ISAS) v 1.1 CASA(a), equipo Motic Plus Images 2.0 (b)

### 3.4. DEL LABORATORIO.

Esta investigación se realizó en el “Laboratorio de Biotecnologías Reproductivas”, de la Escuela Profesional de Zootecnia en el Centro Experimental “La Raya”, donde fueron evaluados las características macroscópicas (volumen y color), microscópicas (concentración, motilidad, vitalidad, funcionalidad de la membrana espermática e integridad acrosomal), parámetros de motilidad (VCL, VSL, VAP, LIN, STR, WOB, ALH, BCF) y subpoblaciones espermáticas del espermatozoides de cuyes.

### 3.5. METODOLOGÍA DE ESTUDIO

#### 3.5.1. De los animales.

Se comenzó la investigación desde febrero a julio del 2018, se utilizaron 5 cuyes machos, del tipo 1, de 3- 4 meses de edad, con un peso promedio inicial de 1.180 gr y final de 1.400 gr, a cada uno de los animales se les realizó el examen clínico de los órganos genitales externos como el testículo. Los animales fueron sometidos a la colección de semen, por el método de electroeyaculación.

**Tabla 10. Peso de cuyes al inicio y final y edad.**

Cuyes	Inicio		Final		Edad (meses)
	Peso(g)	Fecha	Peso(g)	Fecha	
1	1.100	27-04	1.250	30-05	4
2	1.100	19-04	1.450	26-06	4
3	1.400	14-05	1.500	27-06	4
4	1.200	26-04	1.350	02-05	4
5	1.100	11-04	1.450	19-06	4
<b>Promedio</b>	<b>1.180</b>		<b>1.400</b>		<b>4</b>

#### 3.5.2. De la alimentación e instalación.

Los animales se encontraban en un galpón, el cual se limpió, acondicionó e implementó para mejorar las condiciones de ventilación y temperatura de este, los cuyes se encontraban en pozas 1m x 0.5 m x 0.45 m cada uno. La alimentación fue mixta (forraje y concentrado), se le administraba dos veces al día, en el día concentrado y en la noche alfalfa.

#### 3.5.3. De la preparación de los animales para la etapa de experimentación.

Para lograr que los cuyes machos eyaculen por el método de electroeyaculación, se empleó un cuy hembra. Se colocaba a la hembra y el macho juntos en una caja durante 10 a 20 minutos, el macho comenzaba a estimularse, producir sonidos característicos y montar a la hembra por varias repeticiones, pero sin producir ningún tipo de eyaculación.

#### 3.5.4. Preparación del dilutor.

Se utilizó un dilutor a base de TRIS para la colección de semen, este fue preparado de la siguiente manera:

**Tabla 11. Componente del dilutor para el semen fresco para semen de cuy.**

Componentes del dilutor para semen fresco	Cantidad
Tris	3.028 g
D-fructuosa	1.25g
Ácido cítrico	1.7 g
Agua bidestilada estéril	hasta 100 ml

Fuente: (Souza, 2009).

El dilutor TRIS, ofrecer un medio óptimo para los espermatozoides y para brindar azúcares simples como fuente de energía, mantener la osmolaridad, amortiguar el pH del medio, para disolver la masa espermática colectada y poder evaluar sus características microscópicas (Contreras, 2018).

#### 3.5.5. Preparación del electroeyaculador.

Se diseñó un transductor para cuyes tipo rectal, con electro bipolar, de 6 cm de largo y 0.4 cm de diámetro, que se le adaptó al electroeyaculador Minitube. El dispositivo está equipado con un control de potencia digital con microprocesador, abastecido por una corriente continua de una batería de Minitube, la corriente tenía una variación de frecuencia de 0.5 a 20 (v) con una resolución de 0,5 unidades.





**Foto 5.** Electroeyaculador Minitube e 320 (a) y transductor diseñado para los cuyes (Sumar *et al.*,1968) (b).

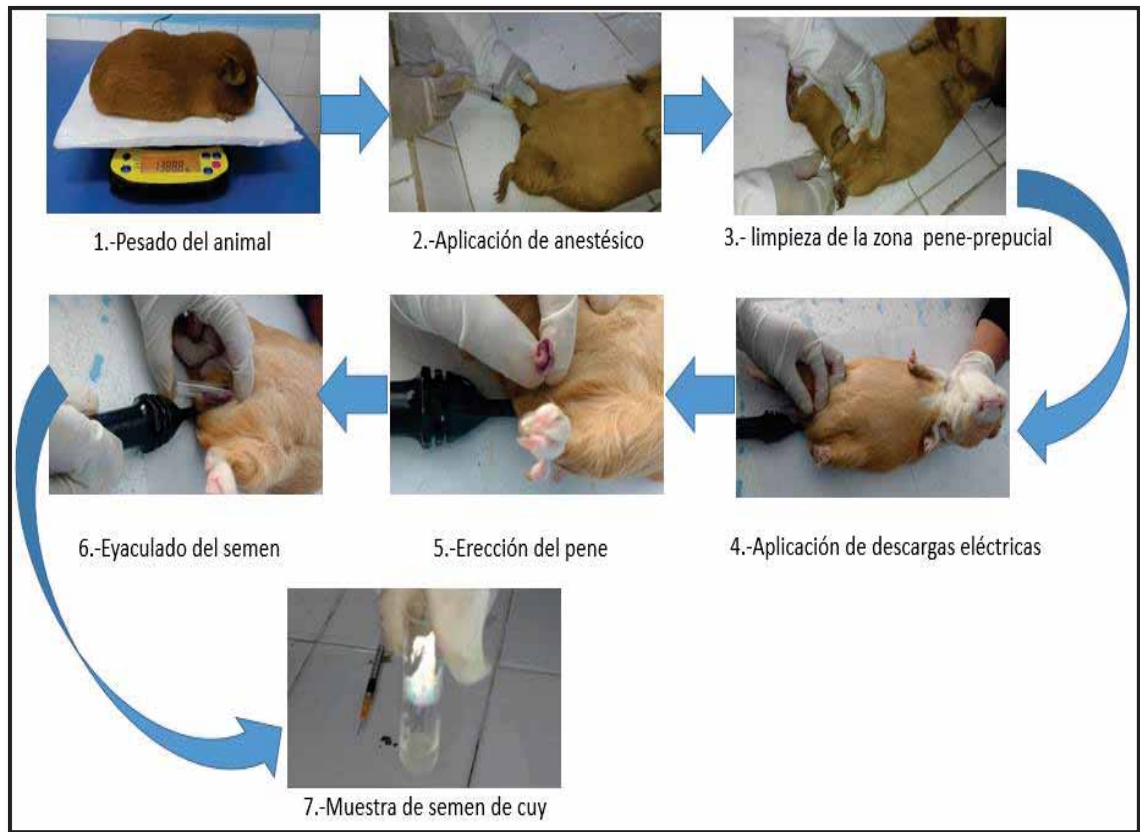
### **3.5.6. Colección de semen por electroeyaculación.**

La colección se realizó una vez a la semana, con 2,4 y 5 colectas por animal, siguiendo la siguiente técnica:

1. Los animales fueron trasladados del galpón hacia el laboratorio, es recomendable un lugar tranquilo para evitar el estrés de los animales.
2. Se realizó el pesado de cada animal.
3. Los animales son anestesiados por vía intramuscular, con xilasina 2% (0.05ml/kg) y ketamina al 10% (0.10ml/kg) en función al peso, se esperó entre 1 a 2 minutos para que el animal se encuentre totalmente aletargado (Meza *et al.*, 2018).
4. Se sujetó a los animales en posición decúbito-dorsal, con la cabeza ligeramente levantada, para evitar que el animal se moviera se agarró de las

extremidades superiores, luego se realizó la limpieza de la zona prepucial, seguidamente se realizó el desvaine del pene (Sumar *et al.*,1968).

5. Se utilizó el electroeyaculador, conectado al transductor de 5 cm de largo y 0.4 cm de diámetro, con dos electrodos bipolares, seguidamente este fue lubricado. El protocolo de estimulación eléctrica comprende un incremento gradual de 2 voltios hasta conseguir 8 voltios. Estos estímulos eran constantes sin intervalos de descanso hasta llegar al pico de estimulación.
6. La erección del pene ocurrió después de 3 a 4 descargas de 3 a 4 voltios.
7. Después de 15 a 25 minutos, con considerables variaciones individuales, se observó en las primeras colectas un coagulado blanquecino que se endurece al tomar contacto con el ambiente y luego de la expulsión de este, se produce el eyaculado del semen, este tapón se presentó en el 22% de colectas sucesivas y en el resto no apareció.



**Foto 6.** Pasos para la colección de semen por el método de electroeyaculación en cuyes.

### 3.6. EVALUACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES

#### 3.6.1. Evaluaciones macroscópicas

##### 3.6.1.1. Volumen

Para determinar el volumen, se utilizó un tubo colector rotulado y graduado en mililitros (ml), obtenido la muestra de semen se procedió con la lectura por examen visual.





**Foto 7.** Muestra de colección de semen en el tubo colector.

### **3.6.1.2. Color**

Para determinar el color, se realizó el examen visual, tomando en cuenta las tonalidades básicas como el blanco lechoso, blanco semilechoso y blanco semitransparente.

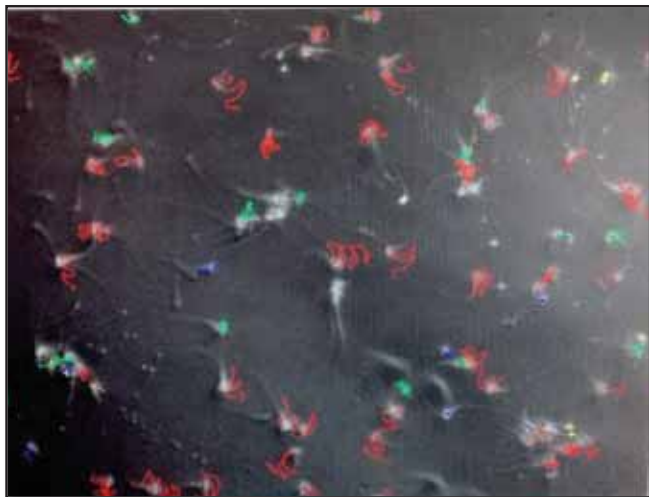
### **3.6.2. Evaluaciones microscópicas**

#### **3.6.2.1. Motilidad**

Para determinar la motilidad del semen se procedió a colocar una pequeña fracción de semen (5  $\mu$ l), sobre una lámina portaobjetos, previamente calentado a 37°C, cubriendo con el cubreobjetos a la misma temperatura, luego se observó en un enfoque de 10x en el equipo ISAS, que está equipada con una platina térmica.

Se ha trabajado con el módulo de motilidad del sistema ISAS, con una configuración de 25 fotos por segundo, el sistema ha discriminado a los espermatozoides en 3 grupos:

- **Estáticos**, que son aquellos espermatozoides que carecen de movimiento, el sistema marca de color amarillo.
- **Móviles progresivos**, los espermatozoides que muestran movimiento de traslación, el sistema muestra de color rojo y verde.
- **Móviles no progresivos**, los espermatozoides que no muestran movimiento lineal pero en el mismo lugar o de oscilación de la cabeza, son identificados con un color azul.



**Foto 8.** Imagen de la evaluación de la motilidad espermática de semen de cuy, evaluada con el equipo (ISAS).

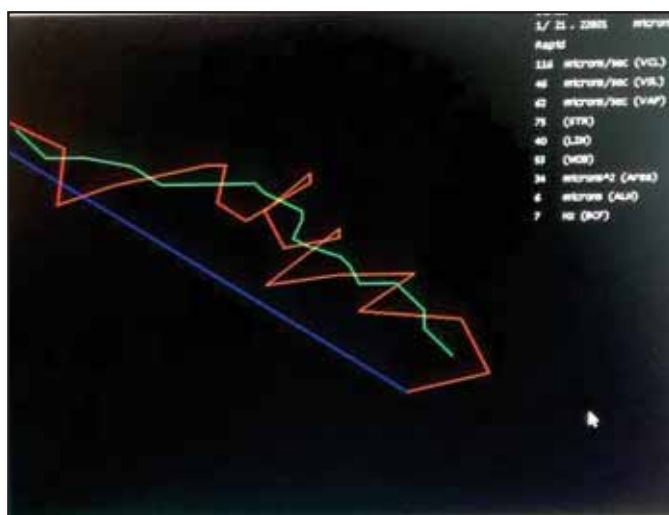
**3.6.2.2. Parámetros de motilidad:**

**a) Parámetros de velocidad:**

- Velocidad curvilínea (VCL).
- Velocidad rectilínea (VSL).
- Velocidad promedio de desplazamiento (VAP).
- Porcentaje de linealidad (LIN).
- Índice de rectitud (STR).
- Índice de oscilación (WOB).

**b) Parámetros de angularidad y oscilación de la cabeza:**

- Amplitud del desplazamiento lateral de cabeza (ALH).
- Frecuencia de batido (BCF).

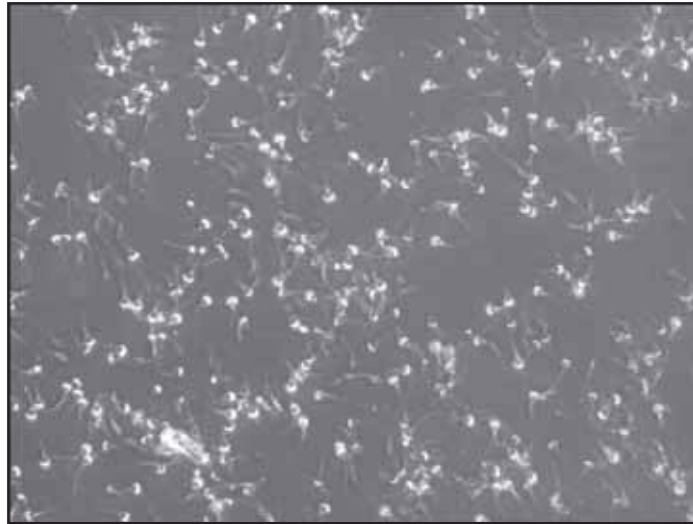


**Foto 9.** Imagen de la evaluación del patrón de movimiento de espermatozoides de cuy, utilizando el (ISAS).

### 3.6.2.3. Concentración espermática.

La concentración espermática, es obtenida usando el módulo de motilidad Integrated semen Analysis System (ISAS). El semen colectado, es diluido con el TRIS, el cual fue previamente calentado a la temperatura corporal, luego se pasa a homogenizar, el volumen del dilutor usado, dependió de la concentración espermática de cada colecta. Se realizó el siguiente procedimiento:

- a) Para este fin se cogió 5  $\mu$ l de la muestra de semen, con la ayuda de una micro pipeta, seguidamente fue colocada a un portaobjeto.
- b) Luego se cubrió cuidadosamente con el cubreobjetos, para evitar formar burbujas de aire.
- c) Usando el lente 10x se captura el número necesario de imágenes, se contaron aproximadamente 1000 células espermáticas. Proiser (2010), indica que se debe de realizar un análisis de mínimo de 200 células, con diferencias menores al 10% y así se determina el número de espermatozoides por ml, y se expresa en millones por ml.



**Foto 10.** Imagen de la evaluación de la concentración espermática de semen de cuy, utilizando el (ISAS).

#### **3.6.2.4. Vitalidad espermática.**

El análisis de vitalidad espermática se realizó después de la colección de semen en el Motic Plus Images.

Se utilizó eosina y nigrosina. El procedimiento es el siguiente:

- a) Se colocó los portaobjetos previamente rotulado (para evitar la confusión en el momento de la evaluación), sobre una platina a 37°C.
- b) La muestra de semen debe ser diluida a una concentración de 15 - 20 millones por ml. Se deposita 5 µl de la muestra diluida en un portaobjetos, se le añade 5 µl de reactivo A (eosina) y 5 µL de reactivo B (nigrosina), se mezcla, con la ayuda de otro portaobjeto se realiza el frotis y se deja secar al medio ambiente.
- c) La muestra coloreada fue observada en el Motic Plus Images 2.0, a un objetivo de 40x, se evaluó no menos de 100 espermatozoides por muestra.
- d) Se clasifico a los espermatozoides de color blanco (vivos) y a los espermatozoides pigmentados de color rojo (muertos).



**Foto 11.** Imagen del análisis de la vitalidad espermática, espermatozoides de color rojo (muerto) y espermatozoide de color blanco (vivos). Evaluada en el Motic Plus Images.

#### **3.6.2.5. Funcionalidad de la membrana espermática (HOST)**

Para la evaluación de la funcionalidad de la membrana del espermatozoide de cuy se utilizó el Motic Plus Images 2.0, para lo cual se preparó una solución hipoosmótica con una concentración de 50 mOsm/l. Esta solución fue preparada con 0.0245 g/ml de citrato de sodio y 0.9 g/ml de d-fructuosa. El procedimiento es el siguiente:

- a) En un tubo eppendorf de 2 ml rotulado respectivamente de cada cuy, se colocó 100  $\mu$ l de solución hipoosmótica, calentada en el baño seco a 37°C.
- b) Se añadió 25  $\mu$ l de muestra de semen y se incubó por 5 minutos en el baño seco a 37°C.
- c) Concluido éste, se agregó 31  $\mu$ l de solución formulada para detener la reacción al estrés hiposmótico. La solución formulada, fue preparada: en un tubo eppendorf, se depositó 1 ml de solución hipoosmótica más 3  $\mu$ l de formaldehído.
- d) Para la evaluación, se colocó 5  $\mu$ l de semen sobre una lámina portaobjetos, cubriéndola con un cubreobjetos, fue observado en el microscopio Motic Plus

con el lente de 40x, capturando manualmente pequeñas poblaciones espermáticas, se realizó el conteo de 100 células espermáticas.

- e) Se consideró endosmosis positiva (espermatozoide con membrana intacta) a aquellos espermatozoides con flagelo torcido helicoidalmente, flagelo enrollado, flagelo ascendido y endosmosis negativa (espermatozoide con membrana dañada) a aquellos espermatozoides con flagelo recto.



**Foto 12.** Imagen de la funcionalidad de la membrana, reacción de células al estrés hiposmótico, a y b respuesta positiva a la solución osmótica, c célula sin reacción frente al estrés hiposmótico, evaluada en el Motic Plus Images.

#### **3.6.2.6. Integridad acrosomal en el espermatozoide.**

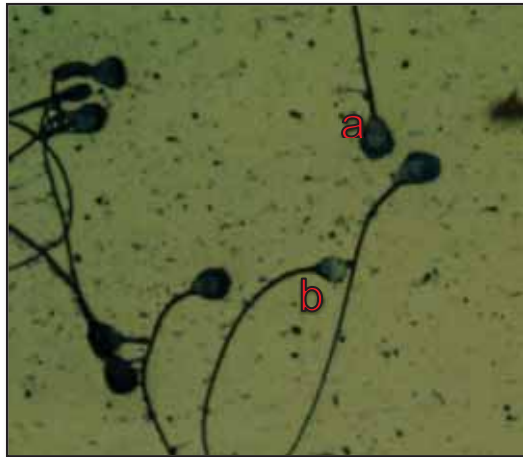
Para la integridad acrosomal se utilizó la tinción de Coomasie blue, se utilizó los siguientes colorantes y reactivos según protocolo de Fumuso *et al.*, (2014).

- 25 ml de metanol.
- 5 ml ácido acético.
- 20 ml de agua destilada.
- 0.11g Coomasie blue g 250.1.

Se realizó el siguiente procedimiento:

- a) Se colocó en un portaobjeto 5  $\mu$ l de muestra, luego se realizaron el frotis, los cuales se secaron en la platina a 37°C.

- b) Seguidamente se fijaron en la solución de formaldehído al 4% durante 15 minutos.
- c) Se lavaron con PBS y se colorearon con tinción de Coomassie blue (0.22%) durante 5 minutos.
- d) Posteriormente se lavaron con agua destilada y se secaron en el medio ambiente.
- e) Para la evaluación se utilizó el Motic Plus Images 2.0 con el lente de 40x, capturaron 100 espermatozoides, los espermatozoides se clasificaron en dos categorías: espermatozoides con acrosoma presente (acrosoma teñido de azul) y espermatozoides con acrosoma ausente (zona acrosomal sin teñir), luego se determinó el porcentaje de espermatozoides con acrosoma intacto.



**Foto 13.** Imagen de la integridad acrosomal del espermatozoide de cuy. Espermatozoide teñido de azul (acrosoma intacto) (a) y espermatozoide sin teñir (acrosoma ausente) (b), evaluada en el Motic Plus Images.

### 3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

#### a) Para las variables macroscópicas y microscópicas.

Para las características macroscópicas y microscópicas se aplicó la estadística descriptiva con el procedimiento UNIVARIATE del SAS v 8.0 (Statistical Analysis System), se determinó el promedio, desviación estándar y coeficiente de variabilidad, se ha realizado el test de Shapiro-Wilks para determinar la normalidad de los datos.

#### b) Para los parámetros de motilidad

Para los siguientes parámetros: VCL, VSL, VAP, LIN STR, ALH, WOB Y BCF se aplicó estadística descriptiva con el procedimiento UNIVARIATE del SAS v 8.0, se hizo el test de normalidad y luego se utilizó un análisis de varianza (ANVA) con un diseño de bloques completamente al azar (BCA), la comparación de medias se realizó con la prueba de Duncan. El modelo aditivo lineal utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + Cole_j + Cola_k + (A \times Cole)_{ij} + (Cola \times A)_{ki} + e_{ijk}$$

**Dónde:**

$Y_{ijk}$  = variable respuesta.

$\mu$  = media poblacional o constante común.

$A_i$  = efecto animal.

$Cole_j$  = efecto de la colecta

$Cola_k$  = efecto de la cola.

$e_{ijk}$  = error experimental.



### **c) Para determinar el número de subpoblaciones**

- **Determinación de variables**

El procedimiento PRINCOMP, fue primero aplicado para determinar los PCA (análisis de principales componentes) de los datos de motilidad. El propósito de PCA es para derivar un pequeño número de combinaciones lineales de un set de variables que retienen mucha información en las variables originales. Para determinar el número de componentes principales para ser usado en el subsiguiente paso de análisis, se usa el criterio de seleccionar los Eigenvalues mayores a 0.9.

- **Determinación de subpoblaciones**

Se utiliza un análisis no jerárquico de grupos usando el procedimiento FASTCLUS y los componentes principales seleccionados. Este procedimiento funciona en análisis en racimo disjunto con base en las distancias euclidianas (la k quiere decir modelo) computadas de uno o más variables cuantitativas (los parámetros de motilidad de esperma) que le permite el estudio de conjuntos de datos grandes de las observaciones. Las características de motilidad de esperma fueron divididos en grupos algo semejante que cada observación pertenece para lo único e incomparable el grupo. Los espermatozoides que estaban muy cerca el uno para el otro fueron asignados al mismo grupo, mientras los espermatozoides que difirió en las características fueron incluidos en grupos diferentes.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DE SEMEN COLECTADO POR ELECTROEYACULACIÓN.

##### 4.1.1. Características macroscópicas.

##### 4.1.1.1. Volumen.

En la tabla 12, se muestra el volumen de semen de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, no se hallaron diferencias significativas entre éstos ( $p>0.05$ ), tampoco se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p>0.05$ ).

**Tabla 12. Volumen de semen de cuyes colectados por el método de electroeyaculación.**

Cuyes	N° de colecta	Promedio (ml)	± DS (ml)	C.V (%)	Max. (%)	Min. (%)
1	4	0.33 a	0.03	8.88	0.35	0.30
2	5	0.44 a	0.16	35.39	0.70	0.30
3	5	0.41 a	0.14	33.66	0.58	0.20
4	2	0.33 a	0.11	32.64	0.40	0.25
5	5	0.38 a	0.13	34.31	0.50	0.20
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>0.39</b>	<b>0.12</b>	<b>28.98</b>	<b>0.51</b>	<b>0.25</b>

En la tabla 12, se muestra el volumen mínimo colectado fue de 0.20 ml y el máximo de 0.70 ml, no se hallaron diferencias significativa entre los 5 cuyes, el volumen promedio colectado por el método de electroeyaculación es superior al valor encontrado por Pinduisaca (2018), que obtuvo 0.22ml, utilizando un transductor con 3 polos, con una profundidad de 5cm, una frecuencia de 60 (pulsos/min) y 8 voltios con un tiempo de descanso de 4 s ;por otro lado es inferior a valor encontrado por Freund (1969), quien reporto 0.5 ml, y utilizó un electroeyaculador de 12 voltios, un transductor de 4-6 cm de profundidad, se aplicaron 25 voltios, 1000 ciclos de corriente alterna con un control automático de 3 segundos de estimulación por 12 segundos de descanso. Las diferencias se deberían al efecto del animal, número

de polos en el transductor, el protocolo de estimulación y la profundidad de inserción del transductor.

#### **4.1.1.2. Color**

En la tabla 13, se muestra los resultados de la evaluación del color del semen colectado de cuyes por electroeyaculación.

**Tabla 13. Color de semen de cuyes colectados por el método de electroeyaculación.**

<b>Color de semen</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Blanco lechoso</b>	17	77
<b>Blanco semilechoso</b>	4	18
<b>Blanco semitransparente</b>	1	5

En la tabla 13, se muestra el color de semen, el 77% es blanco lechoso, el 18% es blanco semilechoso y el 5 % es blanco semitransparente. Los colores de semen encontrados son similares a los hallados por Durrant (1984), por el método de electroeyaculación; Mise (2014) y Loor (2015) por el metodo post mortem, en todos los casos con variantes de blanquecino y blanco lechoso.

#### **4.1.2. Características microscópicas.**

##### **4.1.2.1. Motilidad progresiva.**

En la tabla 14, se muestra la motilidad progresiva del semen de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, no se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p>0.05$ ); tampoco se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p>0.05$ ).

**Tabla 14. Motilidad progresiva del semen de cuyes colectados por electroeyaculación.**

Cuyes	n° de colecta	Promedio (%)	± DS (%)	C.V (%)	Max. (%)	Min. (%)
1	4	5.86 a	2.10	35.75	8.90	4.17
2	5	7.55 a	1.61	25.97	9.51	4.65
3	5	3.90 a	3.56	91.43	9.86	1.00
4	2	3.68 a	2.55	69.46	5.48	1.87
5	5	3.17 a	2.77	87.35	7.80	1.13
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>4.83</b>	<b>2.80</b>	<b>45.56</b>	<b>7.98</b>	<b>3.77</b>

La motilidad progresiva máxima fue de 9.86 % y la mínima fue de 1.00%, el promedio obtenido de motilidad progresiva es inferior a lo reportado por Yucra (2013) de 6.16% , colectado por el metodo post mortem, la diferencia se deberia al metodo de coleccion, ya que ambos fueron evaluados en el mismo sistema (ISAS). También son inferiores a Adamkovicova *et al.* (2016), quiénes reportaron 27.69 % en un estudio realizado en ratas, colectados por el metodo post mortem, las diferencias se deberian a la especie y el método de colecta.

#### 4.1.2.2. Motilidad no progresiva

En la tabla 15, se muestra la motilidad no progresiva del semen de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, no se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p>0.05$ ), tampoco se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p>0.05$ ).

**Tabla 15. Motilidad no progresiva de semen de los cuyes colectados por electroeyaculación.**

Cuyes	N° de colecta	Promedio (%)	± DS (%)	C.V (%)	MAX. (%)	MIN. (%)
1	4	60.83 a	14.71	24.19	79.37	48.52
2	5	67.72 a	16.98	25.08	82.00	42.96
3	5	69.19 a	5.12	7.48	76.93	62.99
4	2	69.87 a	1.80	2.57	71.14	68.60
5	5	57.26 a	14.67	25.62	79.22	37.90
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>66.90</b>	<b>10.66</b>	<b>16.99</b>	<b>77.73</b>	<b>52.19</b>

La motilidad no progresiva máxima es de 82.00% y la mínima es 37.90%. El promedio de la motilidad progresiva es superior a los reportados por Yucra (2013), que reporto 20.45%, colectado por el metodo post mortem, la diferencia se deberia al metodo de colecta.

#### 4.1.2.3. Motilidad Total.

En la tabla 16, se muestra la motilidad total del semen de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, no se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p>0.05$ ), tampoco se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p>0.05$ ).

**Tabla 16. Motilidad total de semen de los cuyes colectados por electroeyaculación.**

Cuyes	n° de colecta	Promedio (%)	± DS (%)	C.V (%)	Max. (%)	Min. (%)
1	4	66.69 a	15.33	22.99	84.26	53.67
2	5	75.27 a	17.10	22.71	88.00	52.11
3	5	73.09 a	5.56	7.61	79.58	66.66
4	2	73.55 a	0.76	1.03	74.08	73.01
5	5	60.42 a	16.90	27.97	87.02	39.89
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>72.15</b>	<b>11.13</b>	<b>16.46</b>	<b>82.59</b>	<b>57.07</b>

En la tabla 16, se observa la motilidad total máxima es de 88.00 % y la mínima de 39.89 %, este resultado obtenido es superiores a Freund (1969), que reporto 66.00%, colectados por EE. También es superiores a los reportados por Pinduisaca (2018), colectados por EE, Unchupaico *et al.*, (2006), colectado por post mortem y Tapia y Tello (2016), colectado por el método de extirpación del epidídimo. Por otro lado son inferiores a los reportados por Loor (2015), quien utilizó como diluyente (concentrado en polvo y agua bidestilada) y empleo un microscopio simple para la evaluación de los espermatozoides que fueron colectados por extirpación del epididimo; Mise, (2014) utilizo como diluyente el Andromed, colecto

espermatozoides por el método post mortem, la diferencia se debería al efecto del animal, método de colecta, el equipo y el dilutor.

#### 4.1.2.4. Concentración.

En la tabla 17, se muestra concentración espermática de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, no se hallaron diferencias significativas entre éstos ( $p>0.05$ ), tampoco se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p>0.05$ ).

**Tabla 17. Concentración espermática del semen de cuyes colectados por electroeyaculación.**

Cuyes	Nº de colecta	Promedio (millones /ml)	± DS (millones /ml)	C.V (%)	Max. (millones /ml)	Min. (millones /ml)
1	4	20.83 a	7.37	35.40	28.20	10.60
2	5	15.24 a	2.64	17.34	18.30	12.30
3	5	16.58 a	3.33	20.06	20.10	12.60
4	2	32.65 a	38.40	117.60	59.80	5.50
5	5	13.02 a	4.71	36.18	17.70	5.20
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>21.33</b>	<b>11.29</b>	<b>45.32</b>	<b>28.82</b>	<b>9.24</b>

La concentración máxima fue de 59.80 millones/ml y la mínima fue 5.20 millones/ml, el promedio de los resultados de la concentración espermática es superior a los datos encontrados por Pinduisaca (2018); y son inferiores a lo reportado por Freund (1969), ambos colectados por el método de EE; también son mayores a lo hallado por Mise (2014), quien colectó espermatozoides por el método post mortem, Tapia y Tello (2016) y Loor (2015), quienes utilizaron cámaras de Neubauer para la evaluación de los espermatozoides, colectados por el método de Extirpación del epididimo. La diferencia entre los resultados obtenidos probablemente se debería a los distintos métodos de colección, la respuesta de los animales evaluados y el equipo utilizado para la evaluación.

#### 4.1.2.5. Vitalidad.

En la tabla 18, se muestra la vitalidad de espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, no se hallaron diferencias significativas entre éstos ( $p>0.05$ ), tampoco se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p>0.05$ ).

**Tabla 18. Espermatozoides vivos de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.**

Cuyes	n° de colecta	Promedio (%)	± DS (%)	C.V (%)	Max. (%)	Min. (%)
1	4	69.92 a	4.03	5.76	75.30	65.66
2	5	76.67 a	9.48	12.37	86.58	63.54
3	5	77.33 a	3.78	4.89	81.33	71.11
4	2	75.26 a	16.55	22.00	86.96	63.55
5	5	66.05 a	6.94	10.50	72.78	55.88
<b>total</b>	<b>21</b>	<b>74.80</b>	<b>8.16</b>	<b>11.10</b>	<b>80.59</b>	<b>63.95</b>

En la tabla 18, se muestra que el porcentaje de espermatozoides vivos máximos fue 86.96 % y mínimo de 55.88%, el promedio de los espermatozoides vivos obtenidos son superiores a Yucra (2013), quien reportó 58.27%, a Tapia y Tello (2016), que reportaron 36,6%, en ambos casos de espermatozoides colectados por el método post mortem, la diferencia sería por los animales y el método de colecta. Mientras los datos hallados por Loor (2015) y Mise (2014) de espermatozoides colectados post mortem, son inferiores, las discrepancias se deberían al método de colección y el reactivo.

#### 4.1.2.6. Funcionalidad de la membrana espermática (reacción total)

En la tabla 19, se muestra la funcionalidad de la membrana espermática (reacción total) de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, no se hallaron diferencias significativas entre éstos ( $p>0.05$ ), tampoco se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p>0.05$ ).

**Tabla 19. Funcionalidad de la membrana espermática (reacción total) de semen de los cuyes, colectados por el método de electroeyaculación.**

<b>Cuyes</b>	<b>n° de colecta</b>	<b>Promedio (%)</b>	<b>± DS (%)</b>	<b>C.V (%)</b>	<b>Max. (%)</b>	<b>Min. (%)</b>
<b>1</b>	4	97.88 a	1.50	1.53	99.20	95.73
<b>2</b>	5	98.03a	1.71	1.74	99.59	95.43
<b>3</b>	5	98.84a	0.54	0.54	99.45	97.97
<b>4</b>	2	93.37a	8.02	8.59	99.04	87.70
<b>5</b>	5	95.20a	4.74	4.98	98.57	86.97
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>96.66</b>	<b>3.30</b>	<b>3.48</b>	<b>99.17</b>	<b>92.76</b>

La funcionalidad de la membrana espermática (reacción total) máxima fue de 99.59% y la mínima fue de 86.97%, los resultados obtenidos son superiores a los reportados por Tapia y Tello ( 2016), quienes reportaron 18,0 %, colecto los espermatozoides por el método de extirpación quirúrgica del epidídimo, las diferencias probablemente se deberían al efecto del animal y el método de colecta y el reactivo utilizado en la evaluación.

#### **4.1.2.6.1. Funcionalidad de la membrana espermática (reacción fuerte).**

En la tabla 20, se muestra la funcionalidad de la membrana espermática (reacción fuerte) de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, no se hallaron diferencias significativas entre éstos ( $p>0.05$ ), tampoco se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p>0.05$ ).



**Tabla 20. Funcionalidad de la membrana espermática (reacción fuerte) de semen de cuyes, colectados por el método de electroeyaculación.**

<b>Cuyes</b>	<b>n° de colecta</b>	<b>Promedio (%)</b>	<b>± DS (%)</b>	<b>C.V (%)</b>	<b>Max. (%)</b>	<b>Min. (%)</b>
<b>1</b>	4	65.48 a	10.35	15.80	78.57	55.09
<b>2</b>	5	79.32 a	9.84	12.48	91.09	68.46
<b>3</b>	5	74.40 a	13.01	17.49	83.68	51.74
<b>4</b>	2	61.69 a	6.60	10.70	66.35	57.02
<b>5</b>	5	72.63 a	22.22	30.59	95.24	44.11
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>70.22</b>	<b>12.41</b>	<b>17.41</b>	<b>82.99</b>	<b>55.28</b>

La funcionalidad de la membrana espermática (reacción fuerte) máxima fue de 95.24% y la mínima fue de 44.11%, el promedio fue de 70.22%, no existen otros reportes en cuyes sobre la funcionalidad de la membrana espermática (reacción fuerte) para poder comparar el trabajo de investigación.

**4.1.2.6.2. Funcionalidad de la membrana espermática (reacción moderada).**

En la tabla 21, se muestra la funcionalidad de la membrana espermática (reacción moderada) de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, no se hallaron diferencias significativas entre éstos ( $p>0.05$ ), tampoco se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p>0.05$ ).

**Tabla 21. Funcionalidad de la membrana espermática (reacción moderada) de semen de los cuyes, colectados por el método de electroeyaculación.**

<b>Cuyes</b>	<b>n° de colecta</b>	<b>Promedio (%)</b>	<b>± DS (%)</b>	<b>C.V (%)</b>	<b>Max. (%)</b>	<b>Min. (%)</b>
<b>1</b>	4	32.39 a	11.04	34.07	42.00	19.52
<b>2</b>	5	18.71 a	8.50	45.44	28.02	8.50
<b>3</b>	5	24.44 a	13.06	53.43	47.22	15.26
<b>4</b>	2	31.69 a	1.42	4.49	32.69	30.68
<b>5</b>	5	22.57 a	18.45	81.73	42.86	3.33
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>26.81</b>	<b>10.49</b>	<b>43.83</b>	<b>38.56</b>	<b>15.45</b>

La funcionalidad de la membrana espermática (reacción moderada) máxima fue de 42.22% y la mínima fue de 3.33%, no existen otros reportes en cuyes sobre la funcionalidad de la membrana espermática (reacción moderada) para poder comparar el trabajo de investigación.

#### 4.1.2.7. Integridad acrosomal del espermatozoide.

En la tabla 22, se muestra la integridad acrosomal de los espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, no se hallaron diferencias significativas entre éstos ( $p>0.05$ ), tampoco se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p>0.05$ ).

**Tabla 22. Integridad acrosomal de los espermatozoide de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.**

Cuyes	n° de colecta	Promedio (%)	± DS (%)	C.V (%)	Max. (%)	Min. (%)
1	4	95.96 a	1.67	1.74	97.88	93.81
2	5	99.25 a	0.43	0.43	99.51	98.50
3	5	97.76 a	1.31	1.34	98.80	98.52
4	2	93.43 a	0.81	0.87	94.00	92.85
5	5	96.45 a	3.89	4.03	99.01	90.24
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>96.57</b>	<b>1.62</b>	<b>1.68</b>	<b>97.84</b>	<b>94.78</b>

La integridad acrosomal máxima fue de 99.51% y la mínima fue de 90.24%, el porcentaje medio de la integridad acrosomal es superior a los reportados por Chavarria (1984), quien obtuvo 13,8% , colecto los espermatozoides por el método post mortem, utilizo nucleótidos cíclicos y hormonas esteroides. La diferencia de los resultados se debería probablemente al reactivo utilizado y el método de colecta.

## 4.2. Parámetros de motilidad.

### 4.2.1. Velocidad curvilínea (VCL).

En la tabla 23, se muestra la velocidad curvilínea de los espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p < 0.05$ ), siendo el cuy n° 2 el que presenta mayor VCL en relación a los demás, también se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 23. Velocidad curvilínea de los espermatozoides por animal obtenida según el ISAS.**

Cuyes	N°de colecta	VCL		
		Promedio ( $\mu\text{m/s}$ )	$\pm$ DS	C.V (%)
1	4	84.54 e	27.74	32.81
2	5	97.32 a	23.52	24.17
3	5	92.05 b	26.05	28.30
4	2	86.21 d	13.29	15.42
5	5	87.66 c	25.45	29.03
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>89.56</b>	<b>23.21</b>	<b>25.95</b>

Los resultados obtenidos son superiores a Yucra (2013), que reporto 46.62  $\mu\text{m/s}$ , en cuyes domésticos, utilizo el mismo equipo (ISAS), la diferencia se debería al método de colecta que fue post mortem. También el VCL que se obtuvo es mayor a lo reportado por Cooper *et al.*, (2000) y Adamkovicova *et al* (2016), quienes realizaron la evaluación en cuyes silvestres (*Cavia aperea*) y ratas, ambos fueron colectados a los espermatozoides por el método de post mortem. Las diferencias se deberían al efecto del animal, la especie utilizada y el método de colecta.

En la tabla 24, se muestra la velocidad curvilínea de los espermatozoides de los cuyes colectados por electroeyaculación, evaluados por la aglutinación de espermias (formación de rouleaux), se hallaron diferencias significativas entre la aglutinación de colas ( $p < 0.05$ ), siendo los espermatozoides que se encuentran

aglutinados formando rouleaux por más de 5 células las que presenta mayor VCL en relación a los demás.

**Tabla 24. Velocidad curvilínea de los espermatozoides por la aglutinación de células espermáticas (colas), obtenidas según el ISAS.**

Colas	VCL		
	Promedio( $\mu\text{m/s}$ )	$\pm$ DS	C.V (%)
1	67.56 e	38.76	57.37
2	79.45 d	42.13	53.03
3	87.03 c	41.35	47.51
4	107.61 b	44.27	41.14
+5	113.11 a	45.21	39.97
<b>Total</b>	<b>90.95</b>	<b>42.34</b>	<b>47.80</b>

En la tabla podemos ver que los espermatozoide con 1 sola cola, tiene la menor VCL en comparación con los espermatozoides que se encuentran aglutinados por 4 y más de 5 células espermáticas (colas), podemos indicar de acuerdo a Williamson *et al.*,(1980), que los espermatozoides en rouleaux se encuentran en una madurez fisiológica y morfológica, por lo tanto son más rápidos.

Estos resultados hallados son inferiores a los reportados por Cooper *et al.*, (2000), que reporto 79.5  $\mu\text{m/s}$  con una célula espermática, mientras que los espermatozoides que se encuentran aglutinados 3,4 y más de 5 células espermáticas son superiores a lo reportado por Cooper *et al.*, (2000), utilizo el equipo Computerized Sperm Motion Analysis para la evaluación en cuyes silvestres (*Cavia aperea*). La diferencia se debería al método de colecta, el equipo utilizado y la especie.

#### **4.2.2. Velocidad rectilínea (VSL).**

En la tabla 25, se muestra la velocidad rectilínea de los espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p < 0.05$ ), siendo los cuyes n° 1 y 2 los que presentan mayor VSL en

relación a los demás, también se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 25. Velocidad rectilínea de los espermatozoides por animal, obtenida según el ISAS.**

Cuyes	n° de colecta	VSL		
		Promedio ( $\mu\text{m/s}$ )	$\pm$ DS	C.V (%)
<b>1</b>	4	26.72 a	8.22	30.76
<b>2</b>	5	26.44 a	5.43	20.53
<b>3</b>	5	26.07 b	5.79	22.21
<b>4</b>	2	25.12 c	8.11	32.29
<b>5</b>	5	25.88 c	8.02	30.97
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>26.05</b>	<b>7.11</b>	<b>27.35</b>

Los valores promedios obtenidos de la VSL es superior a lo reportado por Yucra (2013) de  $14.73 \mu\text{m/s}$ , realizo en cuyes domésticos, utilizó el mismo equipo de evaluación el ISAS. Mientras Cooper *et al.*, (2000) y Adamkovicova *et al.*, (2016), reportaron valores inferiores, utilizaron el equipo Computerized Sperm Motion Analysis para la evaluación en cuyes silvestres y ratas, colecto los espermatozoides por el método post mortem. Las diferencias de los resultados se deberían al efecto del animal, la especie, el método de colecta y el equipo.

En la tabla 26 se muestra la velocidad rectilínea de los espermatozoides de los cuyes colectados por electroeyaculación, evaluados por la aglutinación de espermas (formación de rouleaux), se hallaron diferencias significativas entre la aglutinación de colas ( $p < 0.05$ ), siendo los espermatozoides aglutinados de 4 y más de 5 células espermáticas las que presenta mayor VSL en relación a las demás.

**Tabla 26. Velocidad rectilínea de los espermatozoides por la aglutinación de células espermáticas (cola), obtenida según el ISAS.**

Colas	VSL		
	Promedio( $\mu\text{m/s}$ )	$\pm$ DS	C.V (%)
1	22.23 c	16.90	76.02
2	23.89 b	18.39	76.99
3	25.03 b	18.23	72.82
4	30.66 a	19.47	63.50
+5	31.34 a	19.76	63.07
<b>Total</b>	<b>26.63</b>	<b>18.55</b>	<b>70.48</b>

Williamson *et al.*, (1980), indica que los espermatozoides en rouleaux se encuentran en una madurez fisiológica y morfológica y son capaces de fertilizar. Por lo tanto podemos recalcar y mostrar en la tabla 26 que los espermatozoides aglutinados de 4 y más de 5 células espermáticas los que tiene un mayor VSL, por lo tanto son más rápidos.

Los datos obtenidos son inferiores a Cooper *et al.*, (2000), que reporto 61.2  $\mu\text{m/s}$  con una sola célula y 64.8  $\mu\text{m/s}$  con espermatozoides en rouleaux, utilizó el equipo Computerized Sperm Motion Analysis para la evaluación en cuyes silvestres (*Cavia aperea*). La diferencia se debería al método de colecta, el equipo utilizado y la especie.

#### **4.2.3. Velocidad media (VAP).**

En la tabla 27, se muestra la velocidad media de los espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p < 0.05$ ), siendo el cuy n° 1 el que presenta mayor VAP en relación a los demás, también se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 27. Velocidad media de los espermatozoides por animal obtenida según el ISAS.**

Cuyes	n° de colecta	VAP		
		Promedio( $\mu\text{m/s}$ )	$\pm$ DS	C.V (%)
1	4	50.23 a	16.39	32.64
2	5	47.65 c	8.27	17.35
3	5	49.53 b	9.35	18.88
4	2	44.99 d	9.63	21.40
5	5	43.43 d	12.11	27.88
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>47.17</b>	<b>11.15</b>	<b>23.63</b>

El promedio obtenido es superior a lo encontrado por Yucra (2013), de 28.69  $\mu\text{m/s}$ , en cuyes domésticos y utilizó el mismo equipo de evaluación el ISAS; son inferiores a los reportados por Cooper *et al.*, (2000) y Adamkovicova *et al* (2016), quienes realizaron la evaluación en cuyes salvajes y en ratas, colectaron los espermatozoides por el método post mortem y fueron evaluados con el equipo (Computerized Sperm Motion Analysis). Las diferencias se deberían al efecto del animal, el método de colecta, la especie y el equipo.

En la tabla 28, se muestra la velocidad media de los espermatozoides de los cuyes colectados por electroeyaculación, evaluados por la aglutinación de espermatozoides (formación de rouleaux), se hallaron diferencias significativas entre la aglutinación de colas ( $p < 0.05$ ), siendo los espermatozoides que contienen 4 y más de 5 células espermáticas las que presenta mayor VAP en relación a los demás.

**Tabla 28. Velocidad media de los espermatozoides por la aglutinación de las colas obtenidas según el ISAS.**

Colas	VAP		
	Promedio( $\mu\text{m/s}$ )	$\pm$ DS	C.V (%)
1	38.57 d	25.42	65.98
2	43.47 c	27.60	63.50
3	45.41 b	24.71	54.44
4	55.59 a	27.47	49.42
+5	55.83 a	26.31	47.13
<b>Total</b>	<b>47.77</b>	<b>26.30</b>	<b>56.09</b>

En la tabla podemos ver que el espermatozoide de 4 y más de 5 células espermáticas, tienen la VAP mayor a los demás. Hafez, (1989), indica que la aglutinación de cabeza con cabeza, causa inhibición del transporte espermático, pero ello no ocurre en los cuyes.

Estos datos son inferiores a los reportados por Cooper *et al.*, (2000), quien utilizó el equipo Computerized Sperm Motion Analysis para la evaluación en cuyes silvestres (*Cavia aperea*). La diferencia se debería al método de colecta, el equipo utilizado y la especie.

#### 4.2.4. Índice de linealidad (LIN)

En la tabla 29, se muestra el Índice de linealidad de los espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p < 0.05$ ).), siendo el cuy n° 1 el que presenta mayor LIN en relación a los demás, también se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 29. Índice de linealidad de los espermatozoides por animal obtenida según el ISAS CASA.**

Cuyes	n° de colecta	LIN		
		Promedio (%)	± DS	C.V (%)
1	4	32.90 a	3.97	12.08
2	5	27.96 d	5.35	19.13
3	5	29.91 c	5.02	16.77
4	2	29.29 c	7.58	25.88
5	5	30.55 b	5.54	18.14
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>30.01</b>	<b>5.49</b>	<b>18.4</b>

Los resultados obtenidos son inferiores a lo reportado por Yucra (2013), quien evaluó a cuyes domésticos, colectó los espermatozoides por el método post mortem; los reportes de Cooper *et al.*, (2000) y Adamkovicova *et al.*, (2016), quienes realizaron la evaluación en cuyes salvajes (*Cavia aperea*) y en ratas, colectados por el método



post mortem, son inferiores al valor encontrado. Las diferencias se deberían al efecto del animal, el método de colecta y la especie.

En la tabla 30, se muestra Índice de linealidad de los espermatozoides colectados por electroeyaculación, evaluados por la aglutinación de espermas (formación de rouleaux), se hallaron diferencias significativas entre la aglutinación de colas ( $p < 0.05$ ), siendo los espermatozoides que contienen 1 célula espermática el que presenta mayor LIN en relación a los demás.

**Tabla 30. Índice de linealidad de los espermatozoides por la aglutinación de células espermáticas (colas), obtenidas según el ISAS.**

Colas	LIN		
	Promedio (%)	± DS	C.V (%)
1	34.75 a	19.20	55.23
2	31.27 b	18.33	58.61
3	29.17 c	17.42	59.72
4	29.00 c	15.61	53.81
+5	28.19 c	15.17	53.80
<b>Total</b>	<b>30.48</b>	<b>17.15</b>	<b>56.23</b>

Al comparar los promedios entre la aglutinación de colas con respecto al LIN podemos ver que el espermatozoide con 1 cola, tiene el mayor LIN en comparación con los espermatozoides 3, 4, y más de 5 células espermáticas.

Estos resultados obtenidos es inferior a lo hallado por Cooper *et al.*, (2000), quienes utilizaron el equipo Computerized Sperm Motion Analysis para la evaluación en cuyes silvestres (*Cavia aperea*), colectados por el método de post mortem. La diferencia se debería al método de colecta, el equipo utilizado, y la especie.

#### 4.2.5. Índice de rectitud (STR).

En la tabla 31, se muestra el índice de rectitud de los espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p < 0.05$ ). ), Siendo el cuy n° 5 el que presenta mayor STR en relación a los demás. También se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 31. Índice de rectitud de los espermatozoides por animal, obtenida según el ISAS CASA.**

Cuyes	n° de colecta	STR		
		Promedio (%)	± DS	C.V (%)
1	4	53.66 b	5.09	9.49
2	5	54.66 b	8.07	14.76
3	5	49.65 c	9.94	20.02
4	2	47.83 d	17.48	36.55
5	5	55.20 a	12.04	21.80
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>52.20</b>	<b>10.52</b>	<b>20.52</b>

Los resultados obtenidos son superiores a lo reportado por Yucra (2013), de 51.14%, en cuyes domésticos, utilizo el mismo equipo de evaluación el ISAS. Por otro lado son inferiores a los hallados por Cooper *et al.*, (2000), quienes reportaron 94.5 %, realizaron la evaluación en cuyes salvajes (*Cavia aperea*) y Adamkovicova *et al.*, (2016), quienes reportaron 81.00%, realizaron la evaluación en ratas, utilizaron el mismo equipo para su evaluación (Computerized Sperm Motion Analysis), colecto los espermatozoide por el método de post mortem. Las diferencias se deberían al efecto del animal, el método de colecta, la especie y el equipo.

En la tabla 32, se muestra el Índice de rectitud de los espermatozoides de los cuyes colectados por electroeyaculación, evaluados por la aglutinación de espermatozoides (formación de rouleaux), se hallaron diferencias significativas entre la aglutinación

de colas ( $p < 0.05$ ). ), siendo los espermatozoide que contienen 1 célula espermática el que presenta mayor STR en relación a los demás.

**Tabla 32. Índice de rectitud de los espermatozoides por la aglutinación de las colas, obtenidas según la ISA CASA.**

Colas	STR		
	Promedio (%)	± DS	C.V (%)
<b>1</b>	57.14 a	23.29	40.77
<b>2</b>	54.25 b	23.86	43.99
<b>3</b>	52.86 c	23.38	44.23
<b>4</b>	53.92 b	22.31	41.37
<b>+5</b>	54.65 b	22.20	40.62
<b>Total</b>	<b>54.56</b>	<b>23.01</b>	<b>42.20</b>

En la tabla podemos ver que los espermatozoides con 1 cola, tiene valores mayores en comparación con los demás, la diferencia se debería a la cantidad de células aglutinadas, a mayor VCL, VSL Y VAP de los espermatozoides aglutinados de 3,4 y más de 5 células espermáticas el índice de Rectitud disminuye.

De acuerdo a lo resultados obtenidos es inferior a los encontrados por Cooper *et al.*, (2000), que reporto 61.2  $\mu\text{m/s}$  con una sola célula y 64.8  $\mu\text{m/s}$  con espermatozoides en rouleaux, utilizo el equipo Computerized Sperm Motion Analysis para la evaluación en cuyes silvestres (*Cavia aperea*). La diferencia se debería al método de colecta, el equipo utilizado y la especie.

#### **4.2.6. Índice de oscilación (WOB).**

En la tabla 33, se muestra el índice de oscilación de los espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p < 0.05$ ), siendo el cuy n° 1 el que presenta mayor WOB en relación a los demás. También se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 33. Índice de oscilación de los espermatozoides por animal, obtenida según el ISAS.**

Cuyes	n° de colecta	WOB		
		Promedio (%)	± DS	C.V (%)
1	4	59.05 a	4.60	7.78
2	5	50.35 d	6.29	12.50
3	5	56.57 b	10.21	18.04
4	2	52.70 c	6.75	12.81
5	5	50.82 d	5.58	10.97
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>53.90</b>	<b>6.69</b>	<b>12.42</b>

Los resultados obtenidos son inferiores a los reportados Yucra (2013), reportó 62.10 %, realizado en cuy doméstico, utilizó el mismo equipo de evaluación el ISAS, la diferencia se debería al método de colecta. El promedio del índice de oscilación es inferior a Cooper *et al.*, (2000) y Adamkovicova *et al.*, (2016), quienes reportaron 78.80% y 65.00% respectivamente, realizaron la evaluación en cuyes silvestres y ratas, para la evaluación de los espermatozoides emplearon el equipo (Computerized Sperm Motion Analysis), recolectó los espermatozoides por el método post mortem. Las diferencias se deberían al efecto del animal, el método de colecta, la especie y el equipo.

En la tabla 34 se muestra el Índice de oscilación de los espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, evaluados por la aglutinación de espermias (formación de rouleaux), se hallaron diferencias significativas entre la aglutinación de colas ( $p < 0.05$ ), siendo los espermatozoides que contienen 1 célula espermática el que presenta mayor WOB en relación a los demás.

**Tabla 34. Índice de oscilación de los espermatozoides por la aglutinación de células espermáticas las colas, obtenida según el ISAS.**

Colas	WOB		
	Promedio (%)	± DS	C.V (%)
1	58.36 a	17.84	30.56
2	55.87 b	17.08	30.58
3	53.25 c	16.54	31.08
4	52.69 c	15.40	29.23
+5	50.49 d	14.55	28.82
<b>Total</b>	<b>54.13</b>	<b>16.28</b>	<b>30.05</b>

En este cuadro podemos ver que los espermatozoides con 1 sola cola, tiene el mayor WOB en comparación con los espermatozoides aglutinados de 3,4 y más de 5 células espermáticas tienen un WOB menor, la diferencia se debería a la cantidad de células aglutinadas, a mayor VCL, VSL Y VAP de los espermatozoides aglutinados de 3,4 y más de 5 células espermáticas el índice de oscilación disminuye.

De acuerdo a lo resultados obtenidos es inferior a los reportado por Cooper *et al.*, (2000), utilizaron el equipo Computerized Sperm Motion Analysis para la evaluación en cuyes silvestres (*Cavia aperea*). La diferencia se debería al método de colecta, el equipo utilizado y la especie.

#### **4.2.7. Amplitud del movimiento lateral de la cabeza (ALH).**

En la tabla 35, se muestra la amplitud del movimiento lateral de la cabeza de los espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p < 0.05$ ), siendo el cuy n° 2 el que presenta mayor ALH en relación a los demás. También se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 35. Amplitud del movimiento lateral de la cabeza de los espermatozoides por animal obtenida según el ISAS CASA.**

Cuyes	n° de colecta	ALH		
		Promedio( $\mu\text{m}$ )	$\pm$ DS	C.V (%)
1	4	3.78 d	1.10	28.98
2	5	4.78 a	1.31	27.43
3	5	4.33 b	1.32	30.49
4	2	4.20 c	0.65	15.41
5	5	4.17 c	1.23	29.38
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>4.25</b>	<b>1.12</b>	<b>26.34</b>

Los resultados obtenidos es superior a lo encontrado por Yucra (2013), que reportó 2.06  $\mu\text{m}$ , realizado en cuy doméstico, utilizó el mismo equipo de evaluación el ISAS, la diferencia se debería al método de colecta. Por otro lado son inferiores a los hallados por Cooper *et al.*, (2000) y Adamkovicova *et al.*, (2016), que realizaron la evaluación en cuyes silvestres y ratas, colectó los espermatozoides por el método post mortem, emplearon el mismo equipo para su evaluación (Computerized Sperm Motion Analysis). Las diferencias se deberían al efecto del animal, el método de colecta, la especie y el equipo.

En la tabla 36 se muestra la amplitud del movimiento lateral de la cabeza de los espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, evaluados por la aglutinación de espermias (formación de rouleaux), se hallaron diferencias significativas entre la aglutinación de colas ( $p < 0.05$ ), siendo los espermatozoides aglutinados de 4 y más de 5 células espermáticas las que presentan mayor ALH en relación a los demás.

**Tabla 36. Amplitud del movimiento lateral de la cabeza de los espermatozoides por células espermáticas (cola), obtenidas según el ISAS CASA.**

Colas	ALH		
	promedio( $\mu\text{m/s}$ )	$\pm$ DS	C.V (%)
1	3.15 e	1.79	57.01
2	3.74 d	1.92	51.32
3	3.88 c	1.18	30.42
4	5.09 b	2.23	43.70
+5	5.46 a	2.27	41.66
<b>Total</b>	<b>4.26</b>	<b>1.88</b>	<b>44.82</b>

En este cuadro podemos ver que los espermatozoides aglutinados de más de 5 colas, tienen una ALH mayor, Williamson *et al.*,(1980), indica, que los espermatozoides en rouleaux se encuentran en una madures fisiológica y morfológica.

De acuerdo a lo resultados obtenidos es inferior a los reportado por Cooper *et al.*, (2000), con 1, 2, 3,4 y más de 5 colas, utilizo el equipo Computerized Sperm Motion Analysis para la evaluación en cuyes silvestres (*cavia aperea*). La diferencia se debería al método de colecta, el equipo utilizado y la especie.

#### **4.2.8. Frecuencia de batida de la cabeza (BCF).**

En la tabla 37, se muestra la frecuencia de batida de la cabeza de los espermatozoides de los 5 cuyes colectados por electroeyaculación, se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p < 0.05$ ), siendo el cuy n° 5 el que presenta mayor BCF en relación a los demás. También se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 37. Frecuencia de batida de la cabeza de los espermatozoides por animal, obtenida según el ISAS CASA.**

Cuyes	n° de colecta	BCF		
		Promedio(Hz)	± DS	C.V (%)
1	4	5.36 c	0.95	17.64
2	5	5.62 b	1.41	25.11
3	5	5.18 d	0.94	18.04
4	2	5.46 c	1.17	21.41
5	5	6.29 a	1.41	22.33
<b>Total</b>	<b>21</b>	<b>5.62</b>	<b>1.26</b>	<b>22.40</b>

El valor obtenido es superior a los reportado por Yucra (2013), reporto 3.55 Hz, realizo en cuy doméstico, utilizo el mismo equipo de evaluación el ISAS, la diferencia se debería probablemente al método de colecta; son inferiores a los reportados por Cooper *et al.*, (2000), quienes reportaron 13.65 Hz, realizaron la evaluación en cuyes (*Cavia aperea*) y Adamkovicova *et al.*,(2016), quienes reportaron 22.37 Hz, realizaron la evaluación en ratas, emplearon el mismo equipo para su evaluación (Computerized Sperm Motion Analysis), colectados post mortem. Las discrepancias se deberían al efecto del animal, el método de colecta, la especie y el equipo.

En la tabla 38, se muestra la frecuencia de la batida de la cabeza de los espermatozoides de los cuyes colectados por electroeyaculación, evaluados por la aglutinación de espermas (formación de rouleaux), se hallaron diferencias significativas entre la aglutinación de colas ( $p < 0.05$ ), siendo los espermatozoides con 1 célula espermática el que presenta mayor BCF en relación a los demás.



**Tabla 38. Frecuencia de batida de la cabeza de los espermatozoides por la aglutinación de las colas, obtenidas según el ISAS CASA.**

Colas	BCF		
	promedio(Hz)	± DS	C.V (%)
1	5.90 a	3.42	57.79
2	5.57 b	3.23	57.99
3	5.65 b	2.07	36.59
4	5.69 b	3.05	53.67
5	5.53 b	3.14	56.71
<b>Total</b>	<b>5.70</b>	<b>3.00</b>	<b>52.60</b>

De acuerdo a la tabla 38 encontramos que los espermatozoides con 1 cola, tiene una BCF mayor que los espermatozoides aglutinados con 2, 3,4 y más de 5 células espermáticas. La diferencia se debería al número de células aglutinadas, a mayor VCL, VSL Y VAP de los espermatozoides aglutinados de 3,4 y más de 5 células espermáticas la Frecuencia de batido de la cabeza de los espermatozoides disminuye.

De acuerdo a lo resultados obtenidos es inferior a los reportado por cooper *et al.*, (2000), con 1, 2, 3,4 y más de 5 colas, utilizo el equipo Computerized Sperm Motion Analysis para la evaluación en cuyes silvestres (*Cavia aperea*). La diferencia se debería al método de colecta, el equipo utilizado y la especie.

### **4.3. IDENTIFICACIÓN DE SUBPOBLACIONES ESPERMÁTICAS.**

#### **4.3.1. Variables utilizadas.**

Se analizaron 15974 espermatozoides para determinar el análisis principal de componentes, los resultados se en el siguiente tabla.

**Tabla 39. Resultado del análisis principal de componentes, realizado en los datos del análisis de espermatozoides procesado por el programa PRINCOM.**

Nro.	Variable	evalúe	%	Acum %
1	VCL	3.33	41.64	41.64
2	VSL	2.56	32.04	73.68
3	VAP	1.16	14.55	88.24
4	ALH	0.03	0.38	99.75
5	BCF	0.02	0.25	100.00

**4.3.2. Determinación de subpoblaciones espermáticas.**

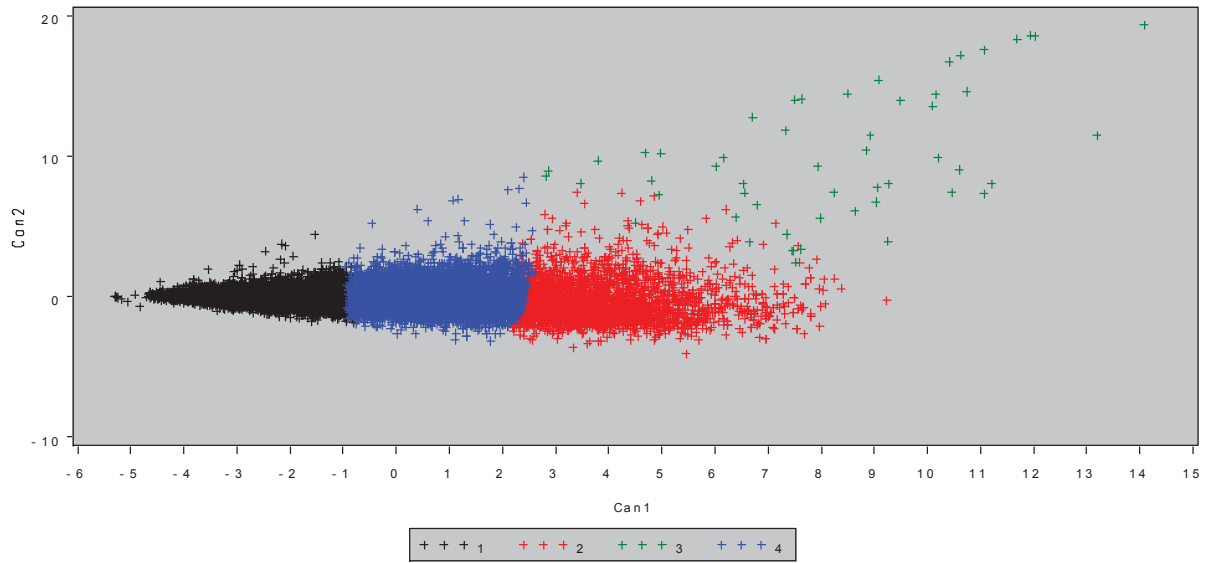
Del análisis de 15974 espermatozoides se identificaron 4 subpoblaciones con distinto tipo de movimiento, que se puede observar en la tabla siguiente:

**Tabla 40. Subpoblaciones espermáticas (SPE) y parámetros de motilidad, obtenidas del semen de cuyes colectados por electroeyaculación.**

VARIABLE	SPE1	SPE2	SPE3	SPE4
N	6715	2911	54	6294
%	42.04	18.22	0.34	39.40
VCL ( $\mu\text{m/s}$ )	54.75 $\pm$ 18.84	167.61 $\pm$ 24.14	178.44 $\pm$ 40.13	108.16 $\pm$ 18.13
VSL ( $\mu\text{m/s}$ )	14.70 $\pm$ 9.61	48.65 $\pm$ 18.05	98.37 $\pm$ 27.95	31.38 $\pm$ 15.32
VAP ( $\mu\text{m/s}$ )	28.60 $\pm$ 10.99	81.21 $\pm$ 18.88	23.91 $\pm$ 65.88	56.38 $\pm$ 14.76
ALH ( $\mu\text{m}$ )	2.83 $\pm$ 1.01	7.86 $\pm$ 1.78	3.13 $\pm$ 1.77	5.09 $\pm$ 1.34
BCF (Hz)	5.03 $\pm$ 2.83	5.94 $\pm$ 3.38	1.22 $\pm$ 2.38	6.03 $\pm$ 3.18

No existen reportes acerca de este tema en cuyes domésticos, pero si se hicieron estudios utilizando semen fresco como el presente trabajo en otras especies con resultados similares tales como; Quintero Moreno, 2003 (conejos), reportando 4 subpoblaciones. La descripción de las subpoblaciones halladas es la siguiente:

- **Subpoblación 1:** incluye espermatozoides con valores bajos de VCL, VSL, VAP, ALH y BCF es similar a SPE 2, esta SPE es calificada como lentos. Del total de los espermatozoides, el 42.04% fueron asignados a esta población.
  - **Subpoblación 2:** incluye los espermatozoides con valores altos de VCL, VSL, VAP, ALH y BCF es menor al SPE 4, con trayectorias mayores a SPE 1 y SPE 4. esta SPE es calificada como rápidos. Del total de espermatozoide, el 18.22% fueron asignados a esta población.
  - **Subpoblación 3:** incluye los espermatozoides con valores más altos de VCL, VSL y bajos en VAP, ALH y BCF, esta SPE es calificada como muy rápidos. Del total de espermatozoides, el 0.34% fueron asignados a esta población.
  - **Subpoblación 4:** incluye los espermatozoides con valores intermedios DE VCL, VSL y VAP, bajos en ALH y BCF, esta SPE es calificada como intermedios. Del total de espermatozoides el 39.40% fueron asignados a esta población.
- La distribución de las subpoblaciones se muestra en el siguiente gráfico:



**Grafico 1.** Representación de subpoblaciones en semen de cuyes, evaluado con el SAS v 8.0 (Statistical Analysis System).

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIÓN**

1. En las evaluaciones de volumen (0.39ml), motilidad progresiva (4.95%), motilidad no progresiva (64.47%) motilidad total (69.42%), concentración (17.75m/ml), vitalidad (72.88%), funcionalidad de la membrana espermática (reacción total) (97.08%), funcionalidad de la membrana espermática (reacción fuerte) (72.24%) y funcionalidad de la membrana espermática (reacción moderada)(24.84%) e integridad acrosomal del espermatozoide (97.05%), no se hallaron diferencias significativas ( $p>0.05$ ) entre animales. Tampoco se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p>0.05$ ).
2. En los parámetros de motilidad de VCL (90.33  $\mu\text{m/s}$ ), VSL (26.15  $\mu\text{m/s}$ ), VAP (47.28  $\mu\text{m/s}$ ), LIN (30.09 %), STR (52.86 %), WOB (53.73 %), ALH (4.29  $\mu\text{m}$ ) y BCF (5.62 Hz), se hallaron diferencias significativas entre animales ( $p<0.05$ ) y también se encontraron diferencias significativas entre colectas ( $p<0.05$ ). Se hallaron diferencias significativas entre colas ( $p<0.05$ ), siendo los espermatozoides aglutinados de 4 y más de 5 colas son los que presentan mayor promedio en los parámetros de motilidad de VCL (90.95  $\mu\text{m/s}$ ), VSL (26.63  $\mu\text{m/s}$ ), VAP (47.77  $\mu\text{m/s}$ ) Y ALH (4.26  $\mu\text{m}$ ), mientras que los espermatozoide de 1 cola son los que presentan mayor promedio en los parámetros de motilidad de LIN (30.48 %) ,STR (54.56 %) ,WOB (54.13 %) y BCF (5.70 Hz).
3. Se identificaron 4 subpoblaciones espermáticas: SPE 1, es calificada como lentos; SPE 2, es calificada como rápidos, el 18.22% fueron asignados a esta población.; SPE 3, es calificada como muy rápidos, el 0.34% fueron asignados a esta población. y SPE 4, es calificada como intermedios, el 39.40% fueron asignados a esta población.

## **CAPÍTULO VI**

### **RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda realizar trabajos complementarios a este estudio, donde se determine todas las características microscópicas en el semen crio preservado de cuyes.
2. Se recomienda realizar estudios similares aplicando el método de colección de electro eyaculación, para determinar las variaciones de subpoblaciones espermáticas en semen crio preservado.
3. Se recomienda usar como diluyente el plasma seminal de cuy para evaluar la evaluación de parámetros de motilidad.

## CAPÍTULO VII

### BIBLIOGRAFIA

1. Abaigar, T., Holt, w., Harrison, R., & Del Barrio, G. (1999). Sperm subpoblaciones in boar (*Gazella dama mhorr*) semen as revealed by pattem analysis of computer-assisted motility assessments. *Biol.Reprod.*(60), 32-41.
2. Adamkovicova, M., Toman, R., Martiniakova, M., Omelka, R., Babosova, R., Krajcovicova, V Massanyi, P. (2016). Sperm motility and morphology chances in rats exposed to cadmiun and diazinon. *Reproctive Biology and Endocrinology* (2016) 14:42.
3. Alba, R. (1990). Maduracion sexual del cuy domestico macho. Tesis Lic. En Biología. Facultad de Ciencias y Tecnología. Universidad Mayor de San Simon. Cochabamba- Bolivia.
4. Aleuy, O. (2008). Caracterizacion de medidas testiculares y semen de pudu (*Pudu pudu*) obtenido por un protocolo combinado de masaje digital transrectal y electroeyaculacion duarante su epoca reproductiva. Tesis, Medico Veterinario, Universidad Austral de Chile, Valdivia-Chile.
5. Aliaga , L., Moncayo, R., Rico, E., & Caycedo, A. (2009). Produccion de cuyes (Vol. 1). Universidad Católica Sedes Sapientiae. Lima – Perú. Pág. 10-280.
6. Aliaga, L. (1979). Producción de cuyes. Universidad Nacional del Centro del Peru.Edit.ACROVIA, 148-152 pp. Huancayo- Perú.

7. Arencibia, F. (2009). Consideraciones prácticas acerca de la calidad del semen. *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*. 10(8), 1-18.
8. Arrau, J., Bustos, E., Hoecker, G., & Ramos, A. (1981). *Biología de la Reproducción Animal*. Editorial Andrés Bello, 170 pag. Santiago de Chile-Chile.
9. Bravo, J., Montanero, J., Calero, R., & Roy, T. (2011). Identification of sperm subpopulations with defined motility characteristics in ejaculates from Ile de France rams. *Animal Reproduction Science*. 129: 22-29 pag. España.
10. Brito, D., & Reinoso, N. (2017). Evaluación cuali-cualitativa de semen colectado por electroeyaculador (EE) de toros tratados con y sin tranquilizante. Universidad de Cuenca. Tesis, Medicina Veterinaria Zootecnista. Cuenca -Ecuador Obtenido de <http://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/5455/1/11796.pdf>
11. Bustamante, J. (1993). *Producción de cuyes*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.
12. Calamera, J. (1977). *El espermiograma: Parámetros de fertilidad*. Texto, Editorial History. Buenos Aires. Argentina.
13. Chauca, L. (1997). *Producción de cuyes (cavia porcellus)*. Instituto Nacional de Investigación Agraria -FAO(FAO). Perú:FAO. Lima- Perú
14. Chavarria, M. (1984). Evaluación bioquímica de la presencia y participación de actina y tubulina en la Reacción acrosomal de los espermatozoides de cobayo. Tesis Lic. En Biología. Universidad



Autonoma Metropolitana -Iztapalapa Division de Ciencias Biologicas y de la Salud. Mexico.

15. Cooper, G., Weydert, S., Yeung, H., Kunzl, C., & Sachser, N. (2000). Maturation of Epididymal Spermatozoa in the Nondomesticated Guinea Pigs *Cavia aperea* and *Galea musteloides*. *Journal of Andrology*, 21(1), 154-163.
16. Davis, O., & Siemers, J. (1995). Derivation and reliability of Kinematics measures of sperm motion. *Reprod. Fertil Dev.*, 7, 857-869.
17. Diaz, M. (2010). Estudio de la factibilidad para la produccion y comercializacion de cuyes en los principales supermercados de las ciudades de Otavalo e Ibarra. Tesis Doctoral .Universidad de Otavalo. Mexico.
18. Dorado, J., Molina, I., & Muñoz, A. (2010). Identification of sperm subpopulations with defined motility characteristics in ejaculates from Florida goats. *Theriogenology*. 74: 795-804.
19. Direccion Regional de Agricultura. (2015). <http://www.dracusco.gob.pe/estadistica-pecuaria>.
20. Durrant, B. S. (1984). Semen Collection ,Evaluation ,and Cryopreservation in Exotic Animal Species. *Journal, Maximizing Reproductive Potential*, 32(1), 2-10.
21. Fawcett, D. (1963). Change in the acrosome of guinea pig spermatozoa during passage through the epididymis. *Zeitschrift für Zellforschung and Mikroskopische Anatomie* 60(2), 276-292.

22. Ferraz, M., de Menezes, J., Pessoa, T., Cabral, M., Illera, J., Silva, R., & Carvalho, A. (2011). Collection and evaluation of epidymal sperm in captive agoutis (*Dasyprocta aguti*). *ScienceDirect*, 75(3), 459-462.
23. Franca, R., Russell, D., Regadera, J., & Martinez, G. (1998). The testis of domestic animals. Male reproduction : a multidisciplinary overview. vol. 197, 219 pag. Churchill Livingstone Madrid. España.
24. Freund, M. (1958). Collection and liquefaction of guinea pig semen. . Proc Soc Expl Biol Med. 98:538-540.
25. Freund, M. (1969). Interrelationships among the characteristics of guinea-pig semen collected by electro-eyacuacion. *J. Reprod. Fert*(19), 393-403.
26. Friend, S., Orci, L., Perrelet, A., & Yanagimachi, R. (1977). Membrana particle changes attending the acrosome reaction in guinea pig spermatozoa. *J Cell Biol*, 74, 561-577.
27. Gallardo, M., Mondaca, F., Ojeda, R., Kohler, N., & Garrido, O. (2002). Morphological diversity in the sperms of caviomorph rodents. *Mastozoologia Neotropical*, 9, 159-170.
28. Gomez, C. (2013). Evaluacion de la efectividad de un electroeyaculador experimental comparado a uno de marca comercial en ovinos. Universidad Central de Ecuador. Quito-Ecuador
29. Gomez, L. (2009). *Generalidades del cuy*. Obtenido de <http://levantecuyes.blogspot.com/>
30. Hafez, E. (1989). Reproduccion e Inseminacion en animales. *Internacional*. Vol. 210. Mexico.

31. Holt, W. V. (1996). Can we predict fertility rates. Making sense of sperm motility. *Reprod.Dom. Anim.*, 31, 17-24.
32. Holting, G. (1995). Analisis del rendimiento de un ciclo reproductivo de cuyes nativos Bolivianos provenientes de diferentes localidades. Memorias XII Reunión Nacional de la Asociación Boliviana de Producción Animal Cochabamba- Bolivia
33. Iguer-ouada, M., & Verstegen, J. (2001). Evaluation of the “Hamilton Thorne computer-based automated system” for dog semen analysis *Theriogenology*. 57: 149-179.
34. INEI. (2012). Estadísticas Municipales 2012, Registro Nacional de Municipalidades ley N° 27563. Lima.
35. Jiménez , R. (2007). Uso de insumos agrícolas locales en la alimentación de cuyes en valles interandinos. XX Reunión APPA, XXX Reunión APPA (Vols. Vol. 15 (Supl.1) 2007-229). Cusco, Perú: Arch. Latinoam. Prod. Anim.
36. Johnson, L., Varner , D., Roberts, E., Smith, L., Keillor, E., & Scrutchfield, W. (2000). Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. *Animal Reproduction Science* 60, 471-480.
37. Looor , A. I. (2015). Caracterización morfológica del espermatozoide del cobayo (*Cavia porcellus*) en el cantón Latacunga. Tesis, Médico Veterinario Zootecnista . Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga-Ecuador.

38. Marquant, B., Guienne, L., & De Alameda, M. (1986). Role of Guinea - Pig Sperm Autoantigens in Capacitation and the Acrosome Reaction. *France*. 77:337-345. Paris.
39. Meizel, S. (1978). The mammalian sperm acrosome reaction. A biochemical approach. *North Holland Press, Amsterdam*, 3, 1-64.
40. Meizel, S. (1984). The importance of hydrolytic enzymes to an exocytotic event, the mammalian sperm acrosome reaction. *Biol Rev*(59), 125-157.
41. Mellisho, E. (2010). Manual de laboratorio de reproducción animal. Universidad Agraria la Molina.
42. Meza, A. (2014). Estimación de parámetros de motilidad y determinación de subpoblaciones espermáticas en semen de alpaca (*Lama pacos*). Tesis, Zootecnista, Facultad de Ciencias Agrarias. UNSAAC. Cusco-Perú
43. Meza, A., Huanca, N., Aragon, S., & Cucho, H. (2018). Protocolo de la colección de semen de cuy doméstico (*Cavia porcellus*) por el método de electroeyaculación. *SPERNOVA, Revista Científica de la Asociación Peruana de Reproducción Animal*, 8 (01), 95-118 pag.
44. Miro, J., Lobo, V., & Quintero, M. (2004). Sperm motility patterns and metabolism in Catalanian donkey semen. *Theriogenology*. 72: 1706-1716.
45. Mise, N. (2014). Evaluación de la crioconservación del semen de Cobayo (*Cavia porcellus*). Tesis, Médico Veterinario. Carrera de Medicina Veterinaria de la Universidad Técnica de Cotopaxi. Latacunga-Ecuador.

46. Montoya, A. (2009). Espermograma. *Medicina & Laboratorio: Programa de Educación Médica Continua Certificada*, 15(3-4).
47. Muiño, R. (2008). Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas casa y citometría de flujo: identificación desubpoblaciones espermáticas. Tesis, Grado de Doctor. Uniiversidad de Santiago de Compostela. Facultad de Veterinaria del Departamento de Patología Animal.
48. Muiño, R., Tamargo, C., Hidalgo, C., & Peña, A. (2006). Identification of sperm subpopulations with defined motility characteristics in ejaculates from Holstein bulls: effects of cryopreservation and between-bull variation. *Anim. Reprod. Science*. 109,27-39.
49. Mujica, F. (2010). *Diversidad y Conservación de los Recursos Zoogenéticos del País* (Vol. 37, 134–175 pag. Lima-Perú.
50. Ortega, L., Olaya, E., Lopez, D., Gabriel, A., Orozco, I., Nuñez, C., & Caballero, P. (2010). Comparación entre el test de fragmentación de ADN espermático mediante la técnica de SCD y el índice de vitalidad medida con el test de naranja de acridina. *Revista Internacional de Andrología*, 8 (3) 114-121.
51. Perez, F. (1966). *Reproduccion e Inseminacion Artificial Ganandera*. Editorial Cientifico-Medica. Madrid- España.
52. Pinduisaca, F. (2018). *Colecta y evaluacion de semen de cuyes (cavia porcellus), extraido por la tecnica de electroeyaculacion en el Centro Experimental Uyumbicho*. Tesis, Medico Veterinario. Universidad Central

- del Ecuador. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito-Ecuador.
53. Quintero, M. (2003). Estudio sobre la dinámica de poblaciones espermáticas en semen de caballo, conejo y cerdo. Tesis doctora en Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona. Fac. de Veterinaria. España.
54. Ribeiro, A., Munita, L., Yumi, M., Mello, M., & Ferreira, F. (2014). Criopreservación de espermatozoides bovinos extraídos de la cola del epidídimo utilizando los métodos convencional y automatizado. *Scielo*(46), 1455-1463. Obtenido de Retrieved from [http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-97072008000200002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-97072008000200002&script=sci_arttext)
55. Rodríguez, M., Vallejo, A., Batista, P., & Espasandín, A. (2011). Biotecnologías reproductivas aplicadas a la mejora genética animal. *Reproducción de animales domésticos*,(2011) 543-569.
56. Rubio, J., & Quintero, M. (2000). *Uso de las pruebas de resistencia osmótica para valorar*, 617'627. Obtenido de [http://www.avpa.ula.ve/libro\\_desarrollosost/pdf/capitulo\\_50.pdf](http://www.avpa.ula.ve/libro_desarrollosost/pdf/capitulo_50.pdf)
57. Shomer, N., Holcombe, H., & Harkness, J. (2015). Biology and Diseases of Guinea Pigs. *Laboratory Animal Medicine (Trirh Edition)*. CAP-6 (247-283 pag).
58. Sumar, J., Novoa, C., & Enrique, F. (1968). Contribución al conocimiento de la vida reproductiva de los roedores peruanos. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Estación del Centro de Investigaciones IVITA .

59. Tamayo, M. (2013). Variacion de la calidad de semen desde el centro de inseminacion artificial hasta los termos de la granja e inseminador. Su ganado, 1-25. recuperado a partir. Obtenido de [http://www.suganado.com/noticias\\_detalle.php?Id\\_Noticia=478](http://www.suganado.com/noticias_detalle.php?Id_Noticia=478)
60. Tapia ,A., & Tello, J. (2016). Evaluacion Cualitativa-Cuantitativa de espermatozoides de la cola del epididimo de cuyes (*Cavia porcellus*) criollos y mejorados en dos edades reproductivas. Tesis, Medico Veterinario Zootecnista. Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Agrarias. Cuenca-Ecuador.
61. Tulsiani, D. R., & Abou-Haila, A. (2012). Biological Processes that Prepare Mammalian Spermatozoa to Interact with an Egg and Fertilize It. *Hindawi Publishing Corporation*, Article ID 607427, 12p. .
62. Unchupaico, I., Alponete , A., & Barrera, S. (2011). Assessing sperm in the guinea pig, *Cavia porcellus*. *Charles River Laboratories, Horsham. PA. USA. Reproductive Toxicology* .(32:164 – 179).
63. Williamson, R., Shepherd, A., & Martan, J. (1980). Fertility of spermatozoa from the excurrent ducts of the guinea-pig. *Reproduction*, 59(2), 515-517.
64. Yamasaki, A., Pedraza, P., Peralta,, M., Yong,, G., Rothschuh, J., & Yamasak, L. (2005). Diseño y construcción de electroeyaculador para ovinos y caprinos. *Veterinaria, Vol 1, pag. 23*.
65. Yucra, A. (2013). *Características microscópicas del semen y morfometría del espermatozoide del cuy domestico(cavia porellus)y silvestre (cavia tschudii)*. Tesis, Zootecnia, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Agrarias. Cusco- Perú.

66. Zuñiga , D., & Quisiyupanqui, L. (1995). Manejo de cuy. Texto, Primera Edicion. Cusco, Peru: ALPHA.



## ANEXOS

**Anexo 01.** ANVA para el volumen de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	0.039053	0.0097635	0.82	0.534
<b>Colecta</b>	4	0.11145	0.0278626	2.35	0.1126
<b>error</b>	12	0.14202	0.011835		
<b>total corregido</b>	20	0.292524			

Cv= 28.27% R-cuadrado: 0.51

**Anexo 2.** ANVA para la motilidad progresiva de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	61.88046	15.470115	1.96	0.1653
<b>Colecta</b>	4	21.66705	5.4167617	0.69	0.6154
<b>error</b>	12	94.80036	7.9000299		
<b>total corregido</b>	20	178.3479			

Cv=56.82 % r-cuadrado: 0.47

**Anexo 3.** ANVA para la motilidad no progresiva de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	535.7194	133.92985	1.6	0.2373
<b>Colecta</b>	4	1770.19	442.54757	5.29	0.0108
<b>error</b>	12	1003.968	83.663976		
<b>total corregido</b>	20	3309.877			

Cv=14.18% r-cuadrado: 0.69

**Anexo 04.** ANVA para la motilidad total de semen de cuyes, colectados por electroeyacuación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	706.8963	176.72406	1.63	0.2306
<b>Colecta</b>	4	1839.343	459.83567	4.24	0.0229
<b>error</b>	12	1301.889	108.49077		
<b>total corregido</b>	20	3848.128			

Cv=15.00% r-cuadrado: 0.66

**Anexo 5.** ANVA para la concentración de semen de cuyes, colectados por electroeyacuación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	632.0519	158.01297	1.30	0.3238
<b>Colecta</b>	4	342.0749	85.518719	0.70	0.6038
<b>error</b>	12	1456.126	121.3438		
<b>total corregido</b>	20	2430.252			

Cv=62.05% r-cuadrado: 0.40

**Anexo 06.** ANVA para la vitalidad de semen de cuyes, colectados por electroeyacuación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	450.3444	112.58609	2.54	0.095
<b>Colecta</b>	4	398.9702	99.742544	2.25	0.1248
<b>error</b>	12	532.9326	44.411053		
<b>total corregido</b>	20	1382.247			

cv=9.14% r-cuadrado: 0.61

**Anexo 7.** ANVA para la funcionalidad de la membrana (reacción fuerte) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	680.5196	170.12989	0.88	0.5043
<b>Colecta</b>	4	1084.741	271.18535	1.4	0.2913
<b>error</b>	12	2319.375	193.28121		
<b>total corregido</b>	20	4084.635			

Cv=19.24% r-cuadrado: 0.43

**Anexo 8.** ANVA para la funcionalidad de la membrana (reacción moderada) de semen de cuyes, colectadas por electroeyaculación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	536.4975	134.12437	0.94	0.4721
<b>Colecta</b>	4	993.8327	248.45817	1.75	0.2043
<b>error</b>	12	1705.98	142.16496		
<b>total corregido</b>	20	3236.31			

Cv=48.00% r-cuadrado: 0.47

**Anexo 9.** ANVA para la funcionalidad de la membrana (reacción total) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	67.78037	16.945092	1.26	0.3388
<b>Colecta</b>	4	12.24476	3.0611904	0.23	0.9178
<b>error</b>	12	161.5026	13.458549		
<b>total corregido</b>	20	241.5277			

Cv=3.78% r-cuadrado: 0.33

**Anexo 10.** ANVA para la integridad acrosomal de semen de cuyes, colectada por electroeyacuación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	59.45387881	14.86346970	2.94	0.0657
<b>Colecta</b>	4	16.51424542	4.12856135	0.82	0.5382
<b>error</b>	12	60.6049996	5.0504166		
<b>total corregido</b>	20	136.5731238			

Cv=2.32% r-cuadrado: 0.56

**Anexo 11.** ANVA para la velocidad curvilínea (VCL) de semen de cuyes, colectadas por electroeyacuación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	975768.873	243942.218	152.61	<.0001
<b>Colecta</b>	4	4323624.442	1080906.111	676.22	<.0001
<b>cola</b>	4	1270965.141	317741.285	198.78	<.0001
<b>cuy*colecta</b>	12	1021320.587	85110.049	53.25	<.0001
<b>cuy*cola</b>	16	606351.805	37896.988	23.71	<.0001
<b>colecta*cola</b>	16	235924.868	14745.304	9.22	<.0001
<b>error</b>	15917	25442614.78	1598.46		
<b>total corregido</b>	15973	33876570.50			

cv=41.31%

**Anexo 12.** ANVA para la velocidad rectilínea (VSL) de semen de cuyes, colectados por electroeyacuación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	17858.2254	4464.5564	13.29	<.0001
<b>Colecta</b>	4	220182.3056	55045.5764	163.91	<.0001
<b>cola</b>	4	97094.3283	24273.5821	72.28	<.0001
<b>cuy*colecta</b>	12	87868.4542	7322.3712	21.80	<.0001
<b>colecta*cola</b>	16	66088.8993	4130.5562	12.30	<.0001
<b>cole*cola</b>	16	66088.8993	335.823	3.95	
<b>error</b>	15917	5345291.049	1325.3677		
<b>total corregido</b>	15973	5855589.145			

Cv=66.06%

**Anexo 13.** ANVA para la velocidad media (VAP) de semen de cuyes, colectadas por electroeyaculación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	33261.6106	8315.4026	13.19	<.0001
<b>Colecta</b>	4	583201.6934	145800.4233	231.36	<.0001
<b>cola</b>	4	327642.9544	81910.7386	129.98	<.0001
<b>cuy*colecta</b>	12	288386.8074	24032.2339	38.13	<.0001
<b>colecta*cola</b>	16	152897.3222	9556.0826	15.16	<.0001
<b>cole*cola</b>	16	63256.0135	3953.5008	6.27	<.0001
<b>error</b>	15917	10030863.75	630.20		
<b>total corregido</b>	15973	11479510.15			

Cv=50.37%

**Anexo 14.** ANVA para el índice de linealidad (LIN) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	70565.9272	17641.4818	68.49	<.0001
<b>Colecta</b>	4	50200.8772	12550.2193	48.73	<.0001
<b>cola</b>	4	14226.9380	3556.7345	13.81	<.0001
<b>cuy*colecta</b>	12	206724.5284	17227.0440	66.88	<.0001
<b>cuy*cola</b>	16	7188.3912	449.2745	1.74	0.0325
<b>colecta*cola</b>	16	3154.1099	197.1319	0.77	0.7269
<b>error</b>	15917	4099779.485	257.572		
<b>total corregido</b>	15973	4451840.257			

Cv=54.18%

**Anexo 15.** ANVA par el índice de rectitud (STR) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.

Fuente	DF	Tipo ISS	cuadrado de la media	f-valor	pr > f
<b>Cuy</b>	4	37827.1102	9456.7775	18.88	<.0001
<b>Colecta</b>	4	10073.8749	2518.4687	5.03	0.0005
<b>cola</b>	4	13716.6473	3429.1618	6.85	<.0001
<b>cuy*colecta</b>	12	142821.0098	11901.7508	23.76	<.0001
<b>cuy*cola</b>	16	18568.9782	1160.5611	2.32	0.0021
<b>colecta*cola</b>	16	7242.9616	452.6851	0.90	0.5645
<b>error</b>	15916	7972341.950	500.901		
<b>total corregido</b>	15972	8202592.532			

cv=41.24%

**Anexo 16.** ANVA para el índice de oscilación (WOB) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.

<b>fuelle</b>	<b>DF</b>	<b>Tipo ISS</b>	<b>cuadrado de la media</b>	<b>f-valor</b>	<b>pr &gt; f</b>
<b>Cuy</b>	4	190694.8274	47673.7069	229.66	<.0001
<b>Colecta</b>	4	186681.2007	46670.3002	224.83	<.0001
<b>cola</b>	4	1231.1685	2807.7921	13.53	<.0001
<b>cuy*colecta</b>	12	368589.7653	30715.8138	147.97	<.0001
<b>cuy*cola</b>	16	8618.1844	538.6365	2.59	0.0005
<b>colecta*cola</b>	16	7021.3195	438.8325	2.11	0.0058
<b>error</b>	15917	3304080.599	207.582		
<b>total corregido</b>	15973	4076917.065			

Cv=27.10%

**Anexo 17.** ANVA para la amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Tipo ISS</b>	<b>cuadrado de la media</b>	<b>f-valor</b>	<b>pr &gt; f</b>
<b>Cuy</b>	4	4150.03614	1037.50904	282.89	<.0001
<b>Colecta</b>	4	10836.06300	2709.01575	738.64	<.0001
<b>cola</b>	4	2473.79369	618.44842	168.63	<.0001
<b>cuy*colecta</b>	12	3931.96866	327.66406	89.34	<.0001
<b>cuy*cola</b>	16	1009.80354	63.11272	17.21	<.0001
<b>colecta*cola</b>	16	393.62440	24.60152	6.71	<.0001
<b>error</b>	15917	58377.11155	3.66760		
<b>total corregido</b>	15973	81172.40099			

Cv=14.47

**Anexo 18.** ANVA para la colección de batido de la cabeza (BCF) de semen de cuyes, colectados por electroeyaculación.

<b>Fuente</b>	<b>DF</b>	<b>Tipo ISS</b>	<b>cuadrado de la media</b>	<b>f-valor</b>	<b>pr &gt; f</b>
<b>Cuy</b>	4	1781.453232	445.363308	48.87	<.0001
<b>Colecta</b>	4	1845.560938	461.390235	50.63	<.0001
<b>cola</b>	4	161.491218	40.372804	4.43	0.0014
<b>cuy*colecta</b>	12	5444.314038	453.692836	49.78	<.0001
<b>cuy*cola</b>	16	1031.280046	64.455003	7.07	<.0001
<b>colecta*cola</b>	16	423.755566	26.484723	2.91	<.0001
<b>error</b>	15917	145053.7563	9.1131		
<b>total corregido</b>	15973	155741.6114			

Cv=54.13%