

Evaluación de tres crioprotectores para la crioconservación de semen de cuy (*Cavia porcellus*) extraído de la cola del epidídimo en el Centro Experimental Uyumbicho

Evaluation of three cryoprotectants for the cryopreservation of guinea pig semen (*Cavia porcellus*) extracted from the tail of the epididymis at the Uyumbicho Experimental Center

Adrián Monteros-Pazmiño ¹
Universidad Estatal de Bolívar - Ecuador
jhonatan.monteros@ueb.edu.ec

Juan Vargas ²
Universidad Central del Ecuador - Ecuador
javargas@uce.edu.ec

Thomás García ³
Universidad Central del Ecuador - Ecuador
dtgarcia@uce.edu.ec

Andrea Montenegro ⁴
Universidad Central del Ecuador - Ecuador
acmomtenegrot@uce.edu.ec

Mario Pablo Parra-Matute ⁵
Universidad Central del Ecuador - Ecuador
mpparra@uce.edu.ec

doi.org/10.33386/593dp.2024.6.2699

V9-N6 (nov-dic) 2024, pp 48-59 | Recibido: 05 de agosto del 2024 - Aceptado: 31 de octubre del 2024 (2 ronda rev.)

1 ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9757-9757>

2 ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6327-5875>

3 ORCID: <http://orcid.org/0009-0009-7305-7730>

4 ORCID: <http://orcid.org/0002-3558-917X>

5 ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3396-4228>

Monteros-Pazmiño, A., Vargas, J., García, T., Montenegro, A., Parra-Matute, M., (2024). Evaluación de tres crioprotectores para la crioconservación de semen de cuy (*Cavia porcellus*) extraído de la cola del epidídimo en el Centro Experimental Uyumbicho. 593 Digital Publisher CEIT, 9(6), 48-59, <https://doi.org/10.33386/593dp.2024.6.2699>

Descargar para Mendeley y Zotero

RESUMEN

La crianza de cuyes en la serranía ecuatoriana es una de las producciones pecuarias de mayor importancia para el mercado cárnico. En los últimos años la tecnificación en la producción cunícola se ha incrementado, es por este motivo que esta investigación pretende integrar una técnica de evaluación seminal que permita a los productores mejorar la genética de sus líneas de cuyes. Para la realización de este trabajo se dividió la metodología en tres secciones, la primera fue la selección de los animales, la segunda la obtención de los espermatozoides y la tercera la medición de la calidad espermática post refrigeración. Los objetivos de esta investigación fueron evaluar la motilidad total y progresiva del semen en el medio crioprotector a las 0, 6, 24, 48, 72 horas de refrigeración con tres diluyentes comerciales (Triladyl, OptixCell y Andromed) utilizando el programa de evaluación seminal "AndroVision", determinar la viabilidad espermática en cada medio crioprotector e identificar la morfología de los espermatozoides de cuy. Los resultados obtenidos indicaron que el mejor medio crioprotector fue OPTIXCELL ya que tuvo un mejor promedio estadístico en las variables medidas, alcanzó una motilidad total máxima de 47.80% en la hora 0 y mínima de 25.52% a las 72 horas de refrigeración, la motilidad progresiva máxima fue de 44.82% y mínima de 24.29%. El resultado de viabilidad arrojó que los tratamientos no tuvieron un comportamiento distinto entre sí, sin embargo, al realizar las comparaciones individuales con la prueba de Tukey se muestra que Optixcell y Andromed son estadísticamente similares mientras que Triladyl no es estadísticamente comparable.

Palabras claves: evaluación seminal, genética, espermatozoides, motilidad total, motilidad progresiva, viabilidad espermática, crioprotector

ABSTRACT

The raising of guinea pigs in the Ecuadorian mountains is one of the most important livestock productions for the meat market. In recent years, technology in rabbit production has increased, which is why this research aims to integrate a seminal evaluation technique that allows producers to improve the genetics of their guinea pig lines. To carry out this work, the methodology was divided into three sections, the first was the selection of the animals, the second was the obtaining of the sperm and the third was the measurement of post-refrigeration sperm quality. The objectives of this research were to evaluate the total and progressive motility of semen in the cryoprotectant medium at 0, 6, 24, 48, 72 hours of refrigeration with three commercial diluents (Triladyl, OptixCell and Andromed) using the seminal evaluation program "AndroVision", determine the sperm viability in each cryoprotectant medium and identify the morphology of guinea pig sperm. The results obtained indicated that the best cryoprotective medium was OPTIXCELL since it had a better statistical average in the measured variables, it reached a maximum total motility of 47.80% at hour 0 and a minimum of 25.52% at 72 hours of refrigeration, progressive motility maximum was 44.82% and minimum was 24.29%. The viability result showed that the treatments did not have a different behavior from each other, however, when performing individual comparisons with the Tukey test it is shown that Optixcell and Andromed are statistically similar while Triladyl is not statistically comparable.

Keywords: seminal evaluation, genetics, sperm, total motility, progressive motility, sperm viability, cryoprotectiv

Introducción

El cuy (*Cavia porcellus*) es un mamífero roedor doméstico originario de la zona andina de países como Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú, en los cuales se aproxima una población de 35 millones de cuyes, siendo la mayoría de producción artesanal (Lucas et al., 2021). Según el Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca (MAGAP) en Ecuador existen aproximadamente 21 millones de cuyes y gracias a su fácil y rápida reproducción se calcula que se producen alrededor de 47 millones de cuyes. Esta es solo una estimación sobre la cantidad de animales de la región, debido a que no hay datos estadísticos actuales que faciliten la verificación del crecimiento de la población, por lo tanto, es también difícil estimar los efectos de los modelos reproductivos que existen en la actualidad. Son muy pocos los países a nivel mundial que han implementado programas de mejoramiento genético con el fin de optimizar la productividad y la eficacia de las razas de animales domésticos en uso.

La mejora de estrategias reproductivas en esta especie tiene varios agregados de importancia. Son fuente de alimentación de muchas poblaciones, donde contribuye a disminuir la desnutrición debido a que la carne de estos animales contiene 20.3% de proteína y 3.4% de grasa, lo cual representa un gran aporte proteico y bajo contenido graso (Rochina, 2021). En el ámbito social, la producción de cuyes se hace bajo sistemas de crianza familiar que tiene impacto sobre todo en los sitios rurales, donde el objetivo principal es el engorde de los cuyes sin importar el tiempo y el gasto que esto signifique (Garcés, 2024). Por último, se toma en cuenta que el cuy es un símbolo de la cultura ancestral de ciertos pueblos andinos de Perú, Ecuador y Bolivia, ya que se lo utiliza en rituales de medicina tradicional.

En Ecuador la producción de animales ha evolucionado en los últimos tiempos y se ha confirmado que en la industria pecuaria constituye uno de los rubros más importantes en el sector productivo del país. Esto ha motivado a los criadores del área cavícola a renovar y

mejorar sus sistemas de producción para hacerlos más rentables y competitivos (Matute, 2024).

En el país existe una empresa que se dedica a la industrialización de carne de cuy desde el año 2007 llamada PROEXPORT, la cual cría, produce, industrializa y exporta carne de cuy hacia los mercados extranjeros donde existen latinoamericanos, que son los que más disfrutan de este tipo de carne. Las exportaciones las realizan sobre todo a Estados Unidos, España e Italia, donde hay gran cantidad de emigrantes (Peceros, 2022).

En Ecuador se ha podido constatar que no existe variabilidad genética definida de los cuyes, debido a la introducción de razas peruanas y a la falta de apoyo para el emprendimiento del sector cunícola (Escobar et al., 2023). Por este motivo, sabiendo que en este país no se manejan razas, las líneas locales han sido reemplazadas o cruzadas con razas peruanas como la Inti, Andina y Perú, con el fin de obtener mejoras genéticas en cuanto a parámetros importantes como prolificidad y precocidad de los cuyes.

Existen escasos estudios sobre planes de crioconservación de semen en cobayos. Sin embargo, la crioconservación de semen de cuy es un procedimiento que, aunque poco empleado en los sistemas de reproducción en cuyes, sirve para establecer y evaluar un protocolo que permita mantener la viabilidad y la funcionalidad celular por un periodo prolongado de tiempo (Quispe, 2022). Por ello, esta tesis busca identificar el mejor diluyente para guardar bancos genéticos de animales superiores como el conocido “sacha cuy” que se encuentra en peligro de extinción.

Una forma muy efectiva para preservar el material genético es realizando bancos de genes, sin embargo, la realización de dichos bancos con material zoogenético es muy costoso. Esto se debe a que se necesita capacitación de personal, equipos de tecnología avanzada, etc. A pesar de ello, crear bancos de genes, significa dar un paso a la modernidad biotecnológica, por ello en esta investigación, se plantea realizar la evaluación de tres crioprotectores para la crioconservación de semen de cuy (*Cavia porcellus*) extraído de

la cola del epidídimo en el Centro Experimental Uyumbicho (Mendoza & Huamani, 2022). Estudio que además servirá como antesala para conocer que crioprotector es el adecuado para realizar la crioconservación de semen de cuy.

Este proyecto de investigación, además de estudiar de los crioprotectores, también permitiría la crioconservación de semen de cobayos domésticos y silvestres. En Ecuador y otros países andinos existe el “sacha cuy” (*Cavia aperea*), animal que se encuentra actualmente en peligro de extinción debido a su cacería (FAO, 2019). Por lo tanto, al establecer qué tipo de crioprotector es el más indicado para la crioconservación de semen de cobayo, abriría la oportunidad de preservar el material genético.

Los crioprotectores que se van a utilizar para evaluar el semen de cobayo son: Triladyl, Andromed y OptiXcell (Pizarro, 2023). Dicho semen será obtenido de la cola del epidídimo post castración quirúrgica de cuyes machos probados. La valoración de los parámetros de calidad seminal se realizará en el laboratorio de Biotecnología de la Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Central del Ecuador.

Método

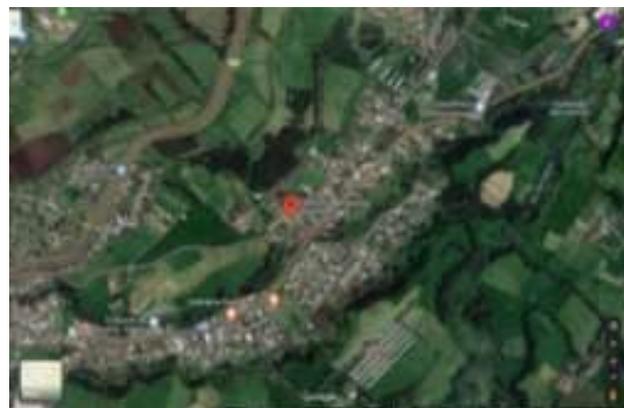
Área de estudio:

Este estudio se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción en el Centro Experimental Uyumbicho de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Central del Ecuador. La ubicación exacta corresponde a la parroquia Uyumbicho, cantón Mejía, provincia de Pichincha.

La parroquia Tambillo se encuentra situada al norte del cantón Mejía. Limita al Norte con la parroquia Cutuglagua; al Sur con la parroquia Alóag; al Este con las Riberas del Pasochoa; y, al Oeste con los páramos de la Viudita. Su ubicación Geográfica es 78 grados 30 minutos de longitud y 00 grados, 29 minutos de latitud (GAD, 2019).

Figura 2:

Ubicación del Centro Experimental Uyumbicho de la FMVZ-UCE



Fuente: (Google maps, 2020).

Selección de los animales

Cuyes adultos de la línea genética A y B: edad entre 8-12 meses de edad. Para cuidar la consanguinidad se buscó reproductores que no tengan lazos filiales desde hace 4 generaciones. Los cobayos eran previamente probados como reproductores y se obtuvieron del núcleo genético del Centro Experimental Uyumbicho.

Técnica de castración quirúrgica en cuyes

La intervención quirúrgica se realizó de manera individual con un rango de espera de 1 a 2 horas entre cada animal. El protocolo por seguir fue:

Tratamiento pre-quirúrgico:

Ayuno de 6 horas

Aplicación de 0.5ml de meloxicam 30 minutos antes de la intervención con el fin de manejar el dolor durante la cirugía.

Sujeción: los animales fueron colocados en decúbito dorsal sobre la mesa de cirugía que ha sido adaptada para el tamaño del animal. Las extremidades de los cobayos se sujetaron a la mesa de cirugía con la finalidad de tener libre el campo de incisión. El asistente del cirujano ayudó a sujetar al animal y controló los signos clínicos de cada paciente.

Tricotomía de la zona inguinal aplicando clorhexidina, alcohol y yodo.

Proceso quirúrgico:

Anestesia: Se aplicó anestesia local con lidocaína, 1ml por cada animal, vía subcutánea en el rafe medio testicular.

Cirugía: Orquitectomía bilateral con técnica de incisión abierta.

- Procedimiento:
- Incidir en el rafe medio inguinal.
- Incidir la túnica vaginal
- Extraer el testículo
- Ligar el paquete espermático
- Repetir el proceso en el otro testículo
- Suturar la herida

Toma de muestras

Obtención de espermatozoides: se colocó los testículos en el vaso de precipitación estéril con solución fisiológica a 37°C, se realizó la disección de los epidídimos para luego colocarlos en las cajas Petri. Se hizo cortes en la cola de los epidídimos y se añadió 1ml del diluyente que corresponda. Posteriormente se procedió con las mediciones indicadas en la tabla propuesta en el anexo 1.

Proceso post-quirúrgico: Los cuyes castrados fueron reinsertados al programa cunícola del CEU, se ubicaron en el área comercial para que una vez terminado su tratamiento post-quirúrgico sean comercializados. El seguimiento se realizó hasta que la herida cicatrizó (aproximadamente quince días después de la cirugía).

Se aplicó un antibiótico de amplio espectro y un analgésico. Además de un cicatrizante curabicheros local.

Procesamiento de las muestras (evaluación seminal)

Evaluación de la motilidad espermática: Mediante la utilización del Sistema AndroVision. Se colocó en una placa 5 µl de semen diluido con los diferentes crioprotectores, se cubrió con un

cubreobjetos y se observó con el lente de 20X con perfil específico para cuyes. Para obtener el resultado de la motilidad se midieron 5 campos. Todo este proceso se realizó a 37.5 °C.

Evaluación de viabilidad espermática: Se realizó la tinción de eosina-nigrosina. Se colocó una gota de semen diluido en el medio crioprotector sobre un portaobjetos, se homogenizó suavemente y se hizo un frotis. Todo este proceso se lo realizó a 37.5 grados para evitar un shock térmico. Se dejó secar y se observó al microscopio donde se contaron los espermatozoides vivos (blancos) y muertos (rojos). Se contabilizaron 100 células y el resultado se expresó en porcentaje.

Evaluación de la morfología espermática: Esta evaluación permitió diferenciar espermatozoides normales y anormales. El procedimiento consiste en realizar un frotis con una gota de semen, se utiliza la tinción Farelly, se deja secar y finalmente se añade una gota de aceite de inmersión y se observa al microscopio con el lente de 100X (Pizarro, 2023). Se contabilizaron 200 células y el resultado se expresó en porcentaje de normales y con defectos primarios y secundarios. Todos los cuyes testeados fueron colocados bajo la clasificación donde indica que los espermatozoides normales deben sobrepasar el 60% del total. Se permite un 40% de anormalidad que se deben dividir en 10% primarias y 30% secundarias.

Evaluación de espermatozoides refrigerados: Las evaluaciones se realizaron a las 0h, 6h, 24h, 48h y 72h donde se observó motilidad total y progresiva y viabilidad mediante la utilización del programa AndroVision ajustado al perfil de cuy.

Análisis estadístico

Se emplearon pruebas estadísticas de análisis de varianza de tipo factorial en arreglo 3x5 con 5 repeticiones para comparar si los diferentes tratamientos aplicados son significativamente distintos. Se realizó la prueba de Tukey para comparar los grupos de tratamientos, para establecer en qué hora se marca la diferencia.

El programa estadístico que se utilizó fue INFOSTAT con diseño completamente al azar (DCA).

Resultados

Resultados de motilidad

El movimiento de los espermatozoides de cuy es curvilíneo con progresión irregular hacia adelante y tienden a formar paquetes conocidos como “rouleau”, estos pueden dificultar la clasificación de la motilidad espermática de los cobayos (Quispe, 2018). Sin embargo, el programa AndroVision fue calibrado por el fabricante para medir los parámetros de calidad seminal específicos del cuy.

Tabla 1.

Análisis de varianza de motilidad total.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
REPETICION	75	0,61	0,52	19,05	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3932,18	14	280,87	6,81	<0,0001
CRIOPROTECTOR	907,79	2	453,89	11,01	0,0001
HORAS	2640,10	4	660,02	16,01	<0,0001
CRIOPROTECTOR * HORAS	384,30	8	48,04	1,17	0,3351
Total	6406,0174	60	41,23		
Test Tukey		Alfa=0,05	DMS=4,36463		
Error: 41,2305	gl: 60				
CRIO-PROTECTOR	Medias	n	E.E.		
TRILADYL	30,01	25	1,28 A		
ANDROMED	32,76	25	1,28 A		
OPTIXCELL	38,37	25	1,28 B		
<i>Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)</i>					

Tabla 2.

Test Tukey motilidad total.

Test Tukey	Alfa=0,05	DMS=6,59424
Error: 41,2305	gl: 60	

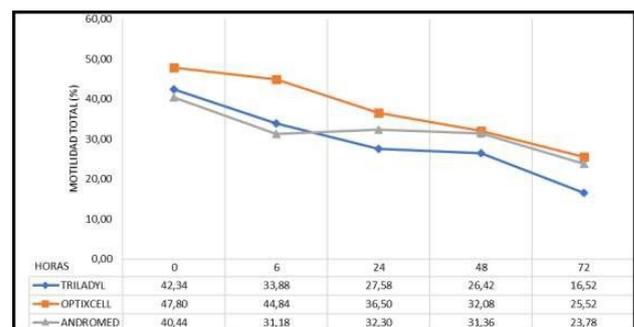
HORAS	Medias	n	E.E.	
72	26,33	15	1,66 A	
48	29,95	15	1,66 A	
24	32,13	15	1,66 A	B
6	36,63	15	1,66 B	
0	43,53	15	1,66 C	
<i>Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)</i>				

Debemos considerar que el tiempo de refrigeración al que fue sometido el criopreservante afecta de forma directa la motilidad total tanto individual como colectiva. Tomando en cuenta esto podemos decir que el diluyente Triladyl y Andromed tuvieron un comportamiento similar mientras de OptiXcell tuvo un mejor promedio entre los dos.

Motilidad total vs horas de refrigeración de los espermatozoides de cuy

Gráfica 1:

Comportamiento de la motilidad total desde la hora 0 hasta las 72h con los 3 diluyentes.



La motilidad total disminuye conforme transcurre el tiempo de refrigeración de los espermatozoides. La grafica indica que los diluyentes comerciales Triladyl y Andromed tienen comportamientos similares; por otro lado, el diluyente OptiXcell es más estable. El estudio realizado por (Quispe, 2018) indica que las razas de cuyes no interfieren en la motilidad total de los espermatozoides de cobayos, sin embargo, obtuvo resultados muy diferentes a los obtenidos en este estudio. En esta investigación la motilidad

total más alta fue con el diluyente OptiXcell en la hora 0 con un valor de 47.8%, mientras que la motilidad total que indica Quispe fue de 91%, esto pudo ocurrir debido a que su observación fue subjetiva, es decir la medición se realizó bajo el criterio del operador al observar directamente al microscopio y sin uso de diluyentes. También (Aragón, 2019), obtiene un resultado superior al de este estudio ya que la motilidad total promedio fue de 66%. Se ha demostrado que la adición de oligoelementos en la dieta aumenta notablemente la motilidad total de los espermatozoides, según un estudio realizado en alpacas donde se obtuvo un 81.25% frente a un 62.7% sin la adición de oligoelementos. Se podría usar este dato para mejorar la motilidad total en los cobayos ya que en esta investigación motilidad máxima que se obtuvo fue de 47.80% con el diluyente OptiXcell.

Tabla 3.

Análisis de varianza de motilidad progresiva.

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
REPETICION	75	0,74	0,68	20,53	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5522,00	14	394,43	12,14	<0,0001
CRIOPROTECTOR	1602,78	2	801,39	24,67	<0,0001
HORAS	3463,02	4	865,76	26,65	<0,0001
CRIOPROTECTOR*HORAS	456,20	8	57,02	1,76	0,1042
Error	1949,23	60	32,49		
Total	7471,23	74			
Test Tukey Alfa=0,05					
DMS=3,87430					
Error:	32,4872	gl: 60			

CRIOPROTECTOR	Medias	n	E.E.
TRILADYL	22,01	25	1,14 A
ANDROMED	27,92	25	1,14 B
OPTIXCELL	33,33	25	1,14 C
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)			

Tabla 4.

Test de tukey motilidad progresiva.

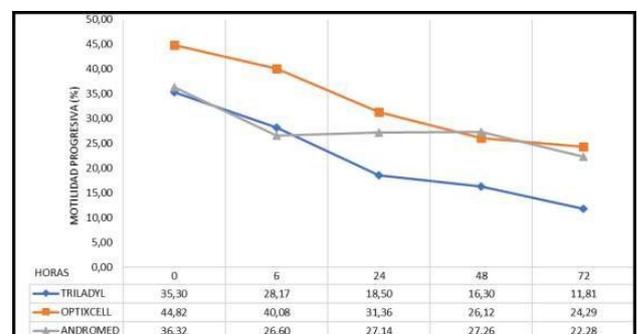
Test: Tukey		Alfa=0,05	DMS=5,85344	
Error:	32,4872	gl: 60	n	E.E.
HORAS		Medias		
72		19,46	15	1,47 A
48		23,23	15	1,47 AB
24				1,47 B
25,67				
15				
6		31,62	15	1,47 C
0		38,81	15	1,47 D
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)				

La influencia de las horas de refrigeración del preservante en lo que respecta a la motilidad progresiva tanto individual como colectiva fue similar pasadas las 24 horas de refrigeración. Cada uno de los diluyentes afecto de manera distinta a la motilidad progresiva, siendo el diluyente de nombre comercial OptiXcell el que presentó un mejor promedio, comparado con los otros dos diluyentes.

Motilidad progresiva vs horas de refrigeración del semen de cuy

Gráfica 2:

Comportamiento de la motilidad progresiva desde la hora 0 hasta las 72 horas con los 3 diluyentes.



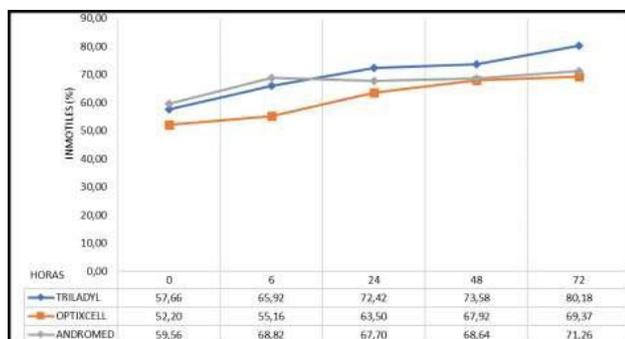
La motilidad progresiva indica que existe un comportamiento muy variado entre los diferentes diluyentes y las horas. Aunque en los tres casos la curva tiende a bajar conforme pasan las horas de refrigeración, este comportamiento es más notorio en el diluyente Optixcell. El

promedio de la motilidad progresiva en la hora 0 varía según el diluyente utilizado, en todos los casos es menor que en el pudú (especie silvestre en peligro de extinción en Chile), que tiene en promedio 50% de motilidad progresiva, esto puede verse influenciado por que los resultados de los otros estudios fueron realizados con semen fresco, obtenido inmediatamente después de la colecta. En el experimento con cobayos se indica que la motilidad progresiva en animales jóvenes alcanza el 50% promedio en la hora 0 utilizando como diluyente Triladyl adicionado con leche descremada. En esta investigación Triladyl fue el diluyente que menos resultados arrojó en cuanto a motilidad progresiva, esto pudo deberse a que no se le adicionó leche descremada sino yema de huevo como indica el fabricante. Sin embargo, la caída de la motilidad progresiva en dicho estudio es bastante notoria, ya que a las 24 horas post refrigeración descendió a 10%, por el contrario, en este estudio ese resultado se aproxima a las 72 horas de refrigeración que fue de 11.81%. En otro estudio realizado por (Aragón, 2019) tiene como motilidad progresiva máxima 9.86%, este dato es inferior al reportado en este estudio y puede ser debido a que utiliza el sistema ISAS para evaluar la calidad seminal.

Espermatozoides inmóviles vs horas de refrigeración del semen de cuy

Gráfica 3:

Representación de los espermatozoides inmóviles desde la hora 0 hasta las 72 horas de refrigeración.



En este caso conforme pasa el tiempo de refrigeración de los espermatozoides las curvas tienden a subir, es decir que se aumenta el número de espermatozoides inmóviles. Esto

se produce por varios factores, entre los cuales se tiene: falta de energía del espermatozoide, pérdida del flagelo o muerte espermática.

Resultados de viabilidad

Tabla 5.

Análisis de varianza de viabilidad.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ²	Aj	CV
REPETICIONES	15	0,69	0,64	6,30	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	560,93	2	280,47	13,25	0,0009
TRATAMIENTO	560,93	2	280,47	13,25	0,0009
Error	254,00	12	21,17		
Total	814,93	14			

Tabla 6.

Test Tukey de viabilidad.

Test Tukey Alfa=0,05 DMS=7,76283			
Error: 21,1667 gl: 12			
TRATAMIENTO	Medias	n	E.E.
TRILADYL	64,80	5	2,06 A
OPTIXCELL	75,00	5	2,06 B
ANDROMED	79,40	5	2,06 B
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)			

En la viabilidad al aplicar la prueba estadística ANOVA los tratamientos tuvieron un comportamiento distinto entre sí, sin embargo, al realizar las comparaciones individuales con la prueba estadística Tukey se muestra que el criopreservante OptiXcell y Andromed son estadísticamente similares teniendo un promedio más alto que el diluyente Triladyl que no es estadísticamente comparable a los otros dos teniendo un promedio menor. Es decir, los diluyentes comerciales OptiXcell y Andromed tuvieron una viabilidad similar y un promedio mayor mientras que Triladyl tiene menor eficacia.

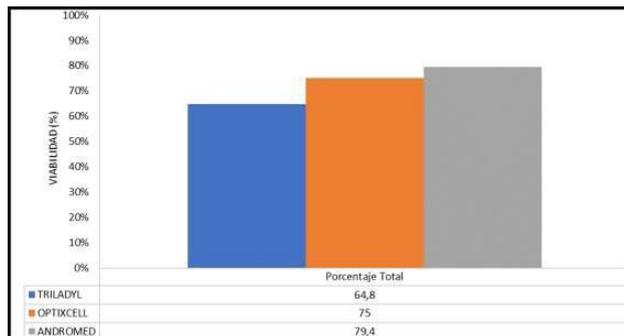
La viabilidad espermática con Triladyl fue de 64.80% y al análisis estadístico se demostró

su menor eficacia, aunque el porcentaje es mayor al que indica un estudio donde obtuvieron una viabilidad espermática del 40%.

Criopreservantes vs porcentaje de viabilidad de los espermatozoides

Gráfica n°4.

Representación de la viabilidad total de los espermatozoides según el diluyente utilizado.



En la gráfica podemos observar que el diluyente comercial Triladyl tuvo el menor porcentaje de viabilidad mientras que los diluyentes Optixcell y Andromed tienen porcentajes semejantes. La viabilidad espermática del cuy disminuye debido a que, al momento de extraer el semen del epidídimo, éste no entra contacto con el plasma razón por la cual los elementos protectores presentes en esta sustancia no tienen contacto alguno con los espermatozoides, haciendo que su resistencia a la refrigeración y congelación disminuyan de forma considerable. Esto explicaría la razón por la cual la viabilidad espermática en este estudio fue baja entre diluyentes.

El porcentaje de espermatozoides vivos con las muestras de todos los diluyentes es ligeramente mayor que el obtenido en los pudúes, el cual fue 61.7%, este resultado es el que más se asemeja al promedio obtenido con el semen diluido en Triladyl con un resultado de 64.8%, en el caso del semen conservado en Optixcell con un promedio de 75% y andromed con un promedio de 79.4%, el resultado de los ciervos rojos es notablemente menor.

La presencia de las espículas peneanas tiene alta significancia sobre la fertilidad, eso indica un semen con viabilidad de un 60.2%,

cuyo resultado se asemeja al obtenido con el Triladyl, pero se aleja notablemente de Optixcell y Andromed. Obtiene una motilidad del 93% utilizando como diluyente Andromed, resultado que difiere completamente con esta investigación, esto se puede deber a que su medición la realizo en semen fresco extraído por eyaculación del cuy.

Resultados totales de anomalías en los espermatozoides de cuy

Tabla 7

Promedio de las anomalías encontradas en las muestras de semen con los tres diluyentes. Las tablas donde están los datos de anomalías por diluyente se detallan en el anexo N° 8-9-10.

Tabla . Anormalidades de los spz de cuy total	
Tipo	%
Espermatozoides normales	76,50
Anormalidades primarias	6,42
Acrosoma lesionado	3,67
Pieza intermedia lesionada	1,08
Alteraciones de la cabeza	1,67
Anormalidades secundarias	17,08
Gota proximal	5,18
Cola enrollada	2,70
Acrosoma desprendido	2,03
Decapitados	7,17
TOTAL	100

La hipotermia prolongada a 5°C en un medio químicamente definido no afecta a los procesos espermáticos fundamentales para la adquisición de la capacidad fértil del espermatozoide cuy, es por ello que solo se realizó la medición de morfología celular en la hora 0 de extracción del semen. Se realiza una medición en semen fresco y semen congelado y obtiene el 70% y 69% de espermatozoides normales respectivamente.

En promedio las células espermáticas anormales son de 23.50%, la mayoría son anomalías secundarias con un 17.08% siendo las más comunes gota proximal 5.18%, cola enrollada 2.70%, acrosoma desprendido

2.03% y decapitados 7.17%. las anomalías secundarias se pueden disminuir colectando el semen con una vagina artificial. El promedio de las anomalías primarias fue de 6.42% siendo el más frecuente acrosoma lesionado 3.67%, pieza intermedia lesionada 1.08% y alteraciones de la cabeza 1.67%.

Se considera que las muestras seminales obtenidas se encuentran dentro de los parámetros denominados adecuados para la fertilización según. En este caso en promedio se obtuvo que el 76.50% de espermatozoides son normospermicos y las anomalías primarias 6.42% y secundarias 17.08% no sobrepasan los parámetros preestablecidos. La importancia de conocer las anomalías primarias y secundarias es debido a que las primarias son producidas durante la espermatogénesis y se consideran más graves, por el contrario, las secundarias son producidas en el paso por el epidídimo o en la eyaculación. Estos resultados nos indican que, por el factor morfológico, los espermatozoides son viables para la fecundación. Sin embargo, los resultados de esta investigación son diferentes a los obtenidos por (Quispe, 2018), quien detalla un 91% de espermatozoides normales, la diferencia puede deberse al tipo de tinciones realizadas por el otro autor o por el sesgo en la medición de los observadores.

Se observaron cambios importantes en todos los parámetros evaluados durante este estudio, estos mismos parámetros han sido medidos con anterioridad en otras especies como los pudúes. El alto porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales es similar al de los pudúes con 61.7%.

En todas las variables medidas en esta investigación se puede observar que OptiXcell fue el mejor diluyente y por ende se lo considera como la opción destacada para congelar el semen de cuy. El fabricante lo describe como un producto de alta seguridad para la conservación de semen ya que tiene beneficios importantes, así se tiene que; es un medio transparente y sin partículas, está libre de proteína animal y tiene una vida útil extendida ya que es tolerante a los

cambios de temperatura gracias a su tecnología de formación artificial de liposomas

(ARBIOTECH, 2021). Andromed ocupa el segundo lugar en eficacia para la conservación de semen de cuy y esto es porque que ofrece un medio ambiente transparente para los espermatozoides, no se tiene que mezclar con yema de huevo u otro compuesto y además fue sometido a pruebas para la preservación de semen fresco a +5°C hasta +10°C y según el fabricante se lo recomienda cuando se requieren muestras modelo refrigeradas, debido a que su composición estandarizada lo hace apto para el análisis computacionalmente asistido. Algo muy importante es que este diluyente ha sido usado en otras especies sin modificar su composición y preparación (Minitube, 2020). Finalmente, los resultados con menores cifras se obtuvieron con Triladyl, esto pudo darse debido a que se necesita la adición de yema de huevo y durante este proceso pudo existir contaminación en las muestras, además que el manual de preparación indica un cuidado específico en el control de la temperatura de los cristales donde se realizan las mezclas, pudo haber habido falló en el operador durante estos procesos. Por otro lado, el fabricante indica que existe diferencia en la cantidad de yema de huevo que se debe usar según la especie a la que se destine, por ejemplo, en caprinos se indica que solo se debe usar el 5% de yema de huevo mientras que en los bovinos se usa el 20%, esto nos alerta sobre un posible mal cálculo en la cantidad de adición de proteína animal en este diluyente para evaluar el semen de cuy (Minitube, 2021).

Por lo tanto, sería interesante continuar la línea de investigación incorporando estudios que incluyan la influencia del fotoperiodo, líneas genéticas, diferentes técnicas de obtención de semen, utilización de crioprotectores que se utilicen para otras especies, entre otros factores que podrían influir en la calidad espermática del semen de cobayo.

Conclusiones

La motilidad espermática total fue de 30,01 para Triladyl, 32,76 para Andromed y 38,37 para OptiXcell; observándose que éste último crioprotector presentó una estabilización espermática más apropiada, con relación a los otros dos diluyentes ($p > 0,05$). Esto nos indica que este crioprotector es el más indicado para mantener una buena motilidad de los espermatozoides hasta por 24 horas post-refrigeración.

La viabilidad espermática fue de 64,80 para Triladyl, 75,00 para OptiXcell y 79,40 para Andromed; observándose que éstos dos últimos crioprotectores presentan una condición más estable con relación al primer diluyente ($p > 0,05$). Esto nos indica que Optixcell y Andromed fueron los crioprotectores más apropiados para mantener una buena estabilización de los espermatozoides post-refrigeración.

El porcentaje de Anormalidades Primarias fue del 6,42%; mientras que el porcentaje de Anormalidades Secundarias fue del 17,08%.

Referencias bibliográficas

- Aragón, S. (2019). *Características macroscópicas, microscópicas, estimación de parámetros de motilidad y determinación de subpoblaciones espermáticas en semen de cuy (Cavia porcellus)*. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- ARBIOTECH. (2021). *ARBiotech Animal Reproduction Biothechnology*. <https://www.tienda.arbiotech.com.mx/product/optixcell-2/>
- Escobar, F., Ruíz, J. A., Hinojosa, R. A., la Cruz, D., Nilo, R., & Ruíz, D. (2023). Efecto de la edad sobre el peso y rendimiento de la canal y masa muscular en cuyes (*Cavia porcellus*) en crecimiento y engorde. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 10(1), 39-51.
- FAO. (2019). *World Watch List for Domestic Animal Diversity, 3rd edition*. Roedores. <http://www.fao.org/3/V8300S/v8300s1e.htm>
- GAD. (2019). *San Cristóbal de Uyumbicho*. <http://www.municipiodemejia.gob.ec/index.php/mejia/parroquias/tambillo>
- Garcés, J. L. (2024). *Evaluación de dietas arbustivas sobre el comportamiento etológico e índices productivos de cuyes hembra (Cavia porcellus) en engorde* [B.S. thesis]. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/41310>
- Lucas, C. T., Román, A. V., Flores, D. D. C., & Calderón, G. A. E. (2021). La Crianza de Cuy y Procesamiento Con Fines de Exportación en la Provincia de Acobamba. *Dominio de las Ciencias*, 7(3), 1659-1679.
- Matute, K. E. (2024). *Prevalencia de endoparásitos intestinales en cuyes (Cavia porcellus) en granjas familiares mediante análisis coproparasitario* [B.S. thesis]. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/28016>
- Mendoza, J. L., & Huamani, J. E. (2022). *Efecto de tres crioprotectores en la criopreservación de espermatozoides epididimarios de cuy (Cavia porcellus)*. <https://repositorio.unh.edu.pe/items/e900cddc-4bf2-4cb6-9dcc-2685809e68d5>
- Minitube. (2020). Manual Triladyl® Verdünner für Bullensamen Culture Medium für Bull Semen Diluyente de Semen Bovino. *Minitub Manual*, 49(0), 0–3.
- Minitube. (2021). *AndroMed Diluyente sin yema de huevo para semen bovino*. 9000–9001.
- Peceros, W. T. (2022). *Proyecto de exportación de carne de cuy envasado al mercado de Estados Unidos, Nueva York, comercializado por empresas Cárnicas Peceros*. <https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/12475>
- Pizarro, M. A. (2023). *Evaluación de tres diluyentes comerciales para la crioconservación de semen de carnero de la raza Dorper* [B.S. thesis]. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/26553>

- Quispe, H. A. (2022). *La radiación solar en el desarrollo somático, calidad seminal y fertilidad de Cavia porcellus*. L. <https://repositorio.untrm.edu.pe/handle/20.500.14077/2914>
- Quispe, W. (2018). *Características espermáticas y calidad del semen de dos razas de cuyes (Cavia porcellus), en el valle de Cajamarca*. Universidad Nacional de Cajamarca.
- Rochina, S. G. (2021). *Sistematización de la información técnico-científica generada en investigaciones en cuyes del repositorio de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y la Universidad Central del Ecuador*. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/16272>