
MEMORIAS



XXXVII REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL DE LA ASOCIACIÓN PERUANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL



XXXVII REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL DE LA ASOCIACIÓN PERUANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL

DEL 22 AL 24 DE OCTUBRE DE 2014

ABANCAY

Editor

Dr. Nilton César Gómez Urviola

Editor adjunto

M.V.Z. Mauro León Curillo Tacuri

Colaboran:

Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac (UNAMBA)

Asociación Peruana de Producción Animal (APPA)

EVALUACIÓN DE DOS DILUTORES COMERCIALES EN LA CONGELACIÓN DE SEMEN CON FINES DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ALPACAS (*Vicugna pacos*)

Mary Luz Naveros¹, Mijaíl Contreras²

¹Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Estación Experimental Agraria Canaán
E Mail: mnaveros@inia.gob.pe

²Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga E.F.P de Medicina Veterinaria

INTRODUCCIÓN

En el Perú, los camélidos sudamericanos probablemente constituyen el único medio de utilización productiva de las extensas áreas de pastos naturales en las zonas alto andinas donde no es posible la agricultura, ni la crianza económica de otras especies de animales domésticos. Estos animales convierten con inusual eficiencia, los pastos pobres de estas alturas en productos de alta calidad como son la fibra y la carne.

En camélidos sudamericanos existe muy poca información sobre inseminación artificial usando semen congelado (Bravo *et al.*, 1996); quizás debido a la falta de una metodología fiable de conservación de semen en Camélidos sudamericanos (CSA).

La conservación de las estructuras espermáticas y de su capacidad fertilizante exige la reducción o interrupción reversible del metabolismo celular. Esto se consigue mediante el uso de dilutores y la refrigeración o congelación que deprimen el metabolismo. Durante el proceso de criopreservación los espermatozoides se ven sometidos a diversos tipos de estrés, los cuales pueden inducir, en la célula espermática, daños letales o sub-letales los cuales comprometen su funcionalidad. La optimización de protocolos de criopreservación debe contemplar no solo la obtención de un alto número de espermatozoides sobrevivientes sino también la habilidad funcional de esta población.

Para lograr esto, es necesario comprender a que tipo de estrés se ven sometidos los espermatozoides durante los procesos de congelación y descongelación, así como la manera en que las células responden a las agresiones fisicoquímicas medioambientales. Las experiencias en criopreservación de semen en CSA hasta el momento no han sido satisfactorias, lo que conlleva a una mayor investigación tanto de las características del semen, proceso de colección y procesos de conservación de espermatozoides en CSA motivo por el cual el objetivo del presente trabajo fue evaluar dos dilutores comerciales en la congelación de semen con fines de inseminación artificial

MATERIALES Y MÉTODOS

El eyaculado fue colectado con un maniquí que simula una hembra en celo, a las alpacas se les limpia el vientre y la parte del prepucio antes que suban al maniquí, después de colectado el semen es llevado inmediatamente al laboratorio y colocado en baño maría a fin de mantener la temperatura, el semen colectado se evaluó macroscópicamente, el volumen, color del eyaculado; filancia, para motilidad se colocó una gota de semen sobre una lámina portaobjetos atemperada y se observó en el microscopio a un aumento de 40X y solo fueron considerados para la congelación a aquellos que tienen una motilidad mayor a 45%, para porcentaje de vivos y muertos se tomó una gota de semen y una gota solución acuosa de tinción de eosina 5% - nigrosina 10% y se colocó en una lámina portaobjetos atemperada y se hizo un frotis el cual se dejó secar y se observó al microscopio a un aumento de 40X y se realizó el conteo respectivo de vivos, muertos, también se determinó la concentración con ayuda de la cámara de Neubauer, una vez utilizado el semen para el análisis microscópico se diluyó el semen en proporción 1:1 (1 semen / 1 de dilutor Andromed). Una vez mezclado se mantuvo en baño maría por 3 minutos seguidamente se llevó a temperatura ambiente por 10 minutos, este fue trasladado a la refrigeradora a una temperatura de 5 °C por el tiempo de dos horas. Pasado las dos horas se evaluó la motilidad y se procedió a embazar el semen diluido con ayuda de una micro pipeta de 1000 ul en tubos Ependorf de 0.5 mL y estos inmediatamente fueron colocados en una

cubeta de hielo a 5 °C, para la congelación se midió con una regla la altura del nitrógeno líquido en el tanque criogénico, una vez medido se calculó que la canastilla para la congelación este primero a una altura de 10 cm del nitrógeno, los tubos Ependorf que contienen el semen diluido fueron secados y colocados en la canastilla y se procedió a realizar el descenso de 3 cm cada 5 minutos por tres veces, la última fue descendida hasta la base del tanque, la evaluación post descongelación se realizó tomando el tubo Ependorf extraído del tanque criogénico y sumergiéndola en un termo que contiene agua caliente a 37 °C por un tiempo de unos 20 segundos y se procedió a la evaluación en el microscopio. Los datos fueron analizados con la prueba de t de Student, el análisis de los datos fue utilizando el programa estadístico SAS® (SAS 9.2, Institute. Inc., Cary, NC, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1, se muestran los resultados que resumen los eyaculados obtenidos de los machos sometidos a colección. Los resultados obtenidos para las características macroscópicas fueron: volumen del eyaculado (mL), obteniendo un promedio de 1.06 ± 0.55 y 1.59 ± 0.44 mL para andromed y triladyl respectivamente; la filancia (cm) promedio fue 2.23 ± 1.13 y 2.55 ± 1.13 para andromed y triladyl respectivamente, no existiendo diferencia significativa para la prueba t de Student para un nivel de confianza de ($P > 0.01$). Las características microscópicas evaluadas fueron; motilidad (%), obteniendo un promedio de 58.36 ± 8.86 y CV 15% y 62.73 ± 6.47 y CV 10%, para andromed y triladyl respectivamente, no existiendo diferencia significativa ($P > 0.01$); la motilidad post refrigeración fue 52.73 ± 6.84 y 51.82 ± 7.17 para andromed y triladyl respectivamente no existiendo diferencia significativa ($P > 0.01$), la motilidad post descongelación (%) tuvo un promedio de 26.18 ± 8.27 y 16.18 ± 3.34 ; para andromed y triladyl respectivamente, existiendo diferencia significativa ($P < 0.01$) y la concentración ($\times 10^9$) fue de 112.36 ± 19.09 y 110.18 ± 20.08 para Andromed y triladyl respectivamente no existiendo diferencia significativa ($P > 0.01$)

La motilidad es quizás el parámetro más cercano para medir la viabilidad de los espermatozoides. Basados en este supuesto, la observación visual de la motilidad es el criterio más comúnmente utilizado para estimar la viabilidad espermática, pero es un método inexacto, puesto que es subjetivo y depende del observador. (Coulter y Foote, 1973)

En el presente trabajo se obtuvo una motilidad post descongelación de 26.18 ± 8.27 y $16.18 \pm 3.34\%$ para andromed y triladyl respectivamente este resultado es superior a lo encontrado por (Mc Evoy *et al.*, 1992). Quien reportó 10% de motilidad post descongelación a diferencia del presente trabajo el semen fue recogido por electro eyaculación y congelado en pajuelas utilizando diluyente a base de Tris-yema de huevo-glicerol, en otro trabajo realizado por (Aller *et al.*, 2001) encontró un motilidad post descongelación de $20.4 \pm 7.5\%$ utilizando citrato de sodio, yema de huevo, glucosa, glicerol el cual se encuentra en un rango superior a lo encontrado con el dilutor triladyl del presente trabajo de investigación. No se reportaron trabajos sobre congelación de semen con el dilutor andromed en alpacas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aller, J.F, G.E. Rebuffi, A.K. Cancino y R.H. Alberio 2001. Influencia de la crio preservación sobre la motilidad, viabilidad y fertilidad de espermatozoides de llama (*Lama glama*).
- Bravo P. W, Ordoñez C, Alarcón V. 1996 Procesamiento y congelación de semen de alpacas y llamas. En el 13º Congreso Internacional de Reproducción Animal, Sydney, Australia.
- Coulter, G.H. and R.H. Foote. 1973. cambios de los espermatozoides durante el procesamiento en pajillas. J. Animal. Sci, 37: 306 (abs).
- Mc Evoy, T.G., C.E. Kyle, P. Young, C.L. Adam and D.A. Bourke. 1992. Aspectos de la cría artificial y el establecimiento de la gestación en camélidos sudamericanos. Proc. 12th Int. Cong. Anim. Reproduction. The Hague, vol 4, 1963-1965.

Agradecimientos

- Al Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), Estación Experimental Agraria Canaán-Ayacucho, por promover la investigación.
- A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga al laboratorio de biotecnología reproductiva.

Tabla 1. Parámetros seminales evaluados en Alpacas (*Vicugna pacos*).

Variable	Andromed		Triladyl	
	n	Promedios \pm DS	n	Promedios \pm DS
Volumen, ml	11	1.06 \pm 0.55 ^a	11	1.59 \pm 0.44 ^a
Filancia, cm	11	2.23 \pm 1.13 ^a	11	2.55 \pm 1.13 ^a
Volumen de espuma, ml	11	1.18 \pm 0.87 ^a	11	0.91 \pm 0.70 ^a
Vitalidad, %	11	78.27 \pm 5.88 ^b	11	84.45 \pm 4.89 ^a
Concentración x 10 ⁶	11	112.36 \pm 19.09 ^a	11	110.18 \pm 20.08 ^a
Motilidad, %	11	58.36 \pm 8.86 ^a	11	62.73 \pm 6.47 ^a
Motilidad a la refrigeración, %	11	52.73 \pm 6.84 ^a	11	51.82 \pm 7.17 ^a
Motilidad al descongelado, %	11	26.18 \pm 8.27 ^a	11	16.18 \pm 3.34 ^b

^{a, b} Los literales iguales en la misma fila indican que no hay diferencias significativas ($P > 0.01$)

Tabla 2. Concentración espermática x 10⁶/mL en alpacas (*Vicugna pacos*).

DILUTOR	CORRIDAS	PROMEDIO \pm SD	MÍNIMO	MÁXIMO
TRILADYL	11	110.2 \pm 20.08 ^a	90.0	150.0
ANDROMET	11	112 \pm 19 ^a	36	140

^a Los literales iguales en la misma columna indican que no hay diferencia significativa ($P > 0.01$) prueba t de Student.

Tabla 3. Porcentaje promedio de vitalidad en semen de alpacas (*Vicugna pacos*).

DILUTOR	CORRIDAS	PROMEDIO \pm SD	MÍNIMO	MÁXIMO	CV (%)
TRILADYL	11	84.45 \pm 4.89 ^b	78	92	6
ANDROMET	11	78.27 \pm 5.88 ^a	70	88	8

Los literales diferentes en la misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.01$) prueba t de Student.

EVALUATION OF TWO COMMERCIAL EXTENDERS IN FROZEN SEMEN FOR PURPOSES OF ARTIFICIAL INSEMINATION IN ALPACAS (*Vicugna pacos*)

ABSTRACT: This research was developed at the Institute of National Agricultural Innovation INIA-Canaan-Ayacucho, in the District of Andres Avelino Caceres, Province of Huamanga, and Ayacucho Department, whose objective was to evaluate two commercial extenders in freezing semen purpose of artificial insemination in Alpacas (*Vicugna pacos*). Ejaculated samples were collected by artificial vagina from four players in good condition 11 ejaculates for triladyl dilutor dilutor and 11 ejaculates for andromed were obtained, and these micro and macroscopically evaluated. The results obtained for the macroscopic characteristics were ejaculate volume (mL), obtaining an average of 1.06 ± 0.55 and 1.59 ± 0.44 mL for andromed and triladyl respectively; the filancia (cm) averaged 2.23 ± 1.13 and 2.55 ± 1.13 for triladyl and andromed respectively, with no significant difference ($P > 0.01$), the color was the predominant milky white. The microscopic features were evaluated; motility (%), obtaining an average of 58.36 ± 8.86 and 15% CV and 62.73 ± 6.47 and 10% CV for andromed and triladyl respectively, with no significant difference ($P > 0.01$); post cooling motility was 52.73 ± 6.84 and 51.82 ± 7.17 for andromed and Triladyl respectively with no significant difference ($P > 0.01$), the post thawing (%) motility averaged 26.18 ± 8.27 and 16.18 ± 3.34 respectively for andromed and Triladyl exist significant difference ($P < 0.01$) and concentration ($\times 10^6$) was 112.36 ± 19.09 and 110.18 ± 20.08 for andromed and triladyl respectively with no significant difference ($P > 0.01$)

Keywords: Semen, andromed, triladyl, camelids.