

# Efecto de dos dilutores seminales y dos razas sobre las características microscópicas y cinéticas de espermatozoides ovinos en el CEAC-UTO

Pedro Delgado Callisaya <sup>1</sup>; Orlando Arce Cabrera <sup>1</sup>;  
Verónica Parisaca Mollericona <sup>2</sup>; Erick Delgado Choque <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrarias y Naturales, Universidad Técnica de Oruro;

<sup>2</sup> Universidad Pública de El Alto

*E-mail de contacto: pedroangel73@gmail.com*

**Resumen.** El objetivo de la investigación fue determinar las características microscópicas (motilidad total, motilidad progresiva), características cinéticas (velocidad curvilínea, velocidad rectilínea y velocidad del recorrido promedio) y las características de movimiento (índice de linealidad e índice de rectitud) de espermatozoides de carneros de dos razas: Corriedale y Hampshire Down, conservados en dos dilutores, en el *Centro Experimental Agropecuario Condoriri* (CEAC) de la *Universidad Técnica de Oruro* (UTO). Se utilizó semen eyaculado de dos carneros del CEAC. Se utilizó el equipo I-Sperm (AID-MICS Biotechnology, COREA) para los análisis cinéticos. Se determinó que la motilidad total y motilidad progresiva de espermatozoides, es influenciada por la raza pero esta motilidad espermática no está influenciada ni por el dilutor ni el tiempo de evaluación. Los valores cinéticos de velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL) y no así en la velocidad del recorrido promedio (VAP) son influenciados por la raza de carneros, también los dilutores influyen solo sobre la VCL, siendo OPTIXCELL el dilutor que ayuda a que los espermias tengan una velocidad de 145.56  $\mu\text{m}/\text{seg}$ . El tiempo de evaluación influyó solo sobre la VSL iniciando a las 0 horas con 92.34  $\mu\text{m}/\text{seg}$  y reduciéndose hasta 84.51  $\mu\text{m}/\text{seg}$  después de 12 horas. En síntesis, la conjunción tanto de VCL, VSL y VAP, ayudan a ver de una manera más objetiva la capacidad fecundante de los espermatozoides. La raza de carnero influye en la motilidad y valores cinéticos espermáticos de VCL, VSL y VAP. El dilutor OPTIXCELL mantiene adecuadamente las características microscópicas y cinéticas de los espermatozoides durante 12 horas, mínimamente.

**Palabras clave:** I-sperm; Dilutor seminal; Ovinos; OPTIXCELL; Cinética espermática

## Introducción

El mundo de la ciencia animal tiene gran avance en el campo del mejoramiento genético de los bovinos y ovinos, apoyándose en las biotecnologías como herramienta importante para alcanzar la producción eficiente de leche y carne. La inseminación artificial es una biotecnología que permite acelerar el mejoramiento genético de los ovinos, para lo cual el material genético del ovino macho (célula espermática) debe ser conservado, para

su posterior difusión (Nuñez y Rubio, 2015).

Históricamente, el desarrollo de la biotecnología reproductiva, permitió cambios trascendentales en la industria zootécnica (Camacho 2011) pero en ovinos hubo hasta ahora un retraso por las pocas técnicas de valoración desarrolladas en semen de esta especie. El semen procesado es usado mundialmente como una herramienta esencial en los programas de mejoramiento animal (Delgado 2005)

pero en las producciones de ovinos en Bolivia aún no está siendo explotada esta técnica de mejora genética.

El uso de semen procesado es un medio práctico para aumentar el tamaño genéticamente efectivo de las poblaciones y mantener su diversidad genética, especialmente de aquellas mantenidas en cautiverio como los reproductores ovinos de alta genética (Januskauskas *et al.* 1996) pero requiere que el semen sea evaluado adecuadamente tanto en sus propiedades cinéticas como morfológicas.

**Gametos masculinos:** Los espermatozoides son células altamente especializadas que han evolucionado para cumplir una función biológica compleja que es fecundar al óvulo. Se trata de una célula haploide, producto final del proceso de la gametogénesis en el macho, portadora de la información genética paterna para lograr un entrecruzamiento cromosómico y en consecuencia el intercambio genético, lo que supone un incremento en la diversidad genética (Wistuba *et al.* 2007; Srivastava y Pande 2017).

**Morfología y morfometría espermática:** La mayor parte de las muestras de semen contienen algunos espermatozoides de estructura anormal. Por lo común esto no se asocia a bajas tasas de fecundidad a menos que la proporción de espermatozoides anormales exceda el 20%; e incluso en estos casos, algunos tipos de anomalías pueden no asociarse a infertilidad. Las anomalías más comunes incluyen: cabeza anormal o desprendida; inclusiones citoplasmáticas anterior media o distal; cola arrollada o doblada, etc.

Las anomalías morfológicas de los espermatozoides pueden ser primarias (defectos en la espermatogénesis), secundarias (producidos durante el paso por el epidídimo) o terciarias (durante la eyacuación o manejo inadecuado del semen) (Cortez 2002; Olivera *et al.* 2006; Gonzales y Pallares 2013).

La morfometría espermática se valora mediante la determinación de las dimensiones de la cabeza y cola, las muestras previamente fijadas y teñidas con algunos colorantes de uso comercial como la Eosina-Nigrosina-Giemsa, son analizadas mediante un microscopio morfométrico, los parámetros de la cabeza espermática, pieza intermedia y acrosoma, permitiendo la clasificación de los espermatozoides según su tamaño y forma (Álvarez y Lledó 2006; Quintero *et al.* 2009).

**Sistemas de análisis digital CASA:** El sistema analizador de semen digital (CASA) refleja una serie de medidas derivadas del análisis del desplazamiento de la cabeza del espermatozoide a través del tiempo.

Los parámetros evaluados en las muestras seminales son: el porcentaje de espermatozoides estáticos (EST) y progresivos (PRO). Además, otros parámetros definen la cinética de cada espermatozoide como la velocidad curvilínea (VCL), la velocidad media (VAP) y la velocidad rectilínea (VSL), los índices de linealidad (LIN), índice de rectitud (STR) (Buzón 2013; Quintero *et al.* 2009).

**Diluyentes empleados en la conservación en fresco de espermatozoides:** Los dilutores para la dilución de los espermatozoides ovinos, específicamente no son para esta especie, ni tampoco para la conservación en fresco, sino más bien para conservación adecuada durante el tiempo (Delgado 2005).

Se puede aseverar que el manejar carneros, como machos reproductores, implica mucho esfuerzo, tanto desde el punto de vista económico, sanitario, de manejo y alimenticio, porque aumenta la mano de obra, se necesita mayores volúmenes de alimentos, más insumos farmacéuticos, más prevención de transmisión de enfermedades reproductivas. Además, no se tiene por seguro la calidad del semen que producen estos sementales, solo se confía en algunas técnicas obsoletas que predicen esa calidad.

Por esta razón, el objetivo central de esta investigación fue determinar las características microscópicas (motilidad total, motilidad progresiva), características cinéticas (velocidad curvilínea, velocidad rectilínea y velocidad del recorrido promedio) de espermatozoides de carneros de dos razas (Corriedale y Hampshire Down) conservados en dos dilutores, en el CEAC-UTO.

## **Materiales y métodos**

La investigación fue realizada en el Centro Experimental Agropecuario Condoriri (CEAC) perteneciente de la Universidad Técnica de Oruro (UTO), geográficamente situado en los paralelos 17°31'41" de latitud Sur y 67°14'02" de longitud Oeste (CEAC 2016).

Para la investigación se acondicionó una sala de colección de semen para evitar la contaminación de las muestras seminales. Antes de empezar con el trabajo de campo, se controló que los animales estén aparentemente sanos y con buena condición corporal.

### **Análisis del semen**

Para el análisis del semen se utilizó el equipo y el software del sistema "I-SPERM" (AIDMICS BIOTECHNOLOGY, COREA). Antes de cada valoración se ajustaron los parámetros de iluminación, contraste, brillo e intensidad, con el fin de optimizar la digitalización de las imágenes de células espermáticas, evitando la pérdida de trayectorias.

### **Colección de semen**

Para la colección de semen se utilizó un electroeyaculador portátil (AUTOJAC, V3 CO, USA).

### **Preparación de semen para evaluación**

Una vez colectado el semen, se determinó inmediatamente el volumen y la concentración. Para la determinación del volumen se utilizó una jeringa graduada en cual se determinó esta variable. Para determinar la concentración se utilizó el módulo concentración del I-SPERM; para esto se preparó una dilución de 1:200 de semen que se colocó 70  $\mu$ L de este preparado en un recipiente especial que utiliza este sistema de evaluación computacional.

### **Dilución de semen**

Una vez evaluado, el semen restante fue diluido en los tres medios de dilución dos dilutores comerciales *Andromed* y *Optix-cell* utilizados en esta investigación.

En todos los dilutores se colocó una concentración final de 100 millones de espermatozoides por ml. Estas muestras fueron repartidas en y almacenadas en pajillas para semen de 0.5 ml; el semen diluido en los tres dilutores y almacenado en las pajuelas, fue colocado en un refri-

gerador y se dejó equilibrar al menos 8 horas antes de hacer la valoración correspondiente en el equipo I-SPERM.

### ***Evaluación del movimiento espermático***

Las muestras de semen repartidas en los tres dilutores se evaluaron cada 24 horas durante 7 días, iniciándose el primero 8 horas después de haber sido mezcladas en cada dilutor. Todas las valoraciones se realizaron empleando el procedimiento informatizado I-SPERM.

### ***Análisis de datos***

Para el análisis de los datos se utilizó el diseño de bloques completamente al azar bifactorial y la prueba de Duncan al 5% de significancia. Para estos análisis se utilizó el programa estadístico R-Studio v. 2023.06.0.

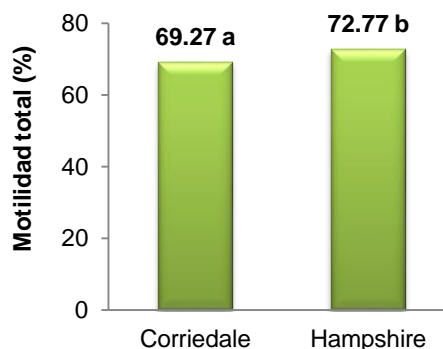
## **Resultados y discusión**

### ***Determinación de las características microscópicas (motilidad total, motilidad progresiva) de espermatozoides de carneros de las razas Corriedale y Hampshire Down, conservados en dos dilutores***

Inmediatamente después de la colección de semen se determinó la motilidad total mediante el equipo I-SPERM. Para determinar las diferencias entre razas, dilutores y evaluaciones, se desarrolló el análisis de varianza de los datos encontrados. Se determinó que el factor raza influye sobre la motilidad total de los espermatozoides ( $p=0.0134$ ), en otras palabras, hay 2 promedios de motilidad total espermática de carneros, estadísticamente diferentes. Mientras que los factores dilutor y tiempo de evaluación no fueron significativos ( $p=0.0604$  y

$0.1737$ , respectivamente). El coeficiente de variabilidad de 12.98% indica un valor adecuado y muestra la confiabilidad de los datos obtenidos, por lo que se rechaza la hipótesis nula planteada.

Para determinar cuál de los promedios de motilidad espermática total fue influenciada por una de las razas evaluadas, se desarrolló la prueba de Duncan al 5% de significancia (Figura 1).



**Figura 1.** Resumen de los promedios de motilidad espermática **total** (%) a efecto de las razas evaluadas (Corriedale y Hampshire Down) del CEAC - UTO

La motilidad total de los espermatozoides del semen de los carneros tanto de la raza Hampshire Down como Corriedale en el estudio, fue de 72,77% y 69,27%, respectivamente. Estos resultados, están por debajo de los rangos reportados por Palacios (2005), quien menciona que una muy buena motilidad se da a partir de 90%; otros autores también mencionan motilidades por encima del valor encontrado en el presente trabajo: Cosme, (2005) con 91,2% y Dalmazzo (2008) que reporta una motilidad de 76,5% a 78,5%, trabajando con las razas Texel y Dorset. El semen de buena calidad en especies domésticas muestra una motilidad igual o mayor a 70%, y esta motilidad espermática está altamente correlacionada con la fertilidad y habilidad fe-

cundante de los espermatozoides (Muiño, 2008).

La primera característica que hay que resaltar en esta investigación es la utilización de equipo informatizado para la evaluación seminal (I-SPERM) el cual quita el criterio subjetivo que se tiene cuando se está evaluando semen de forma tradicional, este criterio subjetivo se refiere al estado de ánimo del evaluador, que influye sobre el criterio evaluado de motilidad. La mayoría de los trabajos de investigación solo utilizaron un microscopio simple para observar si existe movimiento o no y si este movimiento se da en la mayoría de los espermatozoides. Esta situación explicaría el por qué los datos obtenidos de motilidad son inferiores a los reportados por otros autores, pero serían en el presente caso más exactos en su evaluación por la precisión que tiene el equipo I-SPERM.

Muchas variables productivas son inherentes a la genética de un individuo, esto podría explicar el por qué los espermatozoides de la raza Hampshire Down poseen mayor movimiento que los espermatozoides de la raza Corriedale, en todas las evaluaciones realizadas se vio estas características de mayor movimiento espermático desarrollado por esta raza.

Con respecto a la valoración del efecto de los dilutores sobre esta motilidad total (69.76 y 72.27% de motilidad espermática total para ANDROMED y OPTIXCELL, respectivamente), se observó que a pesar de que no hubo diferencias estadísticas de acuerdo a la prueba de Duncan ( $p > 0.05$ ), el dilutor OPTIXCELL en todos los casos observados -tanto en microscopio simple como en el equipo I-SPERM- mejoró la calidad de visualización, además de mantener un porcentaje mayor de la motilidad con respecto a

ANDROMED aunque no fue detectado por la prueba de Duncan.

De la misma manera cabe discutir los resultados del factor tiempo de evaluación. Esta variable demostró algo muy interesante con respecto al manejo de los espermatozoides, la primera evaluación realizada a las 0 horas (71.92% de motilidad total) no muestra diferencia estadística frente a la evaluación realizada a las 12 horas post-colección (70.11% de motilidad total), esta situación indica que tanto los dilutores utilizados como el protocolo de manejo de semen son muy adecuados, pues no se pierde la motilidad total de los espermatozoides de forma significativa, y que la reducción de motilidad se da en 1 a 2 puntos porcentuales en 12 horas de manipulación adecuada.

En la mayoría de los trabajos realizados de conservación en fresco de espermatozoides de diferentes especies animales, el sustrato energético para los espermatozoides del dilutor es proveniente de azúcares glucolizables. Jones y Montague (1991), observaron que en presencia del inhibidor 5 alfa clorhidrina, dentro la célula espermática, el proceso de conversión de la glucosa o fructosa a lactato se inhibe y se produce una acumulación de 1,6 bifosfato y dihidroxiacetona fosfato, lo cual limita la capacidad de los espermatozoides afectados de generar ATP (adenosin trifosfato) a partir de azúcares glucolizables, el mecanismo por el cual se genera este inhibidor aún no ha sido descrito. Posiblemente la anterior observación y efecto acumulativo del shock térmico, serían los responsables para que la motilidad espermática no se reduzca después de 12 horas de post enfriado.

Los dilutores con los cuales se conservó en fresco a los espermatozoides a 4°C, influyeron en forma similar sobre la mo-

tilidad de los espermatozoides en el tiempo, esto debido a que la composición de cada dilutor es muy semejante. Solamente la turbidez del ANDROMED podría deberse a la concentración de lecitina de soya que OPTIXCELL no utiliza. De todas maneras, la capacidad de ANDROMED y OPTIXCELL para controlar variables como pH son adecuadas, pues como se sabe la bajada de pH induce a que los espermatozoides se queden quietos (Senger 2003), mientras que si se eleva el pH estos tienden a hiper activarse.

Estudios realizados sobre metabolismo celular de espermatozoides, muestran que el lactato, subproducto catabólico de los espermatozoides, no solo se genera a partir de hexosas (glucosa, fructosa, etc.) sino también a partir del ácido cítrico. Medrano (2004), en una investigación similar, encontró lactato extracelular con la incubación de los espermatozoides en medio con ácido cítrico como fuente de energía, para espermatozoides porcinos.

Los dilutores utilizados más la temperatura de refrigeración, lograron reducir al mínimo el metabolismo celular espermático y por ende reducir la producción de lactato que ocasionaría la muerte temprana de estas células (Senger 2003).

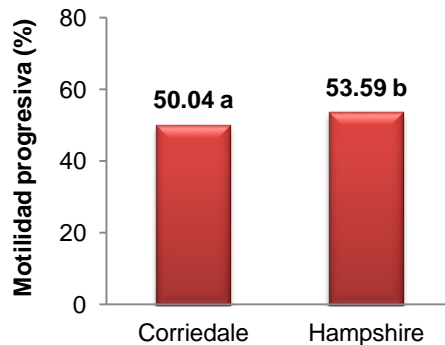
### *Análisis de la motilidad progresiva*

De acuerdo al ANVA se determinó que también el factor raza influye sobre la motilidad progresiva de los espermatozoides ( $p=0.0098$ ), esto quiere decir que hay 2 promedios de motilidad total espermática de carneros estadísticamente diferentes. Mientras que los factores dilutor y tiempo de evaluación no fueron significativos ( $p=0.5031$  y  $0.2089$ , respectivamente).

El coeficiente de variabilidad de 17.26% indica un valor adecuado y muestra la confiabilidad de los datos obtenidos. Al haber encontrado diferencias entre el factor raza se rechaza la hipótesis nula planteada.

La prueba de Duncan desarrollada muestra dos grupos diferenciados de motilidad progresiva (dos promedios obtenidos que estadísticamente son diferentes), a efecto de la raza de carneros.

La Figura 2 muestra el efecto de la raza sobre la motilidad progresiva de espermatozoides.



**Figura 2.** Resumen de los promedios de motilidad espermática **progresiva** (%) a efecto de las razas evaluadas (Corriedale y Hampshire Down) del CEAC - UTO

Se comprobó estadísticamente que la mayor motilidad progresiva espermática, lo presenta la raza Hampshire Down con 53.59%, mientras que con la raza Corriedale se tuvo 50.04%. Cabe mencionar que este valor no se mide usualmente, pues para esto se requiere de equipos especiales computarizados para detectar la diferencia entre motilidad total y motilidad progresiva.

Para los resultados encontrados no se encontró bibliografía similar que trate sobre la motilidad progresiva, pero es

necesario entender que la motilidad total es la suma de la motilidad progresiva y la motilidad estacionaria que desarrollan los espermatozoides, así que la motilidad progresiva se refiere a los espermatozoides que tienen la facultad de avanzar y por ende tener la posibilidad de fecundar. También es necesario indicar que la motilidad progresiva siempre tendrá un valor menor al de la motilidad total.

El semen de buena calidad en especies domésticas muestra una motilidad igual o mayor a 70%, y esta motilidad espermática está altamente correlacionada con la fertilidad y habilidad fecundante de los espermatozoides (Muiño, 2008).

El movimiento espermático está dado por el flagelo del espermatozoide que posee proteínas tubulares (dineína y actina), estas proteínas desarrollan su movimiento gracias a una cantidad adecuada de ATPs producidos por sus mitocondrias. Para el movimiento normal del espermatozoide también influye el estado normal de la membrana celular espermática, pues si esta presenta fragmentaciones, roturas o vejez, la capacidad de absorber azúcares se reduce drásticamente y el espermatozoide simplemente no se mueve o presenta un movimiento anormal, como el girar en su propio eje o desarrollar direcciones extremadamente erráticas (Jones y Montague 1991; Guyton 2000; Santiani 2012). Considerando esta característica, se puede mencionar que más del 50% de los espermatozoides de los carneros evaluados, poseen la cualidad de movilizarse progresivamente durante 12 horas, casi sin cambiar sus valores de movimiento.

A pesar de que en el ANOVA el efecto del factor dilutores sobre esta motilidad progresiva no resultó estadísticamente significativo (Duncan =  $p > 0.05$ ), (51.38 y

52.25% de motilidad espermática progresiva para ANDROMED y OPTIXCELL, respectivamente), se observó que el dilutor OPTIXCELL ayuda mucho con la poca turbidez con la que cuenta, haciendo más fácil y más exacta la valoración por el I-SPERM con respecto a ANDROMED.

En suma si la mitad de los espermatozoides aún conservan su progresividad, indicaría que de cada mil millones, 500 millones se mueven progresivamente. Y se sabe que al menos 50 millones son necesarios para completar el recorrido desde la vagina hasta el útero en el aparato reproductor de la hembra para fertilizar el óvulo. Como se sabe un carnero eyacula un promedio de tres mil millones por ml de semen, lo que da a entender que por cada mil millones se tendría diez dosis para inseminación y de tres mil millones se tendría 30 dosis inseminantes capaces de fecundar sin problemas a la hembra (Olivera *et al.* 2006; Silva y Fassana 2017).

#### ***Determinación de las características cinéticas (velocidad curvilínea VCL, velocidad rectilínea VSL y velocidad del recorrido promedio VAP) de espermatozoides de carneros de las razas Corriedale y Hampshire Down***

La evaluación de velocidad (VCL, VAP y VSL) de los espermatozoides se analizó mediante el equipo I-SPERM, para determinar las diferencias entre razas, dilutores y evaluaciones; para esto se desarrolló el análisis de varianza de los datos encontrados para estas variables y se las unió para su mejor interpretación. Los valores del ANOVA para VCL, VAP y VSL se muestran en el siguiente cuadro.

**Cuadro 1.** Análisis de varianza de la velocidad curvilínea (VCL), velocidad del recorrido promedio (VAP) y velocidad rectilínea (VSL) espermática, a efecto de las razas, dilutores y evaluaciones seminales de carneros del CEAC - UTO

Fuente de variación	gl	VCL ( $\mu\text{m/s}$ )	VSL ( $\mu\text{m/s}$ )	VAP ( $\mu\text{m/s}$ )
		p-valor		
Raza	1	<0.0001	0.0041	0.2447
Dilutor	1	0.0023	0.0725	0.0627
Evaluación	1	0.765	0.0029	0.5044
Dilutor * Evaluación	1	0.9776	0.8282	0.8899
Error	185			
Total	189			

De acuerdo a la unión de los tres AN-VAS (Cuadro 1), se determinó que los factores raza y dilutor influyen sobre la VCL de los espermatozoides ( $p < 0.0001$  y  $0.0023$ , respectivamente). También se debe mencionar que los factores raza y evaluación influyeron sobre la VSL de los espermatozoides ( $p = 0.0041$  y  $0.0029$ , respectivamente). Ninguno de los factores evaluados (raza, dilutor y evaluación) influyen sobre la velocidad de recorrido promedio (VAP). Esto indicaría que la velocidad curvilínea (VCL) está influenciada o cambia de acuerdo a la raza de carnero y de acuerdo al tipo de dilutor.

También se puede deducir que este tipo de movimiento se mantiene durante 12 horas en promedio, pues no hay diferencia estadística en los tiempos de evaluación sobre la VCL ( $p = 0.765$ ), de igual manera, la interacción dilutor\*tiempo de evaluación no fue significativa ( $p = 0.9776$ ) para la VCL. La velocidad rectilínea (VSL) es influenciada y cambia de acuerdo a la raza de carnero, de igual forma se ve afectada después de unas horas de evaluación. Los datos muestran que no influye el dilutor para sobre la VSL ( $p = 0.0725$ ) de los espermatozoides y tampoco la interacción dilutor \* tiempo de evaluación ( $p = 0.8282$ ).

El coeficiente de variabilidad para VCL, VSL y VAP fue de 15.24, 20.46 y 18.35 %, respectivamente. Estos CV muestran la confiabilidad de los datos obtenidos. Para determinar cuál nivel de los factores principales influencia más sobre los promedios de velocidad curvilínea (VCL) y velocidad rectilínea (VSL), se desarrolló la prueba de Duncan al 5% de significancia que se presenta en el Cuadro 2.

En cuanto a la velocidad curvilínea (VCL) la prueba de Duncan desarrollada muestra dos grupos diferenciados (los dos promedios obtenidos que estadísticamente son diferentes), primero a efecto de la raza de carneros. Con esta prueba se puede ver que los espermatozoides de la raza Corriedale poseen una velocidad curvilínea mayor que en la raza Hampshire Down. En otras palabras, los espermatozoides de los carneros Corriedale no tienen un recorrido lineal, más bien forman una curvatura al desplazarse, pero tratan de compensar esto con mayor velocidad de tipo curvilíneo (VCL). El error estándar obtenido es bajo, mostrando una homogeneidad en las varianzas obtenidas de cada tratamiento (Srivartava 2017).



**Cuadro 2** Análisis de Duncan de los promedios de la velocidad curvilínea (VCL), y velocidad rectilínea (VSL) de los espermatozoides, a efecto de las razas de carneros, dilutores y tiempos de evaluación (Corriedale y Hampshire Down, ANDROMED y OPTIXCELL, 0 y 12 horas, respectivamente)

			Medias	E.E.	Duncan
VCL	Raza	Hampshire	132.78	2.73	a
		Corriedale	148.55	1.94	b
	Dilutor	Andromed	135.77	2.19	a
		Optixcell	145.56	2.42	b
	Tiempo de evaluación	0 horas	140.19	2.31	a
		12 horas	141.14	2.31	a
VSL	Raza	Hampshire	84.46	1.59	a
		Corriedale	92.39	2.23	b
	Dilutor	Andromed	86.08	1.79	a
		Optixcell	90.77	1.96	a
	Tiempo de evaluación	0 horas	84.51	1.89	a
		12 horas	92.34	1.89	b

De igual manera el factor tipo de dilutor utilizado, influyó la VCL de los espermatozoides. Si se observan los datos, se ve que OPTIXCELL mantiene una elevada velocidad (145.56  $\mu\text{m}/\text{seg}$ ), comparada a ANDROMED (135.77  $\mu\text{m}/\text{seg}$ ). Este dato es importante pues indica que OPTIXCELL mantiene la homeostasis celular de los espermatozoides de carnero, controlando su nutrición y el incremento de factores dañinos como el pH (Hafez 2002).

Sobre la velocidad rectilínea (VSL), la prueba de Duncan desarrollada muestra dos grupos diferenciados, primero a efecto de la raza de carneros. La prueba muestra que los espermatozoides de la raza Hampshire Down poseen una velocidad rectilínea mayor que en la raza Corriedale. El error estándar obtenido es bajo mostrando una homogeneidad en las varianzas obtenidas de cada tratamiento.

El factor tiempo de evaluación, también influyó la VSL de los espermatozoides. Si se observan los datos, a las 0 horas, existía mayor velocidad de tipo rectilíneo (92.34  $\mu\text{m}/\text{seg}$ ), comparada a la evaluación 12 horas después (84.51  $\mu\text{m}/\text{seg}$ ). Este dato es importante pues indica que mientras más tiempo pase, los espermatozoides pierden velocidad.

La velocidad curvilínea (VCL) y rectilínea (VSL) son reconocidas como parámetros importantes en la evaluación del semen, debido a que son los responsables del transporte de espermatozoides a lo largo del tracto genital de la hembra (Verstegen *et al.* 2002; Robayo *et al.* 2008).

Verstegen *et al.* (2002) desarrollaron correlaciones entre los parámetros cinéticos de los espermatozoides con la tasa de fertilidad, determinando que el VAP,

VSL y VCL fueron significativamente mayores en espermatozoides que logran más del 50% de ovocitos fertilizados que en aquellas donde la tasa de fertilización de ovocitos fue inferior al 50%.

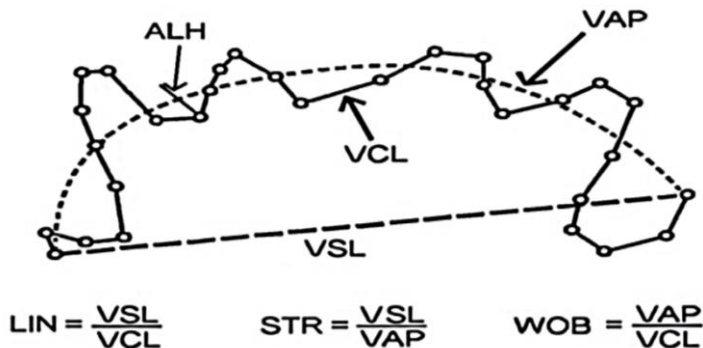
Muestras de espermatozoides con altos valores de VAP, VSL y VCL, así como de LIN (*índice de linealidad*) y BCF (*frecuencia de batido de cola*), indican entonces mejor migración y penetración en el moco cervical (Neill 2006; Versteegen et al. 2002). De igual forma, Cox et al. (2006) en una investigación relacionada con el traspaso del moco cervical, reportan que en espermatozoides caprinos, es necesaria una velocidad adecuada de los espermatozoides, a fin de lograr una eficiente migración dentro del moco cervical.

La VCL marca la trayectoria que desarrollan los espermatozoides de forma natural y está influenciada por factores externos a los espermatozoides, tales como la presión osmótica, pH, temperatura, etc., lo cierto es que mientras más errático sea el movimiento, menor probabilidad de fertilización habrá, pues el movimiento de desplazamiento que no presenta un patrón definido, se da en espermatozoides con algún problema como ser edad, hiperactivación, o daño a nivel de membrana celular.

Obviamente se debería llegar a un parámetro alto para inferir estos problemas en el espermatozoide. En otras especies como humanos, porcinos, caprinos y equinos, los espermatozoides que llegan a superar 200  $\mu\text{m}/\text{seg}$  muestran estos problemas (Robayo et al., 2008; Srivastava y Pande 2017).

En la presente investigación los valores llegan hasta 150  $\mu\text{m}/\text{seg}$  en la raza Corriedale. Esto indica tal vez su inherente diferencia gracias a la raza, pero no indicaría daño de los espermatozoides, aunque debería hacerse pruebas paralelas de integridad y funcionalidad espermática, para saber concretamente si el espermatozoide tiene algún daño.

De acuerdo con Srivastava y Pande (2017), la Figura 3 grafica que la VSL es un parámetro que toma el tiempo promedio que le lleva al espermatozoide llegar de un punto A a un punto B (distancia). En síntesis, la VSL es un cálculo teórico del avance rectilíneo. Obviamente este puede estar influenciado por los movimientos que desarrolle el espermatozoide antes de llegar al punto B (vale decir el patrón de movimiento curvilíneo que posea hará que se reduzca la VSL (velocidad rectilínea) (Versteegen et al. 2002; Cox et al. 2006).



**Figura 3.** Características de recorrido de espermatozoides, medidos por sistemas computacionales de evaluación seminal (Fuente: Srivastava y Pande 2017)

Lo cierto es que esta medida (VSL) da una idea clara de cómo va avanzando el espermatozoide hacia adelante en un tiempo dado, y es un indicador muy adecuado para predecir el tiempo de llegada al ámpula donde se unirá al óvulo (Vershtegen *et al.*, 2002; Cox *et al.* 2006).

## Conclusiones

- La motilidad total y motilidad progresiva de espermatozoides es influenciada por la raza (Corriedale y Hampshire Down) pero esta motilidad espermática no está influenciada ni por el dilutor ni el tiempo de evaluación.
- Se logró determinar que la raza de carneros (Corriedale y Hampshire Down) influye sobre los valores cinéticos de velocidad curvilínea (VCL), velocidad rectilínea (VSL) y no así en la velocidad del recorrido promedio (VAP).
- También los dilutores influyen solo sobre la VCL, siendo OPTIXCELL el dilutor que ayuda a que los espermias tengan una mayor velocidad. El tiempo de evaluación influye solo sobre la VSL y reduciéndose después de 12 horas.

## Referencias citadas

Álvarez J., Lledó C. 2006. Análisis integrado de morfología y movilidad espermática humana, con el uso de *Sperm Class Analyzer*. Tesis doctoral. Universidad de Valencia, España. 171 p.

Buzón A. 2013. Análisis cinético y morfométrico del espermatozoide del caballo empleando el sistema *Sperm Class Analyzer*. Universidad de Córdoba Facultad de Veterinaria, Departamento de Medicina y Cirugía. Córdoba, Argentina. 172 p.

Camacho O. 2011. Crio-capacitación de espermatozoides caprinos, procesados con dos diluyentes. Tesis de grado en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Veracruzana. México. 54 p.

CEAC (Centro Experimental Agropecuario Condoriri). 2016. Informe anual de actividades. Universidad Técnica de Oruro. *En línea*. Disponible en: <https://cepaoruro.org/no638-la-investigacion-pilar-del-desarrollo-agropecuario-oruro-13-05-11/>

Cortez S. 2002. Efecto de la conservación sobre la fisiología espermática de semen caprino. Universidad Complutense de Madrid. Tesis doctoral. España. 225 p.

Cosme R. 2005. Agua de coco (*Cocus nucifera*), suero fetal bovino, aloe vera y sus combinaciones para la crio preservación de semen ovino. Tesis de maestría. Facultad de Zootecnia. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México. 65 p.

Cox J., Alfaro V., Montenegro V., Rodriguez H. 2006. Computer-assisted analysis of sperm motion in goats and its relationship with sperm migration in cervical mucus. *Theriogenology*, 66(4): 860-867.

Dalmazzo P. 2008. Comparación de dos métodos de congelación de semen ovino. Tesis. Facultad de Ciencias Veterinarias Instituto de Reproducción Animal. Universidad Austral de Chile. p. 25.

Delgado P. 2005. Inseminación artificial en bovinos. s/e. La Paz, Bolivia. 68 p.

Gonzales A., Pallares I. 2013. Eficiencia comparativa entre dos diluyentes para la crio preservación de semen en toros brahmán en el departamento de Antioquia. Trabajo de grado para optar el título de Médico Veterinario. Universidad De La Salle. Antioquia, Colombia. *En línea*. Disponible en: [https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\\_veterinaria/208](https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/208)

Guyton A. 2000. Tratado de fisiología médica. Mc Graw-Hill - Interamericana de España, Madrid. p. 80-96.

- Hafez E. 2002. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ª ed. Edit. Interamericana. México DF. 509 p.
- Januskauskas A., Söderquist M., Haard M., Haard N., Rodriguez H. 1996. Influence of sperm number per straw on the post-thaw sperm viability and fertility of swedish red and white A.I. bulls. *Vet. Scand.* 14(5): 2-27.
- Jones A., Montague M. 1991. Metabolism of Fructose-1,6 Bisphosphate by Mature Boar Spermatozoa. *Biochem* 3(12): 82-85.
- Medrano A. 2004. Estudio del metabolismo energético de los espermatozoides porcinos y su repercusión en el diseño de diluyentes optimizados para la conservación de semen refrigerado. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España. 256 p.
- Muiño R. 2008. Evaluación de la motilidad vitalidad espermática del semen bovino mediante el uso de sistemas de casa y citometría de flujo: Identificación de subpoblaciones espermáticas. Tesis doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. Bellaterra, España. 156 p.
- Neill J. 2006. Knobil and neills physiology of reproduction. Third edition. Elsevier Academic Press Publication. ISBN-10: 0-12-515401-1. 3296 p.
- Nuñez A., Rubio A. 2015. Compensación de la calidad biológica del semen bovino poscongelado utilizando como crioprotector leche al 2% de grasa, Andromed y continental one step. Proyecto especial de graduación. Zamorano, Honduras. 18 p. *En línea.* Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/items/07aef2a8-c98c-4acf-9b9c-f9d222e21802>
- Olivera M., Ruiz T., Tarazona A., Giraldo C. 2006. El espermatozoide desde la eyaculación hasta la fertilización. Fisiología y Biotecnología de la Reproducción. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. 700 p.
- Quintero A., González D., Garde J., Milagros C., Fernández M., Carvalho J., Mejía W. 2009. Valoración morfométrica de la cabeza del espermatozoide del cerdo doméstico según su edad. Unidad de Investigación en Producción Animal (UNIPA), Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Zulia. Maracaibo-Venezuela. 19 (2): 430-437.
- Robayo L, Montenegro V, Valdés C, Cox J. 2008. CASA assessment of kinematic parameters of ram spermatozoa and their relationship to migration efficiency in ruminant cervical mucus. *Reprod. Domestic Anim.* 43: 393-399. *En línea.* Disponible en: doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.00920.x
- Santiani A. 2012. Uso de dos análogos de superóxido dismutasa para prevenir la desestabilización espermática prematura durante la crío preservación y vitrificación en espermatozoides de alpaca. Tesis doctoral Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Medicina Veterinaria Unidad de post-grado. Lima, Perú. 122 p.
- Senger P. 2003. Endocrinology of the male and spermatogenesis. p. 214-239. *In:* P. Senger. Pathways to pregnancy and parturition. Current conceptions. 2d. ed. Washington, USA.
- Silva V., Fassana F. 2017. Evaluación de semen en corderos, borregos y carneros Merino australiano a campo y en equipo computarizado de análisis de semen. Tesis doctoral. Universidad de la República Facultad de Veterinaria. Salto. Uruguay. 71 p.
- Srivastava N., Pande M. 2017. Protocols I semen biology (comparing assays). Springer Singapore. 228 p. *En línea* disponible en: <https://doi.org/10.1007/978-981-10-5200-2>
- Verstegen J., Iguer M., Onclin K. 2002. Computer assisted semen analyzers in andrology research and veterinary practice. *The riogenology* 57: 149-179. *En línea.* Disponible en; doi: 10.1016/S0093-691X(01)- 00664-1
- Wistuba J., Stukenborg J., Luetjens C. 2007. Mammalian spermatogenesis. Functional development and embryology 1(2): 99-117.