



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

“Estudio de la calidad espermática de muestras de la cola del epidídimo de cobayos y evaluación de tres diluyentes a base de leche descremada”

Trabajo de Titulación previo a la
obtención del título de Médico
Veterinario Zootecnista.

AUTOR:

José Antonio Paccha Chamba

DIRECTORA:

Dra. Elena Carolina Serrano Recalde PhD.

Loja – Ecuador

2023

Certificación

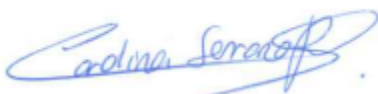
Loja, 23 de junio de 2023

Dra. Elena Carolina Serrano Recalde PhD.

DIRECRORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

C E R T I F I C O:

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Titulación denominado: **“Estudio de la calidad espermática de muestras de la cola del epidídimo de cobayos y evaluación de tres diluyentes a base de leche descremada”** de autoría del estudiante **José Antonio Paccha Chamba**, con cédula de identidad Nro.**1105814113** previo a la obtención del título de MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA. Una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Nacional de Loja, apruebo y autorizo su presentación para los trámites de titulación.



Dra. Elena Carolina Serrano Recalde. PhD.

DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Autoría

Yo, **José Antonio Paccha Chamba**, declaro ser autor del presente Trabajo de Titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido de la misma. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Titulación en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:



Cédula de Identidad: 1105814113

Fecha: 18 de julio del 2023

Correo electrónico: jose.a.paccha@unl.edu.ec

Celular: 0990806248

Carta de autorización por parte del autor, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Titulación.

Yo **José Antonio Paccha Chamba**, declaro ser autor del Trabajo de Titulación denominado: **“Estudio de la calidad espermática de muestras de la cola del epidídimo de cobayos y evaluación de tres diluyentes a base de leche descremada”** como requisito para optar el título de **Médico Veterinario Zootecnista**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del trabajo de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los dieciocho días del mes de julio del dos mil vientos.

Firma:

Autor: José Antonio Paccha Chamba

Cédula: 1105814113

Dirección: Loja, Ecuador

Correo electrónico: jose.a.paccha@unl.edu.ec

Celular: 0990806248

DATOS COMPLEMENTARIOS

Directora del Trabajo de Titulación: Dra. Elena Carolina Serrano Recalde PhD.

Dedicatoria

El presente Trabajo de Titulación lo dedico a Dios, a mi madre por ser el pilar que me brindo fortaleza para alcanzar esta meta, por todo su esfuerzo, sacrificio confianza y apoyo incondicional.

A mis hermanos por ser motivo de alegría y lucha con quienes hemos reído y llorado, acompañándome en los momentos más difíciles y enseñándome a ser mejor persona día tras día.

A mis familiares, amigos y maestros quienes de una u otra forma lograron motivarme para seguir avanzando con nuevos conocimientos tanto en lo personal como en lo profesional.

José Antonio Paccha Chamba

Agradecimientos

A mi madrecita querida Lucia Chamba por brindarme la oportunidad de seguir adelante con todo su esfuerzo realizado hacia mi persona, gracias por escucharme, comprenderme y acompañarme en este largo recorrido. **¡LA AMO!**

A todos mis hermanos en especial a mi hermano Holger Paccha por ser como un padre para nosotros siempre recibimos tu apoyo gracias por permitirnos ser como tú.

A mi novia Gaby por apoyarme incondicionalmente, por esa paciencia que siempre me has brindado y por ayudarme a seguir creciendo.

Un agradecimiento muy sincero a mi Directora de Trabajo de Titulación, **Dra. Elena Carolina Serrano**, quien supo brindarme la oportunidad de hacer posible esta investigación, por la paciencia, la orientación y sobre todo por impartirnos nuevos conocimientos que me ayudan a crecer como persona y como profesional.

A los docentes miembros del tribunal calificador, al Dr. Edgar Aguirre, Dra. Martha Reyes, Dr. Manuel Quezada, maestros y amigos quienes con sus sabios consejos permitieron el mejoramiento de la investigación.

Mis más sinceros agradecimientos a la **Universidad Nacional de Loja** en especial a la carrera de **Medicina Veterinaria y Zootecnia** y a toda su planta docente. Gracias por el apoyo, la educación y el aporte de conocimientos destinados a formar profesionales de excelencia.

José Antonio Paccha Chamba

Índice de contenidos

| | |
|---|------------|
| Portada | i |
| Certificación | ii |
| Autoría | iii |
| Carta de autorización | iv |
| Dedicatoria | v |
| Agradecimientos | vi |
| Índice de contenidos | vii |
| Índice de tablas | x |
| Índice de figuras | xi |
| Índice de anexos | xii |
| 1. Título | 1 |
| 2. Resumen | 2 |
| 2.1. Abstract | 3 |
| 3. Introducción | 4 |
| 4. Marco Teórico | 6 |
| 4.1. Generalidades reproductivas del cobayo | 6 |
| 4.1.1. Pubertad..... | 6 |
| 4.1.2. Edad de Empa..... | 6 |
| 4.1.3. Manejo de Machos..... | 6 |
| 4.2. Anatomía del aparato reproductor del cobayo macho | 6 |
| 4.2.1. Testículos..... | 7 |
| 4.2.2. Epidídimo..... | 7 |
| 4.2.3. Conducto Deferente..... | 7 |
| 4.2.4. Cordón Espermático..... | 8 |

| | |
|--|-----------|
| 4.2.5. Glándulas Vesiculares..... | 8 |
| 4.2.6. Próstata..... | 8 |
| 4.2.7. Glándulas Coaguladoras..... | 8 |
| 4.2.8. Glándulas Bulbouretrales..... | 9 |
| 4.2.9. Uretra..... | 9 |
| 4.2.10. Pene..... | 9 |
| 4.3.Morfología espermática del cuy..... | 9 |
| 4.3.1. Espermatozoides..... | 9 |
| 4.3.2. Morfología..... | 10 |
| 4.4.Nutrición..... | 11 |
| 4.4.1. Requerimientos Nutricionales del Cuy..... | 11 |
| 4.4.2. Proteína y Energía..... | 12 |
| 4.4.3. Fibra y Fibra Detergente Neutra (FDN)..... | 12 |
| 4.5.Alteraciones morfológicas del espermatozoide..... | 13 |
| 4.5.1. A nivel de la Cabeza..... | 13 |
| 4.5.2. A nivel de la Pieza de Conexión:..... | 14 |
| 4.5.3. A nivel de la Cola o Flagelo:..... | 14 |
| 4.6.Evaluación de la calidad seminal..... | 15 |
| 4.6.1. Evaluación Macroscópica del Semen..... | 15 |
| 4.6.2. Evaluación Microscópica del Semen..... | 16 |
| 4.7.Dilución espermática..... | 16 |
| 4.7.1. Requisitos de los Diluyentes..... | 17 |
| 4.7.2. Diluyentes a Base de Leche Descremada..... | 17 |
| 4.8.Degeneración testicular..... | 18 |
| 5. Metodología..... | 19 |
| 5.1.Área de estudio..... | 19 |
| 5.2.Procedimiento..... | 20 |
| 5.2.1. Enfoque Metodológico..... | 20 |
| 5.2.2. Diseño de la Investigación..... | 20 |

| | |
|--|-----------|
| 5.2.3. Tamaño de la muestra y tipo de muestreo..... | 22 |
| 5.2.4. Técnicas..... | 23 |
| 5.2.5. Variables de Estudio..... | 24 |
| 5.2.6. Procesamiento y análisis de la información..... | 25 |
| 5.2.7. Consideraciones éticas..... | 26 |
| 6. Resultados..... | 27 |
| 7. Discusión..... | 34 |
| 8. Conclusiones..... | 37 |
| 9. Recomendaciones..... | 38 |
| 10. Bibliografía..... | 39 |
| 11. Anexos..... | 46 |

Índice de tablas:

| | |
|---|-----------|
| Tabla 1. Necesidades nutricionales en gramos (g) de forraje y concentrado, según la edad. | 11 |
| Tabla 2. Requerimientos nutricionales en cuyes en diferente etapa fisiológica. | 11 |
| Tabla 3. Ingredientes y composición química de la dieta 1. | 20 |
| Tabla 4. Ingredientes y composición química de la dieta 2. | 21 |
| Tabla 5. Media \pm error estándar de concentración y morfología espermática de muestras extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 8 y >10 semanas de edad. | 27 |
| Tabla 6. Media \pm error estándar de la morfología espermática de muestras extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 8 y >10 semanas de edad. | 28 |
| Tabla 7. Media \pm error estándar de valores de espermiograma de muestras extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 12 semanas de edad con un peso promedio de 1199 kg, alimentados con dietas de diferente porcentaje de fibra detergente neutra FDN. | 28 |
| Tabla 8. Media \pm error estándar de valores de espermiograma de muestras extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 12 semanas de edad alimentados con dietas de diferente porcentaje de fibra detergente neutra FDN. | 29 |
| Tabla 9. Media \pm error estándar de medidas morfológicas de túbulos seminíferos (TS) de cortes histológicos de testículos de cuyes de 12 semanas de edad, con un peso de 1199 kg, alimentados con dietas de diferente porcentaje de FDN..... | 29 |
| Tabla 10. Media \pm desvío estándar de motilidad y vigor de células espermáticas extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 12 semanas de edad, usando 3 diluyentes a base de leche descremada evaluadas en diferentes tiempos 0 - 240 min. | 32 |

Índice de figuras:

| | |
|---|-----------|
| Figura 1. Espermatozoide normal del cuy (<i>Cavia porcellus</i>) C: cabeza; PI: pieza intermedia; T: cola..... | 9 |
| Figura 2. Alteraciones Morfológicas del Espermatozoide..... | 15 |
| Figura 3. Ubicación geográfica del Laboratorio Integral Veterinario, Centro de Biotecnología de la Reproducción y el Centro de Investigación, Desarrollo e Innovación en Nutrición Animal (CIDiNA). | 19 |
| Figura 4. Cortes histológicos de tejido testicular (tinción hematoxilina – eosina, aumento 40x) A: Medidas de túbulos seminíferos de cuyes alimentados con una dieta de 32% de FDN y 13% de almidón. B: Medidas de túbulos seminíferos de cuyes alimentados con una dieta de 40% de FDN y 2% de almidón..... | 31 |
| Figura 5. Media \pm desvío estándar de motilidad y vigor de las células espermáticas extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 12 semanas de edad, medidas en diferentes tiempos (0 a 240 min)..... | 31 |
| Figura 6. Media \pm desvío estándar de la motilidad y vigor de las células espermáticas, de cuyes de 12 semanas de edad, alimentados con dietas de diferente porcentaje de (FDN), usando 3 diluyentes a base de leche descremada..... | 33 |

Índice de anexos:

| | |
|---|-----------|
| Anexo 1. Media \pm error estándar de medidas (área, perímetro, luz, epitelio, diámetro y altura epitelial) de medidas de túbulos seminíferos, medidas en placas histológicas de cuyes machos de 12 semanas de edad, con un promedio de 1199 kg de peso, alimentados con dietas de diferente porcentaje de fibra detergente neutra (FDN)..... | 46 |
| Anexo 2. Media \pm error estándar, de medidas (área, perímetro, luz, epitelio, diámetro y altura epitelial) de túbulos seminíferos, medidas en placas histológicas de cuyes machos de 12 semanas de edad, con un promedio de 1199 kg de peso, de muestras extraídas de la cola del epidídimo, alimentados con dietas de diferente porcentaje de fibra detergente neutra (FDN)..... | 47 |
| Anexo 3. Media \pm desvío estándar de motilidad y vigor de las células espermáticas extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 12 semanas de edad, con 1199 kg de peso, alimentados con dietas de diferente % de FDN, usando 3 diluyentes a base de leche descremada. | 48 |
| Anexo 4. Media \pm desvío estándar de motilidad y vigor de las células espermáticas de muestras extraídas de la cola del epidídimo de cuyes alimentados con dietas de diferente % de fibra detergente neutra (FDN), medidas en diferentes tiempos (0 a 240min). | 49 |
| Anexo 5. Media \pm desvío estándar de motilidad y vigor de las células espermáticas de muestras extraídas de la cola del epidídimo, de cuyes de 12 semanas de edad, alimentados con dietas de diferente % de FDN, usando 3 diluyentes a base de leche descremada, medidas en diferentes tiempos (0 a 240 min)..... | 50 |
| Anexo 6. Experimento 1: disección del aparato reproductor del cobayo | 50 |
| Anexo 7. Experimento 1: Toma de muestras seminales de la cola del epidídimo a través de lavado retrogrado, para evaluación de su concentración y morfología espermática | 51 |
| Anexo 8. Experimento 2: Toma de muestras seminales de la cola del epidídimo a través de lavado retrogrado con el diluyente Botusemen® Gold sobre los tubos Eppendorf, para evaluar la concentración, morfología, motilidad y vigor de las celulas espermaticas en cuyes | 51 |
| Anexo 9. Experimento 2: Toma de muestra testicular y análisis histopatológico..... | 51 |
| Anexo 10. Experimento 2: Medidas histopatológicas de túbulos seminíferos en cuyes a través de la aplicación de Motic images Plus 2.0..... | 51 |
| Anexo 11. Experimento 3: Uso de diluyentes a base de leche descremada (BotuGold, BotuSemen y BotuSpecial)..... | 52 |

Anexo 12. Observación de muestras seminales a través del microscopio óptico (Labomed ®, labo América, inc, USA) con aumento de 100 X para la obtención de resultados de morfología espermática en cuyes. (a) Defecto de acrosoma, (b) Defecto de pieza intermedia fractura parcial, (c) Cola enrolladla, (d) Gota citoplasmática proximal ... **52**

Anexo 13. Observación de muestras seminales a través del microscopio óptico (Labomed ®, labo America, inc, USA) con aumento de 40 X de la cámara de recuento celular Neubäuer para la obtención de resultados de Concentración espermática..... **53**

Anexo14. Certificación de traducción en ingles.....**54**

1. Título

“Estudio de la calidad espermática de muestras de la cola del epidídimo de cobayos y evaluación de tres diluyentes a base de leche descremada”

2. Resumen

El cuy es una especie que requiere de estudios para mejorar su eficiencia reproductiva. El objetivo del presente trabajo fue determinar la calidad espermática en cuyes, verificar la influencia de la dieta y evaluar tres diluyentes a base de leche descremada. Se realizaron tres experimentos. En el experimento 1, se evaluó la concentración y morfología espermática de cuyes de 8 y mayores a 10 semanas de edad (n=35). En el experimento 2, se evaluó la influencia de dos dietas con 32 y 40% de fibra detergente neutra (FDN) sobre la calidad espermática y desarrollo del parénquima testicular en cuyes (n=20). En el experimento 3, se analizó la motilidad y vigor de células espermáticas de 0 a 240 minutos comparando 3 diluyentes a base de leche descremada. Se empleó estadística descriptiva, ANOVA y un análisis de medidas repetidas. Para comparar las medias se utilizó un t-test protegido. En el experimento 1, la edad influyó en la calidad espermática, cuyes de 8 semanas presentaron mayor ($p \leq 0,05$) porcentaje de defectos morfológicos. En el experimento 2, se encontró mayor porcentaje de defectos morfológicos espermáticos y mayor ($p \leq 0,05$) área y perímetro de la luz de los túbulos seminíferos en cuyes alimentados con 32% de FDN. En el experimento 3, se observó que la motilidad y el vigor decaen a lo largo del tiempo ($p < 0,001$), pero no hubo efecto del diluyente ($p=0,20$). Sin embargo, al utilizar BotuGold® en muestras de cuyes alimentados con 32% FDN ($p=0,01$) presentaron mayor motilidad y vigor de las células espermáticas. En conclusión, la calidad espermática del cuy es influenciada por la edad y el peso, los niveles de fibra no afectaron la calidad espermática. Sin embargo, el alto porcentaje de almidón influyó negativamente en la morfología espermática y desarrollo del epitelio testicular. El diluyente BotuGold® mejora la motilidad y vigor en muestras seminales de baja calidad espermática.

Palabras clave: *Espermiograma, cuy, tubo seminífero, Botugold, FDN.*

2.1. Abstract

The guinea pig is a species that requires studies to improve its reproductive efficiency. The aim of the present study was to determine sperm quality in guinea pigs, verify the influence of diet and evaluate three skim milk-based extenders. We carried out three experiments. In experiment 1, we evaluated sperm concentration and morphology in guinea pigs of eight and older than ten weeks of age (n=35). In experiment 2, the influence of two diets with 32 and 40% neutral detergent fiber (NDF) was evaluated over sperm quality and testicular parenchyma development in guinea pigs (n=20). In experiment 3, we analyzed sperm cell motility and vigor from 0 to 240 minutes, comparing three skim milk-based extenders. Descriptive statistics, ANOVA, and repeated measures analysis were used. Also a protected t-test to compare means was used. In experiment 1, age influenced sperm quality, 8-week-old guinea pigs presented a higher ($p \leq 0.05$) percentage of morphological defects. In experiment 2, we found higher percentage of sperm cells with morphological defects, and higher ($p \leq 0.05$) seminiferous tubule lumen area and perimeter in guinea pigs fed with 32% NDF. In experiment 3, motility and vigor reduced over time ($p < 0.001$), but there was no effect of extender ($p = 0.20$). However, when we used BotuGold® in samples of guinea pigs fed with 32% NDF ($p = 0.01$), they presented higher sperm cell motility and vigor. In conclusion, age and weight affect guinea pig sperm quality, fiber levels did not affect sperm quality. However, high percentage of starch negatively influenced sperm morphology and testicular epithelium development. BotuGold® extender improves motility and vigor in seminal samples of low sperm quality.

Keywords: *Spermogram, guinea pig, seminiferous tubule, Botugold, NDF*

3. Introducción

El cuy es una especie de producción de alto nivel nutricional, en la cual se requieren más estudios para incrementar la eficiencia reproductiva y establecer mejoras genéticas (Chauca, 1997; Benavides et al., 2020). La nutrición también juega un papel importante en cuanto al desempeño del animal, aquellos que alcanzan un peso y edad adecuada son seleccionados para el empadre, lo que se traduce en un rendimiento con mejores índices productivos (Vivas & Carballo, 2013).

La morfología espermática es un parámetro fundamental para la evaluación de las características seminales. Existen anomalías primarias y secundarias que permiten determinar la calidad espermática, funcionalidad testicular, epidídimos y glándulas accesorias de un reproductor (Ibañez, F, et al. 2016). Mediante un estudio histopatológico se puede evaluar los túbulos seminíferos en donde se revelan varias alteraciones como inflamación, fibrosis o atrofia testicular con vacuolización del citoplasma, y degeneración celular (Cunha et., al 2019).

Los diluyentes de semen, sustancias que aumentan el volumen del eyaculado y proporcionan un medio óptimo para la sobrevivencia de los espermatozoides con la finalidad de que estos sean viables para una fecundación, tienen la capacidad de nutrir, amortiguar, y proteger las células espermáticas (Carpio, 2015). La caseína evita la pérdida del colesterol y de los fosfolípidos manteniendo así la motilidad y viabilidad de los espermatozoides durante su almacenamiento (Bergeron et al., 2007).

Por tal motivo, el propósito de este estudio fue: Determinar la calidad espermática de muestras obtenidas de la cola del epidídimo de cobayos (*Cavia porcellus*) y evaluar tres diluyentes a base de leche descremada. Los objetivos específicos fueron:

- Observar la calidad espermática del material colectado de la cola del epidídimo del cuy (*Cavia porcellus*).
- Determinar si la nutrición influye en la calidad espermática del material colectado de la cola del epidídimo del cuy (*Cavia porcellus*).
- Evaluar histológicamente si la nutrición influye en el desarrollo del parénquima testicular del cuy (*Cavia porcellus*).

- Establecer cual diluyente a base de leche descremada preserva una mayor viabilidad y tiempo de sobrevivencia de los espermatozoides de la cola del epidídimo del cuy (*Cavia porcellus*).

4. Marco Teórico

4.1.Generalidades reproductivas del cobayo

4.1.1. Pubertad

Se refiere a la edad o época del año en la que un conejillo de Indias puede reproducirse. La pubertad es de 25 a 40 días en las hembras y de 40 a 70 días en los machos (Barrera, 2010). Sin embargo, alcanzan su madurez sexual a las 8 semanas en las hembras y en los machos a las 12 semanas, no se recomienda el empadre a esta edad, debido a que aún no poseen una capacidad fecundante (Pinduisaca, 2018; Solís Campaña 2014 & Chávez Viteri, 2015). La edad óptima para realizar el empadre es a los 3 meses en hembras y a los 4 meses en machos, edad donde ya han alcanzado un peso adecuado (Tapia Pesántez & Tello Larriva, 2016).

4.1.2. Edad de Empadre

La edad de apareamiento tiene relación con el peso del cuy y con el índice de mejoramiento, en hembras se de 759 g de peso y una media de 2 1/2 meses, y en machos de 900 g a los 3 meses de edad. A diferencia de los cuyes criollos, que se registran a los 5 meses. (Vergara, 2008).

4.1.3. Manejo de Machos

Los machos alcanzan la madurez sexual a la edad de seis meses y su peso mínimo debe estar entre 800 y 1000 gramos. Los machos demasiado jóvenes o con bajo peso tienen baja fertilidad. Estos se descartan a los 2 años de edad o cuando su fertilidad es baja (Castro, 2002).

4.2.Anatomía del aparato reproductor del cobayo macho

El sistema reproductor masculino incluye: testículos, epidídimo, conductos deferentes, próstata, glándulas bulbo-uretrales de Cowper, glándulas coaguladoras, vesículas seminales, el pene y uretra masculina (Rosales, 2021).

4.2.1. Testículos

Estos son órganos ovoideos de 22 mm de largo por 18 de ancho, poseen una localización intraabdominal cerca de la vejiga careciendo de escroto, permaneciendo en las bolsas inguinales (Harkness et al., 2002). Al momento del apareamiento cuando el macho es excitado los testículos descienden hasta el área de la ingle regresando a su región abdominal (Quillahuaman, 2015).

Hay tres secciones en los testículos, la primera o extratubárica (túnica albugínea) contiene células de Leydig productoras de testosterona, la segunda sección peritubular que consta de células mioides, fibroblastos y fibras de colágeno que en conjunto con la parte intratubárica forman el líquido sanguíneo testicular. Finalmente, está la parte intratubular (túbulos seminíferos), que contiene células de Sertoli que brindan nutrientes y soporte estructural a las respectivas células durante la espermatogénesis (Aliaga et al., 2009).

Luego se encuentra la red testes o mediastino del que salen los conductos eferentes que avanza hasta la cabeza del epidídimo.

4.2.2. Epidídimo

El epidídimo es un tubo largo y flexible que se adhiere al borde de la entrada del testículo, este se divide en cabeza, cuerpo y cola, la cabeza se comunica con los conductos eferentes y la cola continúa con el conducto deferente. El epidídimo juega un papel fundamental entre sus principales funciones transporte, maduración y almacenamiento de los espermatozoides (Trujillo, 1994).

Su volumen de almacenamiento contiene 15-20 espermatozoides en cabeza y cuerpo y 80-85% en la cola (Vicente y Viudes, 2000).

4.2.3. Conducto Deferente

Los conductos deferentes continúan el canal del epidídimo como un tubo enrollado paralelo al cuerpo del epidídimo que desemboca en la uretra, en un gran arco situado caudalmente con respecto al esfínter vesical (Lavara et al., 2001).

Los vasos sanguíneos son tubos musculares que transportan los espermatozoides desde el epidídimo hasta la uretra prostática en el momento de la eyaculación. También son un poco más

gruesos que las partes terminales, estos miden unos 4 cm de largo. Esta estructura está involucrada en el almacenamiento de esperma para la eyaculación (Calamera, 1977).

4.2.4. *Cordón Espermático*

Es aquella que se encuentra por encima de los testículos conteniendo varios elementos, incluidas las fibras y los músculos lisos del plexo pampiniforme, que se expande para distribuir el calor, la arteria y la vena testicular, el nervio, el conducto linfático y conducto deferente. (Almeda, 2001).

4.2.5. *Glándulas Vesiculares*

Los conejillos de indias tienen vesículas seminales que proporcionan la parte líquida del semen. Son alargadas, de 12 cm de largo y 0,6 cm de diámetro (Quillahuaman, 2015). Hay cuatro fracciones en las vesículas seminales, una es soluble, la otra es muy básica y probablemente representa la proteína de coagulación del esperma de cobayo. El resto no son coagulantes, se detectan en el suero y probablemente se encuentren dentro del epitelio de las vesículas seminales (Alba, 1990).

Estas vesículas contienen prostaglandinas, especialmente las series E y F, que son importantes para la fertilidad. La mayor parte del contenido líquido de los espermatozoides se obtiene de las vesículas seminales y se vuelve relativamente grande en el cobayo (Holting, 1995).

4.2.6. *Próstata*

El conejillo de indias posee una forma tubular ubicada caudalmente, está dividido por lóbulos y compuesto por túbulos contorneados (Matamoros, 1981). La función de la próstata es contribuir con fluidos e iones inorgánicos a los espermatozoides. La secreción prostática contiene ácidos, proteínas, lípidos y hexosas fosfatasa (Aliaga et al., 2009).

4.2.7. *Glándulas Coaguladoras*

Las glándulas accesorias también incluyen las glándulas de coagulación, estas producen secreciones que permiten que las sustancias secretadas por las vesículas seminales se coagulen, dando como resultado una formación de tampón vaginal después de la cubrición, mismo que permite que el semen no regrese. Tienen glándulas sebáceas por encima del ano, que utilizan para atraer a las hembras y marcar territorio (Gonzalo, 2012).

4.2.8. *Glándulas Bulbouretrales*

Son de forma redondeada con 8 mm de largo y 5 mm de ancho. Permiten que una sustancia mucilaginosa lave la uretra de los residuos de orina (Gonzalo 2012).

Posee una secreción de glándulas bulbo uretrales, de naturaleza muy viscosa vítreo albuminoidea secretada en la uretra en la eyaculación.

4.2.9. *Uretra*

La uretra del cobayo tiene dos funciones elementales: la primera es eliminar la orina del aparato excretor y la segunda excretar el esperma del sistema reproductor (Aliaga et al., 2009).

4.2.10. *Pene*

Es un órgano copulador de 45 mm de largo y 5 mm de diámetro con hueso y glande. El glande en forma de cono truncado tiene una abertura llamada abertura u orificio uretral (Quillahuaman, 2015). Tiene doble función: expulsar la orina y depositar el semen eyaculado dentro del aparato genital de la hembra. Anatómicamente se divide en tres partes: el glande o extremo libre del pene, el cuerpo intermedio y la raíz, la cual se localiza en la región del músculo bulbocavernoso, en el arco isquiático de la pelvis (Almeda, 2001).

4.3. Morfología espermática del cuy

4.3.1. *Espermatozoides*

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).

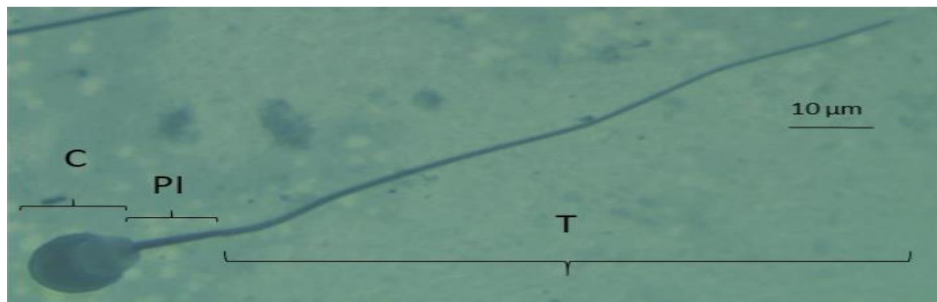


Figura 1. *Espermatozoide normal del cuy (Cavia porcellus) C: cabeza; PI: pieza intermedia; T: cola*

Fuente: (Cabeza et al., 2020)

4.3.2. Morfología

El esperma se origina en los túbulos seminíferos de los testículos. Estos túbulos contienen una serie compleja de gametos en desarrollo que forman los gametos masculinos.

- **Cabeza**

La cabeza del espermatozoide del cobayo se puede apreciar la cromatina muy compacta y homogénea que es equivalente a la mitad de lo que contiene una célula somática. Tiene vacuolas nucleares, que son cavidades dispersas en el material nuclear. La membrana nuclear está fuertemente unida al ADN y tiene poros sólo en las regiones laterales, detrás del acrosoma. Se encuentra en la parte membranosa anterior del núcleo, también contiene material acrosómico cubre dos tercios de la parte anterior y el otro ecuatorial (Alba, 1990).

- **Pieza intermedia**

Es aquella región que se implanta al flagelo procedente del centriolo distal. El centriolo proximal está orientado oblicuamente al eje caudal. El rango está relacionado con la envoltura mitocondrial, se dice que hay aproximadamente 80-85 mitocondrias por espermatozoide (Alba, 1990).

- **Cola**

Está ubicada entre el cuello y el anillo, es la pieza media y el núcleo central de este cuerpo medio forma el axonema en toda su longitud. Consta de nueve pares de microtúbulos dispuestos radialmente alrededor de dos filamentos centrales. El axonema de la pieza intermedia y las fibras densas asociadas consisten en muchas mitocondrias. Este centro está rodeado por un manto fibroso resistente. La vaina cilíndrica presenta dos engrosamientos longitudinales prominentes o columnas que corren a lo largo de lo que se piensa que son superficies dorsal y ventral de la pieza principal.

La última parte de la cola contiene solo un axonema central cubierto por una membrana citoplasmática (Hafez, 1989). En resumen, como lo menciona (Loor 2015, citado en Fertygen, 2013), la cola proporciona movilidad a la célula para que pueda desplazarse y llegar al óvulo para fecundarlo

4.4. Nutrición

El cuy es un herbívoro monogástrico que posee un estómago donde realiza la digestión enzimática y un ciego funcional en donde se produce la fermentación bacteriana. Por su anatomía es considerado como fermentador post gástrico por los microorganismos presentes en el ciego (Chauca, 1997).

4.4.1. *Requerimientos Nutricionales del Cuy*

La nutrición, al ser una base fundamental en toda explotación pecuaria, se requieren nutrientes de acuerdo a su esta productiva y reproductiva el cual nos permitirá mejorar su crianza, aprovechando su precocidad, prolificidad y habilidad reproductiva (Chauca, 1997). El aporte de nutrientes es de tres tipos: forraje, forraje más concentrado y concentrado más agua y vitamina C (Castro, 2002).

Tabla 1.

Necesidades nutricionales en gramos (g) de forraje y concentrado, según la edad

| Edad | Forraje (g) | Concentrado (g) |
|-------------|---|-----------------|
| Lactante | 100 a 120 | 10 |
| Destetado | 200 a 300 | 20 |
| Crecimiento | 80 a 100 (cuarta semana) 120 a 160 (octava semana) | 30 |
| Adulto | 300 a 400 (doceava semana) | 30 |

Fuente: (NRC, Mineral Tolerance of Animals, 1978).

Los nutrientes que necesitan los cobayos son: agua, proteína (aminoácidos), fibra, energía, ácidos grasos esenciales, minerales y vitaminas, esto dependerá de las distintas etapas que se

Tabla 2.

Requerimientos nutricionales en cuyes en diferente etapa fisiológica.

| Nutrientes | Unidad | Etapa de vida | | | |
|------------|---------|---------------|-----------|-------------|---------|
| | | Gestación | Lactancia | Crecimiento | Engorde |
| Proteína | % | 18 | 18-22 | 13-17 | 15-17 |
| Energía | Kcal/kg | 2800 | 3000 | 2800 | 2800 |
| Fibra | % | 8-17 | 8-17 | 10 | 4-8 |

| | | | | | |
|------------|----|---------|---------|---------|---------|
| Calcio | % | 1,4 | 1,4 | 0,8-1,0 | 0,8-1,0 |
| Fósforo | % | 0,8 | 0,8 | 0,4-0,7 | 0,4-0,7 |
| Magnesio | % | 0,1-0,3 | 0,1-0,3 | 0,1-0,3 | 0,1-0,3 |
| Potasio | % | 0,5-1,4 | 0,5-1,4 | 0,5-1,4 | 0,5-1,4 |
| Vitamina C | mg | 200 | 200 | 200 | 200 |

Fuente: Nutrient requirements of laboratory animals 1990. Universidad de Nariño, Pasto (Colombia). citado por Caycedo, 1992.

4.4.2. Proteína y Energía

La proteína es un componente esencial para la formación de los tejidos, pelos y vísceras, dependiendo de la calidad más que de la cantidad consumida. Entre los alimentos que proveen proteína están las leguminosas y las que brindan una buena fuente de energía están las gramíneas (Vivas & Carballo, 2013). La ingesta inadecuada de proteínas da como resultado un menor peso al nacer, un crecimiento deficiente, una baja producción de leche, una baja fertilidad y una menor utilización de nutrientes (Chauca, 1997). La energía que proveen al animal proviene de los carbohidratos y lípidos, utilizada para el mantenimiento, crecimiento, producción y reproducción del animal, por ende, un suministro suficiente de energía es considerado uno de los factores del éxito reproductivo (Rico, 2003). Un nivel de 3000 kcal/kg de dieta da como resultado una buena ganancia de peso y eficiencia alimentaria NRC (1978).

4.4.3. Fibra y Fibra Detergente Neutra (FDN)

La fibra es un nutriente importante ya que favorece la digestibilidad de otros nutrientes, este retarda el paso de los alimentos a través del tubo digestivo (Aliaga et al., 2009). El porcentaje óptimo para la alimentación balanceada en cuyes debe ser no menor al 18% de fibra (Chauca, 1997).

La FDN contiene todos los componentes de la pared celular (celulosa, hemicelulosa, lignina y sílice), mientras el forraje madura aumenta su contenido de FDN lo que determina una tasa más lenta en digestión y mayor tiempo de tránsito gastrointestinal. A mayor FDN menos consumo voluntario. La importancia de la FDN es que contiene carbohidratos estructurales solubles que son aprovechables por el cuy, por otro lado, la FDA (fibra detergente ácida) contiene

carbohidratos no utilizables para el animal. Los requerimientos de FDN están entre 19 a 25 % (Jave, Z., 2014).

4.5.Alteraciones morfológicas del espermatozoide

Las alteraciones morfológicas pueden ser primarias si ocurre durante la espermatogénesis; secundaria se produce después de que el esperma sale del testículo y la terciaria es causada por el método de evaluación o almacenamiento de los espermatozoides (Torretta et al., 2010).

La mayor parte de los defectos de cola también se consideran anomalías primarias, incluidos los defectos de pieza intermedia, la presencia de una gota citoplasmática proximal, colas enrolladas y colas accesorias (Barrios, 2002).

Las alteraciones secundarias de los espermatozoides se originan en el epidídimo, que incluyen: cabeza ancha, cabeza normal libre, membrana acrosoma separada y plegada, implantación axial de la cola, colas caídas citoplasmáticas distales con colas curvas suaves que están retorcidas en la punta.

Las anomalías secundarias de los espermatozoides se originan en el epidídimo, que incluyen: cabeza ancha, cabeza normal, membrana acrosomal separada y plegada, implantación axial de la cola, colas caídas citoplasmáticas distales con colas curvas suaves que están retorcidas en la punta. La presencia de células epiteliales, eritrocitos, formación de medusas y células precursoras de espermatozoides en la muestra de semen también se consideran anomalías secundarias (Barrios, 2002).

4.5.1. A nivel de la Cabeza

Alteraciones numéricas:

- a) **Espermatozoides acefálicos, anucleados, en cabeza de alfiler o decapitados:** son aquellos espermatozoides acéfalos por lo cual no tienen material genético.
- b) **Espermatozoides bicéfalos:** presenta dos cabezas y un solo flagelo, la pieza intermedia presenta un aspecto grueso.

Alteraciones en la forma:

- a) **Espermatozoides con cabezas alargadas o estrechos:** La cabeza de los espermatozoides es elipsoide, el eje longitudinal (2 a 3 μm).
- b) **Espermatozoides con cabezas redondas:** A diferencia del caso anterior, aquí ambos ejes longitudinales (5-6 μm) domina al eje transversal (2-3 μm).

4.5.2. A nivel de la Pieza de Conexión:

- a) **Espermatozoides con implantación axial anómala del flagelo:** En estos casos observamos una estrangulación a nivel de la pieza intermedia, que se une a la fosa de implantación formando un ángulo de 45-90°.

4.5.3. A nivel de la Cola o Flagelo:

Alteraciones numéricas:

- a) **Espermatozoides sin flagelo:** Se observan cabezas de espermatozoides con ausencia total de cola.
- b) **Espermatozoides con flagelos múltiples:** Se encuentran espermatozoides con dos o más flagelos (Gómez et al., 2005).

Alteraciones en la forma, a nivel de la pieza intermedias:

- a) **Espermatozoides con pieza intermedia marcadamente engrosada:** En ocasiones se observan espermatozoides cuya pieza intermedia puede incluso superar el tamaño cefálico.
- b) **Espermatozoides con persistencia de gota citoplasmática:** Este es un tipo de anomalía difícil de diagnosticar debido a que se pueden confundir con piezas intermedias engrosadas.

Alteraciones de la forma a nivel del resto del flagelo:

- a) **Espermatozoides con enrollamiento total de la cola:** Cuando se observan “in vitro” presentan problemas de motilidad.
- b) **Espermatozoides con enrollamiento parcial de la cola:** Se observa que el enrollamiento de la cola afecta la misma.
- c) **Espermatozoides con flagelos truncados:** estos tienen en la parte principal angulaciones de diferentes grados (Gómez et al., 2005).

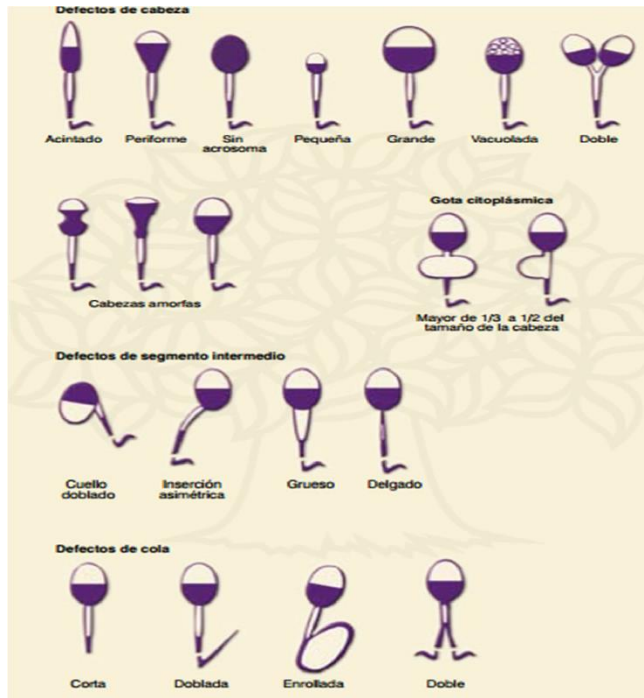


Figura 2. Alteraciones Morfológicas del Espermatozoide

Fuente: (Montoya, 2009)

4.6.Evaluación de la calidad seminal

4.6.1. Evaluación Macroscópica del Semen

- **Color**

El color del esperma del conejillo de indias es blanco cremoso (Loor, 2015), mientras que para (Mise 2014) las características macroscópicas en la coloración seminal es un típico blanco lechoso.

- **Volumen**

En este parámetro el volumen de colecta es de 0,20 ml y el máximo 0.70 ml extraído mediante la técnica de electroeyaculación (Aragón, 2019). El método de colecta seminal, también se ve influenciada la experticia de quien lo realiza y el estado del animal (Mise 2014).

- **PH**

El pH varía de 7 a 8, con un promedio de 7,3 acumulándose en el epidídimo (Loor, 2015). Por otro lado, el promedio de pH del semen colectado por el método de electroeyaculación es 7,05 teniendo como pH máximo de 7.50 y pH mínimo de 6.50 (Cabeza, 2020).

4.6.2. Evaluación Microscópica del Semen

- **Motilidad individual**

La observación y evaluación de las células con movimiento progresivo brinda información valiosa sobre la integridad de la membrana celular de los espermatozoides, y su integridad morfológica. Los espermatozoides que giran o se mueven con un movimiento oscilatorio consideran que tienen movimientos anormales (Gómez et al., 2005).

Se dice que la motilidad total colectado por el método de electroeyaculación es de 69.40% siendo este similar al reporte de (Aragón 2019) que obtuvo 72.15 % colectado por el método de electroeyaculación.

- **Morfología**

El espermatozoide del cuy presenta una cabeza ovalada con el extremo distal plano y se visualiza claramente su acrosoma. Se observan muchas anomalías como cabezas sin acrosoma, por la falta de madurez en la espermatogénesis (Llor, 2015). Estos espermatozoides suelen agruparse en paquetes de 5 a 7, acoplados cabeza con cabeza debido a que la membrana del acrosoma es muy delgada (Caycedo, 2000).

- **Concentración**

El análisis de concentración espermática se lo realiza por medio del conteo de la cámara de Neubauer, donde se toman 5 µl de la muestra espermática a esta muestra se la mezcla con 990 µl de agua destilada, luego se la homogeniza por cinco segundos, y finalmente se coloca en la cámara de Neubauer para su análisis. El recuento espermático se realiza con un microscopio de 400x. Todos los espermatozoides observables presentes dentro del cuadro central de la cámara de Neubauer se los cuenta, y el valor total obtenido se multiplica por 5 por 10 por 100 y por 10000 y por el factor de dilución 20. De esta forma se obtiene la concentración espermática por ml (Palma, 2001).

4.7. Dilución espermática

La dilución es un proceso mediante el cual los espermatozoides intentan mantener unas condiciones fisiológicas óptimas el mayor tiempo posible con la ayuda de sustancias que favorecen su correcto metabolismo. Este proceso también permite diluir o ampliar la cantidad de medio en

el que se diluyen los espermatozoides, lo que permite una correcta manipulación de la concentración espermática y facilita mayores dosis de espermatozoides por eyaculación. Los compuestos que facilitan este proceso se denominan diluyentes o “potenciadores” (Kandelousi et al., 2013).

Los diluyentes deben tener elementos básicos, una sustancia iónica y no iónica para poder sostener la osmolaridad, lipoproteínas de alto peso molecular protegiendo así los espermatozoides del shock térmico, crioprotectores, antioxidantes y antibióticos (Condoy & Cevallos, 2017). Los diluyentes deben cumplir ciertos requerimientos como el suministro de nutrientes para el metabolismo adecuado de los espermatozoides, la protección de durante el proceso de enfriamiento, la prevención en los cambios de pH durante la formación de ácido láctico, así mismo mantener la presión osmótica y el balance de electrolítico, la prevención de la colonización bacteriana y la viabilidad de los espermatozoides cuando se necesitan (Kandelousi et al., 2013).

4.7.1. *Requisitos de los Diluyentes*

- Amortiguadores como citrato de sodio, amortiguador orgánico Tris (hidroximetil aminometano).
- Yema de huevo o leche los cuales contienen macromoléculas que protegen la vida del espermatozoide contra variaciones de temperatura, interviene en la motilidad y la fertilidad espermática.
- Fuentes de energía necesarias para la motilidad como fructosa, glucosa para preservar las reservas intracelulares.
- Crioprotector intracelular que reduce la formación de cristales y solutos que se producen durante la congelación como glicerol, DMSO (dimetil sulfoxido) y etilenglicol.
- Para inhibir la proliferación de agentes microbianos se utilizan antibióticos como tilosina, gentamicina, penicilina, dihidroestreptomocina (Lucero, 2009).

4.7.2. *Diluyentes a Base de Leche Descremada*

A continuación, se dará a conocer los diferentes diluyentes a base de leche descremada que ayuda a mejorar la calidad espermática. Botupharma USA (2008), menciona los siguientes:

- **Botusemen®:** diluyente a base de leche descremada que se utiliza para diluir el eyaculado y permite el transporte refrigerado de los espermatozoides hasta el momento de la inseminación. Está compuesto por: leche desnatada en polvo esterilizada UHT, azúcares, aminoácidos, antioxidantes y excipientes.
- **Botusemen® Special:** diluyente a base de leche descremada, desarrollado para proteger los espermatozoides de las bajas temperaturas cuando ocurre un shock térmico. Su composición se basa en la adición de lípidos esenciales para mantener la estabilidad de la membrana plasmática de los espermatozoides durante el proceso enfriamiento, además posee: leche desnatada en polvo esterilizada UHT, azúcares, aminoácidos, antioxidantes, colesterol y excipientes.
- **Botusemen® Gold:** diluyente a base de leche descremada con caseína, que en altas concentraciones contribuye a retrasar el proceso de capacitación espermática mejorando las tasas de preñez, además posee azúcares, aminoácidos, antioxidantes, colesterol y excipientes.

4.8. Degeneración testicular

La degeneración testicular se puede decir que es el deterioro de la estructura tubular que resulta en disminución de su funcionalidad. En ciertas ocasiones la degeneración testicular ocurre de forma aguda secundaria a una lesión conocida como por ejemplo el trauma testicular, exposición al calor, frío, radiación, toxinas o isquemia, ciertas deficiencias nutricionales, administración de andrógenos exógenos, infecciones, enfermedades, trastornos autoinmunes, obstrucciones del flujo de espermatozoides y tumores pueden resultar en degeneración testicular (Turner 2007).

A nivel histológico se observa una disminución de la espermatogénesis en los túbulos seminíferos por la muerte de las células de tipo germinativo. Las espermatogonias presentan citoplasmas vacuolados y núcleo picnótico (condensación irreversible de la cromatina) los espermatozoides se degeneran y aparecen como células gigantes multinucleadas resultantes de la fusión de varias células. Las espermátidas se degeneran y aparecen células gigantes multinucleadas resultantes de la fusión de varias espermátidas (Santos et al., 1989)

5. Metodología

5.1. Área de estudio

El presente trabajo de investigación el experimento uno, se realizó en el Laboratorio de Diagnóstico Integral Veterinario de la Universidad Nacional de Loja, de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, en la parte sur de la ciudad de Loja en las coordenadas 4°02'08.9"S 79°12'11.3"W. Además, cuenta con una temperatura mínima de 15,9° y una temperatura máxima de 22,6 °C, una precipitación media anual de 906,9 mm y humedad relativa mensual de 74,5%.

Para el experimento dos y tres, se llevó a cabo en el Centro de Biotecnología de la Reproducción y el Centro de Investigación, Desarrollo e Innovación en Nutrición Animal (CIDiNA) pertenecientes a la Quinta Experimental Punzara de la Universidad Nacional de Loja, a una altitud de 2 135 msnm, sus coordenadas son: Longitud 79° 12' 40'' a 79° 12' 59'' O, Latitud 04° 02' 47'' a 04° 02' 32'' S. Presenta una temperatura mínima de 15,9 °C y una temperatura máxima de 22,6 °C, la humedad mensual es de 74,5 %.



Figura 3. Ubicación geográfica del Laboratorio Integral Veterinario, Centro de Biotecnología de la Reproducción y el Centro de Investigación, Desarrollo e Innovación en Nutrición Animal (CIDiNA)

Fuente: Google

5.2.Procedimiento

5.2.1. *Enfoque Metodológico*

Se desarrollaron tres experimentos con enfoque cuantitativo.

5.2.2. *Diseño de la Investigación*

5.2.2.1. Experimento 1.

Se trató de un estudio de tipo observacional, en el que se adquirieron cobayos machos con pesos y edades variables, utilizando un muestreo no probabilístico por conveniencia. El experimento consistió en evaluar la calidad espermática de cada unidad experimental post mortem, centrándose en las variables dependientes: concentración espermática y morfología espermática en gota húmeda.

5.2.2.2. Experimento 2.

El estudio fue de tipo experimental utilizando un diseño completamente aleatorizado (DCA). Se evaluaron 2 dietas con diferente porcentaje de fibra detergente neutra (FDN), sobre la calidad espermática. Las dietas fueron formuladas y elaboradas por el Centro de Investigación, Desarrollo e Innovación en Nutrición Animal (CIDiNA/CUYES) en donde:

- **Dieta 1:** Consistió en una alimentación a base de Maralfalfa (*Penisetum spp*). Esta dieta tuvo un nivel de energía digestible de 2800 kcal, proteína del 15%, fibra detergente neutra del 32% y un contenido de almidón del 13%.

Tabla 3.

Ingredientes y composición química de la dieta 1

| Ítem | Nivel de inclusión de Maralfalfa | |
|--|----------------------------------|-------|
| | 2% | |
| <i>Ingredientes, % en base fresca del pienso</i> | | |
| Afrecho de trigo | | 37,9 |
| Trigo | | 12,2 |
| Paja de arroz | | 19,9 |
| Maralfalfa | | 1,74 |
| Harina de soja | | 13,7 |
| Aceite de palma | | 6,66 |
| Melaza de caña | | 3,98 |
| Sal | | 0,398 |
| L-Lisina-HCL | | 0,318 |
| DL-Metionina | | 0,131 |
| Treonina | | 0,217 |

| | |
|--|-------|
| Bicarbonato de sodio | 0,136 |
| Premezcla vitamínica-mineral ¹ | 0,199 |
| Vitamina C | 0,040 |
| Carbonato de calcio | 2,030 |
| Fosfato mono cálcico | - |
| Celmanax ² | 0,100 |
| Bentonita | 0,398 |
| <i>Composición química estimada (% en tal como ofrecido)</i> | |
| Energía digestible, kcal/kg | 2800 |
| FND | 32,0 |
| Almidón | 13,0 |
| Lisina | 0,800 |
| Metionina | 0,300 |
| Treonina | 0,600 |
| Calcio | 1,00 |
| Fósforo total | 0,500 |
| Na | 0,200 |
| K | 0,500 |
| Cl | 1,00 |

Fuente: Ganazhapa (2023).

Tabla 4.

Ingredientes y composición química de la dieta 2.

- **Dieta 2:** Consistió en una alimentación a base de Maralfalfa (*Penisetum spp*). Esta dieta tuvo un nivel de energía digestible de 2800 kcal, proteína del 15%, fibra detergente neutra del 40% y un contenido de almidón del 2%.

| Ítem | Nivel de inclusión de Maralfalfa |
|--|----------------------------------|
| | 31% |
| <i>Ingredientes, % en base fresca del pienso</i> | |
| Afrecho de trigo | 12,6 |
| Trigo | - |
| Paja de arroz | 19,9 |
| Maralfalfa | 31,4 |
| Harina de soja | 22,2 |
| Aceite de palma | 6,66 |
| Melaza de caña | 3,982 |
| Sal | 0,398 |
| L-Lisina-HCL | 0,211 |
| DL-Metionina | 0,141 |
| Treonina | 0,204 |
| Bicarbonato de sodio | - |
| Premezcla vitamínica-mineral ¹ | 0,199 |
| Vitamina C | 0,040 |
| Carbonato de calcio | 1,12 |
| Fosfato mono cálcico | 0,429 |

| | |
|--|-------|
| Celmanax2 | 0,100 |
| Bentonita | 0,398 |
| <i>Composición química estimada (% en tal como ofrecido)</i> | |
| Energía digestible, kcal/kg | 2800 |
| FND | 40,0 |
| Almidón | 2,00 |
| Lisina | 0,800 |
| Metionina | 0,300 |
| Treonina | 0,600 |
| Calcio | 0,800 |
| Fósforo total | 0,400 |
| Na | 0,200 |
| K | 0,600 |
| Cl | 1,00 |

Fuente: Ganazhapa (2023).

5.2.2.3. Experimento 3.

Este estudio fue de tipo experimental, utilizando un diseño completamente aleatorizado. El objetivo fue evaluar la motilidad y el vigor de las células espermáticas, utilizando tres tipos de diluyentes a base de leche descremada (BotuGold ®, BotuSemen ®, BotuSpecial ®). Se establecieron dos grupos experimentales que correspondían a las 2 dietas con diferentes porcentajes de fibra detergente neutra (FDN), distribuidas en un arreglo factorial 3x2. La evaluación de la motilidad y el vigor se realizó en diferentes momentos a los 0, 30, 60, 120, 180, 240 minutos.

5.2.3. Tamaño de la muestra y tipo de muestreo

5.2.3.1. Experimento 1.

En este experimento se utilizaron 55 cuyes machos de entre 8 y mayores a 10 semanas de edad con pesos variables, procedentes de un sistema de explotación familiar. De los 55 cobayos se pudieron obtener 35 muestras seminales, ya que no todos estaban sexualmente aptos para realizar la colecta debido al peso y edad insuficientes. Las carcasas de los animales fueron destinadas al comercio.

5.2.3.2. Experimentos 2 y 3.

En el experimento 2 se utilizaron 20 cobayos desde los 14 días de edad y durante ocho semanas fueron alimentados con dietas de diferente porcentaje de fibra detergente neutra (FDN) hasta las 12 semanas. En el experimento 3 se evaluó la motilidad y el vigor de las células espermáticas, utilizando 3 tipos de diluyentes a base de leche descremada (BotuGold ®, BotuSemen ®, BotuSpecial ®).

5.2.4. Técnicas

En esta investigación, utilizando una balanza se tomó los pesos de cada unidad experimental. Además, se evaluó la calidad seminal de cada muestra, tomando en cuenta factores como: la edad, peso, factor nutricional, el uso de diluyentes a base de leche descremada y tiempo de sobrevivencia espermática obtenidos de la cola del epidídimo.

5.2.4.1. Colecta de la muestra espermática.

Una vez diseccionado el aparato reproductor del cuy, se procedió a realizar un lavado retrógrado desde los conductos deferentes que conecta con la cola del epidídimo mediante el uso del respectivo diluyente utilizando 0,7 ml y colocándolo en un microtubo.

5.2.4.2. Motilidad

Para determinar la motilidad y el vigor se colocó 10 μ L de la muestra espermática sobre un portaobjetos, y con uso de cubreobjetos se observó en el microscopio (Labomed ®, labo América, inc, USA) con aumento de 100x, a los 0, 30, 60, 120, 180, y 240 minutos. Las muestras se mantuvieron sobre la platina térmica (Minitube ®) a una temperatura de 37,5°C.

5.2.4.3. Concentración

Se utilizó una dilución 1:100 (990 μ L de agua destilada + 10 μ L de la muestra seminal) en microtubos de 1,5 ml, y se realizó el conteo en la cámara de Neubauer en el microscopio con aumento de 400x, obteniendo el número de espermatozoides por ml (sptz/ml).

5.2.4.4. Morfología

Para el análisis de morfología espermática en gota húmeda se utilizó 500 µL de formol salino + 40 µL de muestra seminal. Se colocó 8 µL sobre un portaobjetos, y con uso de cubreobjetos se observó en el microscopio con aumento de 1000x.

5.2.4.5. Histopatología

Una vez extraídos los testículos, se colocaron en formol bufferado y se envió a un laboratorio particular para realizar los cortes histopatológicos. Se midieron el área, el perímetro, la luz, el diámetro vertical y horizontal, la altura del epitelio de los túbulos seminíferos. La evaluación de los cortes de ambos testículos se hizo mediante el programa Motic Images plus 2.0.

5.2.5. Variables de Estudio

5.2.5.1. Experimento 1: Espermiograma de muestras de la cola del epidídimo:

- Concentración espermática
- Morfología espermática en gota húmeda

5.2.5.2. Experimento 2: Espermiograma e histopatología:

- Variables independientes:

- **Dieta 1:** Consistió en una alimentación a base de Maralfalfa (*Penisetum spp*). Esta dieta tuvo un nivel de energía digestible de 2800 kcal, proteína del 15%, fibra detergente neutra del 32% y un contenido de almidón del 13%.
- **Dieta 2:** Consistió en una alimentación a base de Maralfalfa (*Penisetum spp*). Esta dieta tuvo un nivel de energía digestible de 2800 kcal, proteína del 15%, fibra detergente neutra del 40% y un contenido de almidón del 2%.

- Variables dependientes:

- Concentración espermática
- Morfología espermática en gota húmeda
- Altura epitelial de los túbulos seminíferos

5.2.5.3. Experimento 3: Diluyentes a base de leche descremada y uso de 2 dietas con diferentes niveles de fibra detergente neutra (FDN) y almidón (diseño 3 x 2).

- Variables independientes:

- Diluyentes (BotuGold, BotuSemen y BotuSpecial)
- Dietas (tabla 3 y 4)

- Variables dependientes:

- Motilidad
- Vigor

5.2.6. *Procesamiento y Análisis de la Información*

5.2.6.1. Experimento 1.

En este estudio se empleó la estadística descriptiva para analizar las variables dependientes de concentración y morfología espermática en gota húmeda. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA), La edad se identificó como fuente principal de variación (8 y > 10 semanas).

5.2.6.2. Experimento 2.

En este estudio se empleó un análisis de tipo experimental, en donde se evaluaron 2 dietas distintas. Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para las variables dependientes, concentración, morfología espermática en gota húmeda, altura epitelial de los túbulos seminíferos. Las dietas se identificaron como fuente principal de variación (variable independiente).

5.2.6.3. Experimento 3.

Se realizó un análisis de medidas repetidas, con las variables dependientes: motilidad y vigor, donde las principales fuentes de variación fueron los diluyentes, el tiempo, la dieta, y la interacción de estos factores y se incluyó en el modelo una matriz de varianza covarianza de tipo Simétrica Compuesta (SC). Para comparar las medias se utilizó un t-test protegido.

5.2.7. Consideraciones éticas

- Dentro de las consideraciones éticas, respecto al manejo de los animales se adecuaron los espacios pertinentes para que estos puedan desarrollarse, con comederos y bebederos automáticos, en donde se reduzca lo máximo posible el factor de estrés.
- También se llevó a cabo todas las medidas de bioseguridad, al momento de realizar el sacrificio los animales teniendo un periodo de ayuno de 12 horas. Las carcasas de los animales fueron utilizadas con fines comerciales.

6. Resultados

A continuación, se presentan los resultados del espermiograma de muestras de la cola del epidídimo de cuyes de diferentes edades (**Experimento 1**), espermiograma e histopatología testicular de cuyes alimentados con diferente % de fibra detergente neutra (FDN) (**Experimento 2**) y el efecto de tres diluyentes a base de leche descremada sobre estas muestras espermáticas (**Experimento 3**).

Experimento #1

En el análisis de calidad seminal se observó mayor cantidad de defectos morfológicos espermáticos en cuyes de 8 semanas de edad, principalmente defectos menores y totales ($p \leq 0,05$) (Tabla 5). Sin embargo, en los cuyes de 10 semanas hubo más defectos mayores.

Tabla 5.

Media \pm error estándar de concentración y morfología espermática de muestras extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 8 y >10 semanas de edad

| | 8 s (n=17) | >10 s (n=18) |
|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Concentración (10^6 sptz/ml) | 111, 3 \pm 22,9 | 128, 8 \pm 23,6 |
| Defectos mayores (%) | 32,17 \pm 0,036 ^b | 34,41 \pm 0,036 ^a |
| Defectos menores (%) | 8,86 \pm 0,059 ^a | 2,18 \pm 0,118 ^b |
| Defectos totales (%) | 41,03 \pm 0,034 ^a | 36,59 \pm 0,036 ^b |

*a, b Letras sobrescritas minúsculas diferentes en sus mismas líneas muestran diferencia estadística ($p \leq 0,05$)

En la tabla 6, se resaltan los defectos morfológicos mayores y menores más relevantes, en donde los cuyes de 8 semanas de edad presentaron alteraciones principalmente defectos totales de cabeza, acrosoma y gota citoplasmática distal ($p \leq 0,05$) Se observó una tendencia a una mayor cantidad de defectos totales de cola, en los cobayos de 8 semanas de edad.

Tabla 6.

Media \pm error estándar de principales defectos morfológicos espermáticos de muestras extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 8 y >10 semanas de edad

| | 8 s (n=17) | >10 s (n=18) |
|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Defectos totales cabeza (%) | 14,53 \pm 0,047 ^a | 9,21 \pm 0,059 ^b |
| Defectos totales cola (%) | 3,85 \pm 0,102 ^A | 3,00 \pm 0,111 ^B |
| Acrosoma (%) | 31,3 \pm 0,036 ^a | 28,7 \pm 0,038 ^b |
| Cabeza pequeña anormal (%) | 3,12 \pm 0,099 | 3,19 \pm 0,101 |
| Cola doblada enrollada (%) | 11,0 \pm 0,053 | 9,97 \pm 0,057 |
| Gota citoplasmática distal (%) | 2,47 \pm 0, 118 ^a | 1,05 \pm 0,219 ^b |

*a, b Letras sobrescritas minúsculas diferentes en sus mismas líneas muestran diferencia estadística ($p \leq 0,05$)

*A, B Letras sobrescritas mayúsculas diferentes en sus mismas líneas muestran tendencia estadística ($p \leq 0,1$)

Experimento #2

Al evaluar el efecto de diferentes porcentajes de fibra detergente neutra en la dieta sobre los valores del espermiograma, se observó que los cuyes alimentados con el 32% de FDN y 13 % de almidón tuvieron mayor cantidad de defectos morfológicos espermáticos principalmente mayores, ($p \leq 0,05$) (tabla 7). Hubo más defectos menores en aquellos cuyes alimentados con un 40% de FDN. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de las otras variables evaluadas.

Tabla 7.

Media \pm error estándar de valores de espermiograma de muestras extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 12 semanas de edad con un peso promedio de 1199 kg, alimentados con dietas de diferente porcentaje de fibra detergente neutra FDN

| | FDN 32% (n=10) | FDN 40% (n=10) |
|---|-------------------------------|-------------------------------|
| Motilidad (%) | 33,10 \pm 3,90 | 32,80 \pm 3,94 |
| Vigor (1-5) | 2,07 \pm 0,15 | 2,15 \pm 0,16 |
| Concentración (10 ⁶ sptz/ml) | 152, 5 \pm 25,6 | 124, 5 \pm 25, 6 |
| Defectos mayores (%) | 34,5 \pm 0,047 ^a | 28,7 \pm 0,049 ^b |
| Defectos menores (%) | 15,0 \pm 0,063 ^b | 19,0 \pm 0,057 ^a |
| Defectos totales (%) | 49,6 \pm 0,045 | 47,8 \pm 0,045 |

*a, b Letras sobrescritas minúsculas diferentes en sus mismas líneas muestran diferencia estadística ($p \leq 0,05$)

En la tabla 8, se resaltan los defectos morfológicos mayores y menores más relevantes. Evaluando el efecto de diferentes porcentajes de fibra detergente neutra en la dieta sobre los valores del espermiograma, se observó que los cuyes alimentados con el 32% de FDN tuvieron mayor cantidad de defectos morfológicos espermáticos principalmente, totales de cabeza, totales de cola y de acrosoma ($p \leq 0,05$) Sin embargo, se observó una tendencia a una mayor cantidad de defectos de cola doblada o enrollada en los cobayos alimentados con un 40% de FDN.

Tabla 8.

Media \pm error estándar de principales defectos morfológicos espermáticos de muestras extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 12 semanas de edad alimentados con dietas de diferente porcentaje de fibra detergente neutra FDN

| | FDN 32% (n=10) | FDN 40% (n=10) |
|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Defectos totales cabeza (%) | 26,0 \pm 0,051 ^a | 23,0 \pm 0,053 ^b |
| Defectos totales cola (%) | 5,6 \pm 0,102 ^a | 2,6 \pm 0,149 ^b |
| Acrosoma (%) | 22,0 \pm 0,054 ^a | 19,0 \pm 0,057 ^b |
| Cabeza pequeña anormal (%) | 3,4 \pm 0,137 | 3,4 \pm 0,130 |
| Cola doblada enrollada (%) | 7,5 \pm 0,190 ^A | 5,0 \pm 0,162 ^B |

*a, b Letras sobrescritas minúsculas diferentes en sus mismas líneas muestran diferencia estadística ($p \leq 0,05$)

*A, B Letras sobrescritas mayúsculas diferentes en sus mismas líneas muestran tendencia estadística ($p \leq 0,1$)

En el estudio histopatológico de los túbulos seminíferos (TS), los cuyes alimentados con el 32% de FDN, presentaron mayor área y perímetro de la luz tubular, así también un mayor diámetro vertical del TS ($p < 0,05$) (tabla 9) (fig.4). No fue encontrado efecto de lado (derecho e izquierdo) en estas variables ($p > 0,05$), ni interacción entre tratamiento * lado ($P > 0,05$) (anexo 2). Por lo tanto, a mayor área y perímetro de la luz tubular se muestra una posible degeneración testicular, existiendo mayor cantidad de defectos morfológicos en cuyes con una dieta de 32% de FDN y 13 de almidón.

Tabla 9.

Media \pm error estándar de medidas morfológicas de túbulos seminíferos (TS) de cortes histológicos de testículos de cuyes de 12 semanas de edad, con un peso de 1199 kg, alimentados con dietas de diferente porcentaje de FDN

| | Tratamiento | | EEM |
|--|---------------------|---------------------|------|
| | FDN 32% (n=10) | FDN 40% (n=10) | |
| Área total TS (μm^2) | 654 25 | 619 11 | 1814 |
| Perímetro del TS (μm) | 921 | 898 | 13,0 |
| Área de la luz del TS (μm^2) | 118 54 ^a | 100 95 ^b | 411 |
| Perímetro de la luz del TS (μm) | 529 ^a | 416 ^b | 14,1 |
| Área del epitelio del TS (μm^2) | 535 71 | 518 16 | 1677 |
| Diámetro vertical (μm) | 293 ^a | 278 ^b | 4,65 |
| Diámetro horizontal (μm) | 274 | 273 | 3,98 |
| Altura epitelial 1 (μm) | 83,9 | 84,0 | 2,50 |
| Altura epitelial 2 (μm) | 78,7 | 79,9 | 1,68 |
| Altura epitelial 3 (μm) | 82,6 | 82,8 | 2,17 |
| Altura epitelial 4 (μm) | 79,7 | 80,6 | 2,11 |

*a, b Letras sobrescritas minúsculas diferentes en sus mismas líneas muestran diferencia estadística ($p \leq 0,05$)

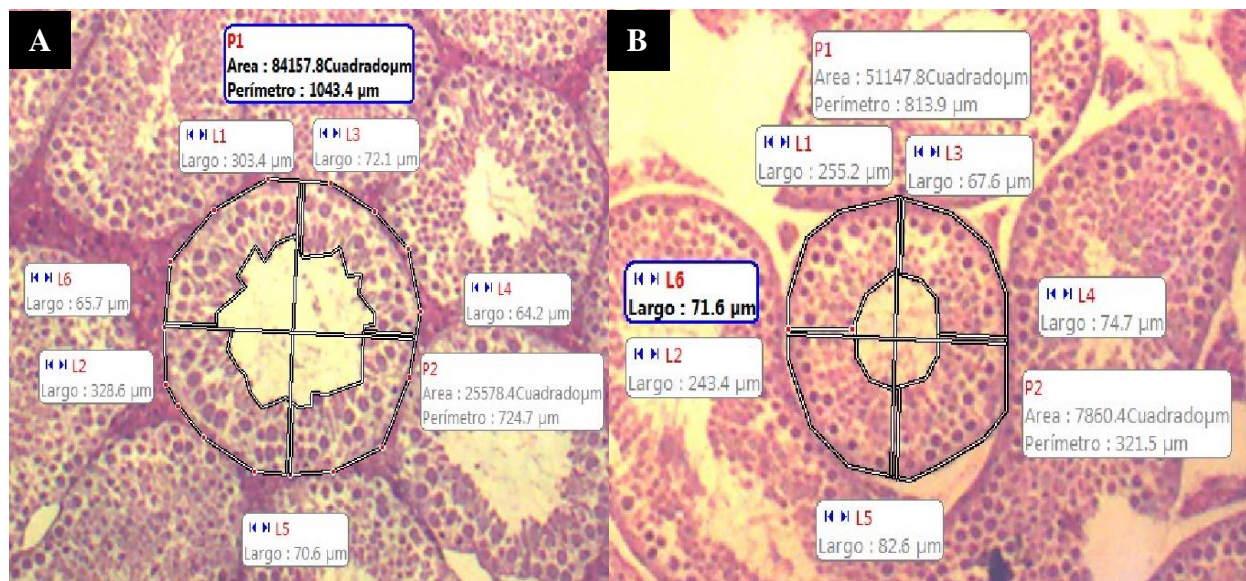
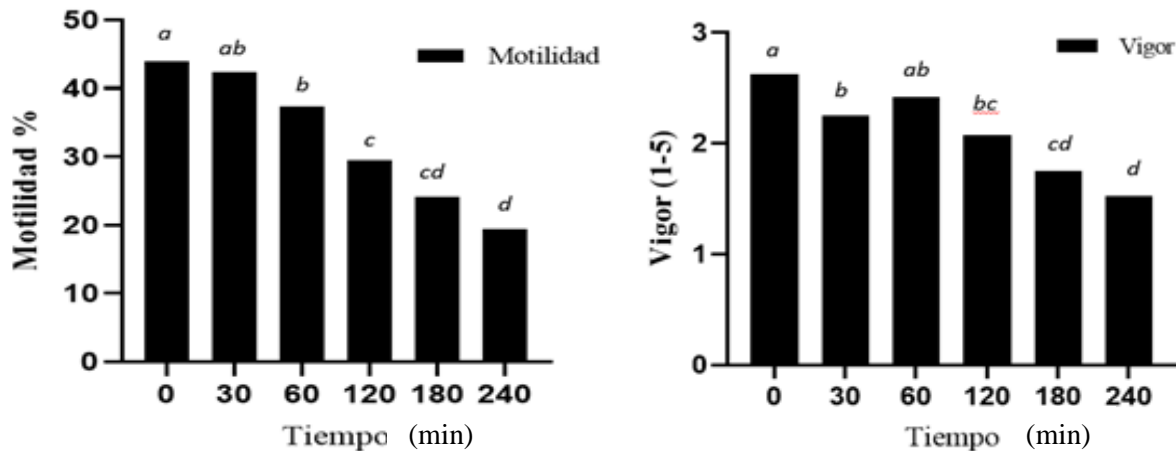


Figura 4. Cortes histológicos de tejido testicular (tinción hematoxilina – eosina, aumento 40x) A: Medidas de túbulos seminíferos de cuyes alimentados con una dieta de 32% de FDN y 13% de almidón. B: Medidas de túbulos seminíferos de cuyes alimentados con una dieta de 40% de FDN y 2% de almidón

Experimento 3

Al evaluar la motilidad y vigor de las células espermáticas de muestras extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 12 semanas de edad, se pudo observar un efecto del tiempo ($p < 0,001$), durante la primera hora la motilidad se mantuvo sobre 37% (44,83 a 37,41%), posteriormente la motilidad decayó, y al evaluar 4h después todavía presentaron 19,41% de motilidad espermática (fig. 5). Por otro lado, los valores de vigor espermático (escala 1-5) inicia con 2,62, a los 30 minutos decae, sube nuevamente a los 60 minutos y luego decae manteniéndose con un valor sobre 1,53 a los 240 minutos.



*a, b Letras sobrescritas minúsculas entre barras muestran diferencia estadística ($p \leq 0,05$).

Figura 5. Media \pm desvío estándar de motilidad y vigor de las células espermáticas extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 12 semanas de edad, medidas en diferentes tiempos (0 a 240 min)

Al valorar la motilidad y vigor de células espermáticas comparando tres diluyentes a base de leche descremada, no hubo efecto del diluyente ($p=0,20$), ni interacción del diluyente por el tiempo ($p=0,99$) (tabla 10). Sin embargo, se observan valores numéricamente más altos de motilidad y vigor a lo largo del tiempo cuando se utilizó BotuGold.

Tabla 10.

Media \pm desvío estándar de motilidad y vigor de células espermáticas extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 12 semanas de edad, usando 3 diluyentes a base de leche descremada evaluadas en diferentes tiempos 0 - 240 min

| | Tiempo | Diluyentes | | | P-valor |
|---------------|--------|--------------------|--------------------|----------------------|---------|
| | | Botu gold (n=6) | Botusemen (n=6) | Botuspecial (n=6) | |
| Motilidad (%) | 0 | 57,50 \pm 7,85 | 38,65 \pm 6,98 | 38,33 \pm 7,85 | 0,9913 |
| | 30 | 52,50 \pm 7,85 | 38,07 \pm 6,98 | 36,67 \pm 7,85 | 0,9913 |
| | 60 | 48,33 \pm 7,85 | 28,90 \pm 6,98 | 35,00 \pm 7,85 | 0,9913 |
| | 120 | 41,67 \pm 7,85 | 22,65 \pm 6,98 | 24,17 \pm 7,85 | 0,9913 |
| | 180 | 35,00 \pm 7,85 | 18,28 \pm 6,98 | 19,17 \pm 7,85 | 0,9913 |
| | 240 | 28,33 \pm 7,85 | 16,40 \pm 6,98 | 13,50 \pm 7,85 | 0,9913 |
| Vigor (1-5) | 0 | 3,17 \pm 0,33 | 2,37 \pm 0,30 | 2,33 \pm 0,33 | 0,9065 |
| | 30 | 2,50 \pm 0,33 | 2,25 \pm 0,30 | 2,00 \pm 0,33 | 0,9065 |
| | 60 | 2,83 \pm 0,33 | 2,25 \pm 0,30 | 2,17 \pm 0,33 | 0,9065 |
| | 120 | 2,33 \pm 0,33 | 2,08 \pm 0,30 | 1,83 \pm 0,33 | 0,9065 |
| | 180 | 2,00 \pm 0,33 | 1,58 \pm 0,30 | 1,67 \pm 0,33 | 0,9065 |
| | 240 | 1,67 \pm 0,33 | 1,58 \pm 0,30 | 1,33 \pm 0,33 | 0,9065 |

*No se observó diferencia estadística entre los tratamientos ($p > 0,05$).

Los diferentes porcentajes de FDN no influyeron sobre la motilidad y vigor espermático, pero hubo interacción entre la dieta y el diluyente. Al utilizar el diluyente BotuSemen cuyes alimentados con 40% de FDN presentaron mayor ($p=0,03$) motilidad y vigor que cuyes alimentados con 32% de FDN. Por otro lado, en cuyes alimentados con 32% de FDN se observó mayor ($p=0,01$) motilidad y vigor de células espermáticas utilizando el diluyente BotuGold en comparación de BotuSemen (fig. 6) Al evaluar la interacción de la dieta por el tiempo ($p=0,9913$), y la dieta por diluyente por tiempo ($p= 0,8600$) no se encontraron diferencias en la motilidad ni vigor de las células espermáticas (anexo 5).

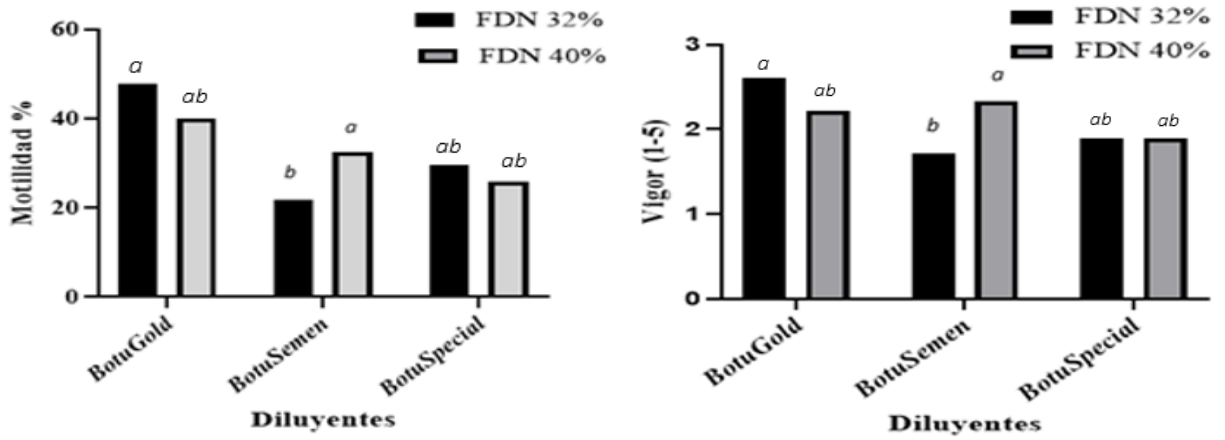


Figura 6. Media \pm desvío estándar de la motilidad y vigor de las células espermáticas, de cuyes de 12 semanas de edad, alimentados con dietas de diferente porcentaje de (FDN), usando 3 diluyentes a base de leche descremada

7. Discusión

En este estudio mediante un examen histopatológico y el espermiograma se pudo evaluar la calidad espermática del cuy macho obteniendo sus características macroscópicas y microscópicas.

La concentración espermática fue semejante entre los cuyes de 8 y mayores a 10 semanas de edad del primer experimento, con un promedio de $120,1 \times 10^6$ spz/ml extraídos de la cola del epidídimo mediante lavado retrógrado (flushing). En el experimento 2, se obtuvo $138,5 \times 10^6$ spz/ml en cuyes de 12 semanas de edad, concentración espermática semejante al trabajo de Orrego (2022) quien obtuvo $122,52$ y $189,68 \times 10^6$ spz/ml en cuyes de 14 y 16 semanas de edad respectivamente, utilizando la técnica de corte con un bisturí en la porción caudal del epidídimo.

Por otro lado, Hurley et al., (2021) al utilizar la técnica de corte del epidídimo en cuyes de 20 semanas de edad, obtuvieron mayor concentración espermática de $456,19 \times 10^6$ spz/ml, pero con mayor daño en la integridad acrosomal y espermatozoides con ADN fragmentado (53,04%). Se ha determinado que la técnica de flushing brinda mejores posibilidades de colección espermática y garantiza células viables y con adecuada morfología (Cox, 2016).

La cantidad y calidad espermática varía de acuerdo a la línea genética y a la edad del animal (Tapia & Tello, 2016). Por ejemplo, cuyes de 16 semanas tuvieron mayor concentración espermática que aquellos de 14 (Orrego, 2022). Existen diferencias propias de cada individuo, que pueden ser intrínsecas como la edad o algún proceso patológico, o por factores extrínsecos como el ambiente y tipo de alimentación (García Vera, 2014; Mendoza Alacute, 2015).

En el presente estudio, cuyes púberes de 8 semanas presentaron mayor porcentaje (41,03%) de alteraciones morfológicas espermáticas que los de 10 semanas de edad (36,59%), principalmente defectos menores, de cabeza, acrosoma y gota citoplasmática distal, resultados considerados normales del desarrollo fisiológico de un macho reproductor joven (Pérez et al, 2014). Se menciona que, los cuyes alcanzan la pubertad a los 3 meses de edad siendo tiempo óptimo para la selección de reproductores (Chauca L.,1997). Montenegro (2022), utilizando cuyes de 8 a 12 meses de edad menciona que el promedio de células espermáticas anormales es de 23,05%, y que la mayoría son anomalías secundarias, siendo las más comunes acrosoma, gota proximal, cola enrollada, desprendido y decapitados. A diferencia de Quispe (2018) y Pinduisaca

(2018) que realizó su estudio en 30 cuyes obtenidos de distintos lugares y de 48 cuyes adultos de 6 a 8 meses de edad con un peso de 1600 a 1800g demuestran la presencia de anomalías morfológicas entre 9,17 y 4% respectivamente. Los espermatozoides anormales, tienen un menor potencial fertilizante (Flores et al., 2012). Se sabe que existen alteraciones primarias o secundarias, siendo las primarias producidas durante la espermatogénesis por ende son consideradas más graves, y las secundarias son producidas en el paso por la cola del epidídimo en fase de maduración (Aleuy, 2008).

La alimentación juega un papel muy importante en el desarrollo del animal, que depende de la cantidad, calidad y disponibilidad de alimentos. Si existe deficiencia, habrá un crecimiento reducido y retraso en alcanzar la pubertad (Foster, 1999). En el presente estudio los cuyes de 12 semanas alimentados con 32% de FDN (dieta que consistía de 13% de almidón) tuvieron mayor cantidad de defectos morfológicos mayores (34,5%) principalmente de cabeza, acrosoma, y de cola. Además, el estudio histopatológico testicular de estos mismos cuyes mostró que los túbulos seminíferos presentaron mayor área y perímetro de luz tubular, señales de atrofia de este tejido, debido muy posiblemente por el efecto del exceso del almidón en la dieta, lo que no sucedió en la dieta del 40% con un 2% de almidón (Santos et, al 1999).

Lo manifestado en el párrafo anterior se corrobora con lo encontrado por Cunha et., al (2019), quien realizó una evaluación andrológica en toros de 14 meses de edad, sometidos a dietas ricas en almidón y con 33,39% de FDN, se encontró degeneración del tejido testicular, atrofia de los túbulos seminíferos y falla en el proceso de espermatogénesis, presencia de células con núcleos picnóticos, citoplasmas vacuolados membranas basales gruesas, células gigantes multinucleadas en la luz de los túbulos. La dieta puede interferir en la fertilidad del macho reduciendo la producción de esperma, tanto por un engorde excesivo como por una pobre nutrición (Solis & Fuentes, 2014).

Así mismo Adamiak SJ et al., (2006) en su estudio en bovinos, determinaron que dietas altas en almidón y bajas en fibra son perjudiciales para la calidad de los ovocitos, puede interferir en la fertilización, a través de la producción de radicales libres de oxígeno en el folículo y oviducto. Es posible que en machos este proceso ocurra de manera semejante perjudicando la calidad y producción espermática.

La motilidad espermática juega un papel muy importante para realizar la fecundación en las hembras, durante su viaje a través del epidídimo los espermatozoides adquieren su capacidad para moverse. Esto se logra a través de movimientos deslizantes de los microtúbulos dobles externos (Azamar et al., 2007). Se ha verificado que la motilidad espermática en cuyes evaluando inmediatamente luego de la recolección mediante electroeyaculación es de 90,81% (Benavides et al., 2020).

Por otro lado, Montenegro (2022) menciona que la motilidad disminuye conforme pasa el tiempo, quien obtuvo una motilidad de 43,53% en la hora 0 de espermatozoides extraídos de la cola del epidídimo en cuyes, y de 26,33% a las 72 horas en refrigeración. En el presente estudio se pudo observar un efecto del tiempo, en donde en la primera hora la motilidad fue sobre 37% y al mantener las muestras en baño maría a 37,5°C, posteriormente la motilidad y el vigor fueron disminuyendo, sin embargo, a la evaluación de las 4h todavía presentaron 19,41% de motilidad espermática.

Al comparar tres diluyentes a base de leche descremada, a pesar de no haber efecto del diluyente, con BotuGold se observaron valores de motilidad y vigor numéricamente más altos a lo largo del tiempo. Además en cuyes alimentados con 32% de FDN aquellos que presentaron mayor cantidad de defectos morfológicos y degeneración de túbulos seminíferos, al utilizar BotuGold compuesto de leche descremada con caseína, que en altas concentraciones contribuye a retrasar el proceso de capacitación espermática mejorando las tasas de preñez, además posee azúcares, aminoácidos, antioxidantes, colesterol el cual mejora las características espermáticas de motilidad y vigor respecto a los de BotuSemen a base de leche descremada. Bergeron et al., (2007) menciona que la adición de caseína evita pérdida de colesterol y fosfolípidos manteniendo la motilidad y viabilidad de los espermatozoides durante su almacenamiento.

8. Conclusiones

- Al analizar la calidad espermática del material colectado del epidídimo se observó, que la edad tiene una influencia significativa. En cuyes púberes presentan más defectos morfológicos con respecto a aquellos mayores de 10 semanas.
- Se observó que animales alimentados con 32 % de FDN y 13% de almidón (menos cantidad de fibra y más almidón) presentaron mayor porcentaje de defectos morfológicos en las células espermáticas.
- Así mismo, se verificó que la nutrición influye en el desarrollo del tejido testicular. El estudio histopatológico reveló que cuyes alimentados con 32% de FDN y 13 % de almidón presentaron mayor área y perímetro de la luz tubular, existiendo menor cantidad del epitelio testicular.
- El diluyente BotuGold, al contener caseína, aumenta la motilidad y vigor espermático en cuyes alimentados con menor porcentaje de FDN, en comparación con los diluyentes BotuSpecial y Botusmen que respondieron mejor en dietas con 40% de fibra detergente neutra.

9. Recomendaciones

- No se recomienda obtener semen epididimal en cuyes de 8 a 10 semanas puesto que a esta edad alcanzan su pubertad, por ende, la calidad espermática no es la adecuada para establecer parámetros específicos de referencia, teniendo en cuenta el lugar de procedencia de los cobayos y manejo alimenticio.
- Para posteriores estudios se recomienda incluir una mayor cantidad de unidades experimentales, con igual porcentaje de FDN, pero con distintos niveles de almidón en su alimentación.
- Menor porcentaje de FDN con alto contenido de almidón en la dieta se recomienda utilizar BotuGold, mientras que mayor porcentaje de FDN y menor contenido de almidón se recomienda utilizar BotuSemen o BotuSpecial.

10. Bibliografía

- Adamiak SJ, K. P. (2006). La composición corporal, los carbohidratos de la dieta y los ácidos grasos determinan el desarrollo postfertilización de los ovocitos bovinos in vitro. *ELVIESER*, 1- 12.
- Aimacaña, J. (2017). Determinación de los parámetros reproductivos post-parto en conejos en CEYPSA. Latacunga, Ecuador: Repositorio Institucional Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Alba, R. (1990). Maduración sexual del cuy doméstico macho (*Cavia porcellus*). En Biología, Facultad de Ciencias y Tecnología. Universidad Mayor de San Simón. Cochabamba-Bolivia.
- Aleuy, O. (2008). Caracterización de medidas testiculares y semen de pudú obtenido con un protocolo combinado de masaje digital transrectal y electroeyaculación durante su época reproductiva. Universidad Austral de Chile.
- Aliaga, L., Moncayo, R., Rico, E., & Caycedo, A. (2009). Producción de cuyes. Universidad Católica. pág. 10-280. Lima-Perú.
- Almeda, Héctor Miguel. 2001. Anatomía y Fisiología del Macho. Producción Pecuaria. Colombia Terranova Editores, Ltda, 2001.
- Aníbal, E., & Echevarría, L. (2014). Número de ovulaciones por ciclo estral en cuyes (*Cavia porcellus*) Andina y Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29-36
- Aragón Cruz, S. (2019). Características macroscópicas, microscópicas, estimación de parámetros de motilidad y determinación de subpoblaciones espermáticas en semen de cuy (*Cavia porcellus*). Cusco, Perú: Repositorio Institucional Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. <https://n9.cl/cn0bd>
- Azamar, U. S. (2007). Participación de la actina F en la motilidad del esperma de cobayo. *ELVIESER*, 2 - 9.
- Barrera, Mónica Chalan. 2010. Conocimientos básicos para la crianza adecuada del cuy. <https://n9.cl/5lmtv>
- Barrios, D. (2002). Evaluación de la calidad fecundante de espermatozoides de la cola del epidídimo de toros post-mortem. *Memorias XI Congreso Veterinario de Producción e*

http://www.avpa.ula.ve/congresos/cd_xi_congreso/pdf/diegobarrios.PDF

- Benavides F. et al. (2020). Parámetros del semen de cobayos fértiles (*Cavia porcellus*) recogido por electroeyaculación transrectal. *Animals*, 1-20.
- Bergeron, Y. B. (2007). Milk Caseins Decrease the Binding of the Major Bovine Seminal Plasma Proteins to Sperm and Prevent Lipid Loss from the Sperm Membrane During Sperm Storage. *BIOLOGY OF REPRODUCTION* 77, 120 - 125.
- Brito, R. (2009). Fisiología de la Reproducción Animal. La Habana: Editorial Félix Varela.
- Botupharma USA. (2008). *BotuSEMEN GOLD*. Botupharma USA. <https://n9.cl/ykb1r>.
- Cabeza, U., Ordóñez, C., Meza, A., & Cucho, H. (2020). Caracterización morfológica y morfométrica del espermatozoide de cuy (*Cavia porcellus*). *Spermova*, 4. <file:///C:/Users/ASUS/Desktop/respaldo%20C/Desktop/Tesis%20Articulos%20cientificos/Urbano%20etal%202020.pdf>
- Calamera, J. (1977). El espermiograma: Parámetros de fertilidad. Texto Editorial History. Buenos Aires-Argentina.
- Castro, Hever Patricio. 2002. Sistema de Crianza de Cuyes a Nivel Familiar Comercial en el Sector Rural. Sistema de Crianza de Cuyes a Nivel Familiar Comercial en el Sector Rural. Benson Agriculture and Food Institute, 2002. <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/50000203.pdf>.
- Carpio, S. (2015). Evaluación de dos diluyentes para la crioconservación de semen bovino: Yema de huevo vs Leche descremada. Cuenca, Ecuador: Repositorio Institucional Universidad Politécnica Salesiana Ecuador.
- Chauca, L. (1997). Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). FAO.
- Caycedo, A. (2000). Experiencias Investigativas en la Producción de Cuyes. Pasto Universidad De Nariño.
- Condoy, M. C., & Cevallos, J. A. (2017). Diluyentes utilizados en inseminación artificial porcina. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, Vol. 18, pp. 1-11. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090917.html>.

- Cox, JF, V. Alfaro, V. Montenegro and H. Rodriguez-Martinez, 2006. Análisis asistido por computadora del movimiento de los espermatozoides en cabras y su relación con la migración de espermatozoides en el moco cervical. *Teriogenología*, 66: 860-867.
- Cunha, M. S. Bonato, D. V., Vrisman, D. P., Taira, A. R., Borges, L. P. B., Albuquerque, R. dos S., Teixeira, P. P. M. (2019). Histopathological and ultrasonographic testicular evaluation of young bulls fed a hyperenergetic diet. *Livestock Science*. doi:10.1016/j.livsci.2019.04.006
- Domingues, G. C. (2012). Estudio de la influencia de la edad sobre los parametros seminales de conejos de la estirpe Valenciana. (*ASESCU*) *Cogal*, 124-127.
- Fawcett, D. (1963). Change in the acrosome of guinea pig spermatozoa during passage through the epididymis. *Zeitschrift für Zellforschung and mikroskopische Anatomie* (2), pag. 276-292.
- Flores, D. A. (2012). Motilidad y morfología espermática, en estudiantes. *Rev Obstet Ginecol Venez*, 1-6.
- Foster, D. (1999). Prespectivas fisiologicas sobre la leptina como regulador de la reproduccion: Papel en el momento de la pubertad. *ELSEVIER*, 1-11.
- Gallardo, M., Mondaca, F., Ojada, R., Kohler, N., & Garrido, O. (2002). Morphological diversity in the sperms of caviomorph rodents. *Mastozoologia Neotropical*. (9), pág. 159-170.
- García M.L., Andrés I., Caselles P., Lavara R. 2004. Estudio de la edad de los machos de conejo en la inseminación artificial. *Boletín de Cunicultura*, 132:17-25.
- García Vera, W. C. (2014). Optimización de los protocolos de crioconservación de semen ovino de las razas autóctonas en peligro de extinción xisqueta y aranesa. Universidad Autónoma de Barcelona. In Pontificia Universidad Católica del Perú (Vol. 8, Issue 33). <https://n9.cl/wwpummy>
- Gómez, M., Fernández, C., & Romeu, A. (2005). Estudio de las alteraciones morfológicas de espermatozoides humanos con microscopia electrónica de barrido (SEM). *FERTIDAD*. <http://www.revistafertilidad.org/RecursosWEB/fertilidad/Ferti-En-Feb05-Trabajo5.pdf>
- Gonzalo, A. (2012). Fisiología reproductiva de los cobayos. Buenos Aires-Argentina. <http://dpd.fvet.uba.ar/cartelera/00007212.pdf>
- Hafez, E. (1989). Reproducción e Inseminación en animales. Editorial Internacional. México.

- Harkness, J. E., Murray, K. A., & Wagner, J. E. (2002). *Biology and Diseases of Guinea Pigs. Laboratory Animal Medicine* (second edi). Elsevier Inc. <http://www.doi.org/10.1016/B978-0-12-263951-7.50009-0>
- Hernández, M. (2016). Comparación de la conservación in vitro y capacidad fertilizante in vivo del semen de conejo refrigerado con dos diluyentes. Ciudad de México, México: Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.
- Holting, G. (1995). Análisis 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.
- Hurley Quispe, J. A. (2021). Efecto del Fotoperíodo con Luz Solar en el Estrés Térmico y Parámetros espermáticos en cuyes. *Revista de ciencias biológicas de Pakistan* , 2-13.
- Ibañez Federico, L. C. (15 de 12 de 2016). *UNCPBA*. UNCPBA: <https://ridaa.unicen.edu.ar:8443/server/api/core/bitstreams/20927de7-71ef-4730-a4f4-1a0b9cc1a35f/content>.
- Jave, Z. (2014). Efecto del contenido de fibra detergente neutro (FDN) de dos fuentes forrajeras en el comportamiento productivo de cuyes (*Cavia porcellus*). Universidad Nacional de Cajamarca).
- Kandelousi, M., Arshami, J., Naserian, A. A., & Abavisani, A. (2013). The effects of addition of omega-3, 6, 9 fatty acids on the quality of bovine chilled and frozen-thawed sperm. *Open Veterinary Journal*, 3(1), 2226-4485. Recuperado de <http://www.openveterinaryjournal.com>
- Lavara, J y J.S., Vicente. 2001. Estado actual de la reproducción en cunicultura. s.l.: Lagomorpha (113): 24-32, 2001.
- Loor, 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.
- Lucero. I, Modulo de crioconservación de semen bovino Uiversidad Central Del Ecuador “Evaluación y procesamiento del semen”. Pg. 10-30
- Ganazhapa, Y. (2023). Balance de nitrógeno en dietas de cuyes (*Cavia porcellus*) con la inclusión de diferentes niveles de maralfalfa (*Pennisetum spp*). <https://n9.cl/owcb7>

- Matamoros, Y. (1981). Anatomía e histología del sistema reproductor del tepezcuinte (*Cuniculus paca*). Revista de Biología Tropical, (29), pág. 155-164.
<http://www.ots.ac.cr/rbt/attachments/volumes/vol29-1/16-Matamoros-Tepezcuintle.pdf>
- Mise, M. (2014). Evaluación de la crioconservación del semen de cobayo (*Cavia porcellus*) en el Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción de la Carrera de Medicina Veterinaria de la Universidad Técnica de Cotopaxi. Repositorio Digital Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Montenegro, A. (2022). Evaluación de tres crioprotectores para la crioconservación de semen de cuy (*Cavia porcellus*) extraído de la cola del epidídimo en el Centro Experimental Uyumbicho, Universidad Central del Ecuador.
- Montoya, A. (2009). Espermograma. *Medigraphic*.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2009/myl093-4c.pdf>
- Muiño, R. (2008). Evaluación de la motilidad y vitalidad del semen bovino mediante el uso de sistemas casa y citometría de flujo. Identificación de subpoblaciones espermáticas. Tesis, Grado de Doctor. Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Veterinaria del Departamento de Patología Animal.
- National Research Council (NRC). 1978. *Nutrient requeriments of laboratoy animals*. 33 ed. Washington. D.C., National Academy of Science. 96 págs.
- Nutrient requirements of laboratory animals. 1990. Universidad de Nariño, Pasto (Colombia). citado por Caycedo, 1992.
- Orrego, F. (2022). Características espermáticas y testiculares en cuyes en dos edades y tres razas de cuy. *UNALM*, 12-13.
- Palma G. 2001. Biotecnología de la Reproducción, selección del Sexo en Mamíferos. Argentina 1ra Edición
- Pinduisaca, F. (2018). Colecta y evaluación de semen de cuyes (*Cavia porcellus*) extraído por la técnica de electroeyaculación en el centro Experimental Uyumbico. Tesis, Médico Veterinario. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito-Ecuador.
- Quillahuaman, V. (2015). Aparato Reproductor en los cuyes. José María Mariategui. Obtenido de <http://documentos.tips/documents/aparatoreproductor-de-cuyes-de-hembra-y-macho.html>.

- Quispe, W. (2018). Características espermáticas y calidad del semen de dos razas de cuyes (*Cavia porcellus*) en el valle de Cajamarca. Repositorio Institucional Universidad Nacional de Cajamarca.
- Rico, E. 2003. Manual sobre el manejo de cuyes. Proyecto Mejocuy. Segunda edición. 50 pág.
- Rosero, M., Núñez, O., & Lozada, E. (2018). Evaluación de tres diluyentes naturales para semen fresco de conejo (*Oryctolagus cuniculus*) en la Inseminación Artificial. Journal of the Selva Andina Animal Science.
- Ruiz, M., Rivera, B., & Ruiz, A. (1998). Reproducción Animal: Métodos de estudio en sistemas. San José: RISPAL.
- Santos R, Silva C, Ribeiro A, Vasconcelos A, Pesquero J, Coelho S, et al. Effect of growth hormone and induced IGF-1 release on germ cell population and apoptosis in the bovine testis. Theriogenology 1989; 51(5):975-984.
- Serres, C. (2012). Métodos tradicionales y alternativos de extracción de semen. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias, 131-132.
- Segabinazzi, L. G. T. M., Scheeren, V. F. da C., Freitas-Dell'Aqua, C. de P., Papa, F. O., Alvarenga, M. A., Dell'Aqua, J. A., & Canisso, I. F. (2021). Cholesterol-Loaded Cyclodextrin Addition to Skim Milk-Based Extender Enhances Donkey Semen Cooling and Fertility in Horse Mares. Journal of Equine Veterinary Science, 105, 103719. Doi: 10.1016/j.jevs.2021.103719
- Solis, P. y. (2014). Manejo Reproductivo de la cabra. *Sitio argentino de producción animal*, 1- 6.
- Tapia, D., & Tello, D. (2016). Evaluación cuali-cuantitativa de espermatozoides de la cola del epidídimo de cuyes (*Cavia porcellus*) criollos y mejorados en dos edades reproductivas. Cuenca, Ecuador: Repositorio Institucional Universidad de Cuenca. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/25404/1/TESIS%20TapiaTello.pdf>.
- Thibault, C. L. (1993). Reproduction in Mammals and Man. Ellipses.
- Torretta, M., Rabaglino, M., & Ferrero, S. (2010). Caracterización cuali-cuantitativa de patologías espermáticas estudio comparativo de la incidencia de anomalías espermáticas en semen porcino fresco y refrigerado. *Redvet*. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63616936007.pdf>.
- Trujillo, Bravo Rafael A. 1994. Biología del Cuy. Riobamba: Editorial. Pedagógica "Freire", 1994.

- Turner, R. (2007). Pathogenesis, Diagnosis, and Management of Testicular Degeneration in Stallions. *Clinical Techniques in Equine Practice*. 6. 278-284.
- Vaca, J. (2017). Evaluación de tres diluyentes naturales para Semen Fresco de Conejo (*Oryctolagus cuniculus*) en la Inseminación Artificial. Cevallos, Ecuador: Repositorio Universidad Técnica de Ambato. <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26207/1/Tesis%2088%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20498.pdf>.
- Vergara, Victor. 2008. Avances en la Nutrición y Alimentación en Cuyes. Avances en la Nutrición y Alimentación en Cuyes. 2008. <http://www.lamolina.edu.pe/appa/docs/presentaciones/Simposio/CUYES/Nutricion%20y%20alimentacion%20cuyes%20Ing.%20Vergara.pdf>.
- Vicente, J. S., & Viudes de Castro, M. (2000). Manejo reproductivo en el conejo. Obtenido de <http://home.utad.p/apez/APEZNorte/2000/cunicultura/S4.htm>
- Villamarin, K. (2016). Evaluación de dos crioprotectores (Etilenglicol y propilenglicol) en la conservación lenta de ovocitos en cobayos (*Cavia porcellus*) en el laboratorio de la carrera de medicina veterinaria. Chimborazo, Ecuador: Repositorio Digital Universidad Técnica de Cotopaxi. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/3296/1/T-UTC-00563.pdf>.
- Vivas, D. C. (2013). Especies alternativas: manual de crianza de cobayos (*Cavia porcellus*). *UNA*, 46-48

11. Anexos

Anexo 1. Media \pm error estándar de medidas (área, perímetro, luz, epitelio, diámetro y altura epitelial) de medidas de túbulos seminíferos, medidas en placas histológicas de cuyes machos de 12 semanas de edad, con un promedio de 1199 kg de peso, alimentados con dietas de diferente porcentaje de fibra detergente neutra (FDN).

| | LADO | | |
|--|-------------------|---------------------|------|
| | Derecho (n=20) | Izquierdo (n=20) | EEM |
| Área total TS | 63886 | 63450 | 1339 |
| Perímetro TS | 911 | 908 | 9,62 |
| Área de la luz del TS | 10871 | 11077 | 335 |
| Perímetro de la luz del TS | 473 | 472 | 10,8 |
| Área del epitelio del túbulo seminífero | 53015 | 52363 | 1333 |
| Perímetro del epitelio del túbulo seminífero | 439 | 436 | 13,1 |
| Diámetro vertical | 286 | 285 | 3,50 |
| Diámetro horizontal | 274 | 274 | 3,00 |
| Altura epitelial 1 | 83,0 | 84,9 | 2,07 |
| Altura epitelial 2 | 79,0 | 79,7 | 1,31 |
| Altura epitelial 3 | 82,9 | 82,5 | 1,64 |
| Altura epitelial 4 | 80,2 | 80,0 | 1,58 |

*No se observó diferencia estadística entre los tratamientos ($p>0,05$).

Anexo 2. Media \pm error estándar, de medidas (área, perímetro, luz, epitelio, diámetro y altura epitelial) de túbulos seminíferos, medidas en placas histológicas de cuyes machos de 12 semanas de edad, con un promedio de 1199 kg de peso, de muestras extraídas de la cola del epidídimo, alimentados con dietas de diferente porcentaje de fibra detergente neutra (FDN).

| | TTO*lado | | | | EEM | P-valor |
|--|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|----------|---------|
| | FDN 32% Derecho | FDN 32% Izquierdo | FDN 40% Derecho | FDN 40% Izquierdo | TTO*lado | |
| Área del TS | 65891 | 64959 | 61882 | 61940 | 1893 | 0,518 |
| Perímetro del TS | 924 | 917 | 898 | 899 | 13,6 | 0,494 |
| Área de la luz del TS | 11862 | 11845 | 9880 | 10309 | 473 | 0,502 |
| Perímetro de la luz del TS | 532 | 525 | 413 | 419 | 15,2 | 0,366 |
| Área del epitelio del túbulo seminífero | 54029 | 53114 | 52001 | 51632 | 1790 | 0,681 |
| Perímetro del epitelio del túbulo seminífero | 392,06 | 392,74 | 485,32 | 479,35 | 16,8 | 0,649 |
| Diámetro vertical | 294 | 291 | 277 | 279 | 4,95 | 0,286 |
| Diámetro horizontal | 275 | 274 | 274 | 273 | 4,25 | 0,985 |
| Altura epitelial 1 | 81,7 | 86,1 | 84,3 | 83,7 | 2,92 | 0,246 |
| Altura epitelial 2 | 77,6 | 79,9 | 80,4 | 79,5 | 1,85 | 0,152 |
| Altura epitelial 3 | 82,7 | 82,5 | 83,0 | 82,5 | 2,32 | 0,900 |
| Altura epitelial 4 | 79,3 | 80,1 | 81,1 | 80,0 | 2,24 | 0,365 |

*No se observó diferencia estadística entre los tratamientos ($p>0,05$).

Anexo 3. Media \pm desvío estándar de motilidad y vigor de las células espermáticas extraídas de la cola del epidídimo de cuyes de 12 semanas de edad, con 1199 kg de peso, alimentados con dietas de diferente % de FDN, usando 3 diluyentes a base de leche descremada.

| | | Tratamiento | |
|---------------|-------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | | FDN 32% (n= 10) | FDN 40% (n= 10) |
| Motilidad (%) | Diluyentes | | |
| | BotuGold | 47,78 \pm 7,06 | 40,00 \pm 7,06 |
| | BotuSemen | 21,79 \pm 6,11 ^b | 32,53 \pm 6,33 ^a |
| | BotuSpecial | 29,72 \pm 7,06 | 25,89 \pm 7,06 |
| Vigor (1-5) | BotuGold | 2,61 \pm 0,28 | 2,22 \pm 0,28 |
| | BotuSemen | 1,71 \pm 0,24 ^b | 2,33 \pm 0,25 ^a |
| | BotuSpecial | 1,89 \pm 0,28 | 1,89 \pm 0,28 |

*a, b Letras sobrescritas minúsculas diferentes en sus mismas líneas muestran diferencia estadística ($p \leq 0,05$)

Anexo 4. Media \pm desvío estándar de motilidad y vigor de las células espermáticas de muestras extraídas de la cola del epidídimo de cuyes alimentados con dietas de diferente % de fibra detergente neutra (FDN), medidas en diferentes tiempos (0 a 240min).

| | Tiempo | Tratamiento | |
|---------------|--------|-------------------|-------------------|
| | | FDN 32% (n=10) | FDN 40% (n=10) |
| Motilidad (%) | 0 | 44,56 \pm 4,92 | 45,10 \pm 5,03 |
| | 30 | 39,72 \pm 4,92 | 45,10 \pm 5,03 |
| | 60 | 40,83 \pm 4,92 | 33,99 \pm 5,03 |
| | 120 | 30,56 \pm 4,92 | 28,43 \pm 5,03 |
| | 180 | 23,75 \pm 4,92 | 24,55 \pm 5,03 |
| | 240 | 19,17 \pm 4,92 | 19,66 \pm 5,03 |
| Vigor (1-5) | 0 | 2,53 \pm 0,22 | 2,72 \pm 0,23 |
| | 30 | 2,33 \pm 0,22 | 2,17 \pm 0,23 |
| | 60 | 2,44 \pm 0,22 | 2,39 \pm 0,23 |
| | 120 | 2,11 \pm 0,22 | 2,06 \pm 0,23 |
| | 180 | 1,56 \pm 0,22 | 1,94 \pm 0,23 |
| | 240 | 1,44 \pm 0,22 | 1,61 \pm 0,23 |

*No se observó diferencia estadística entre los tratamientos ($p > 0,05$).

Anexo 5. Media \pm desvío estándar de motilidad y vigor de las células espermáticas de muestras extraídas de la cola del epidídimo, de cuyes de 12 semanas de edad, alimentados con dietas de diferente % de FDN, usando 3 diluyentes a base de leche descremada, medidas en diferentes tiempos (0 a 240 min)

| | | Tratamiento | | | | | | |
|---------------|--------|-------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|---------|
| | | FDN 32% (n=10) | | | FDN 40% (n=10) | | | |
| Variables | Tiempo | Botu gold | Botusemen | Botuspecial | Botu gold | Botusemen | Botuspecial | P-valor |
| Motilidad (%) | 0 | 56,67 \pm 8,90 | 37,00 \pm 7,71 | 40,00 \pm 8,90 | 58,33 \pm 8,90 | 40,30 \pm 8,34 | 36,67 \pm 8,90 | 0,8600 |
| | 30 | 56,67 \pm 8,90 | 27,50 \pm 7,71 | 35,00 \pm 8,90 | 48,33 \pm 8,90 | 48,64 \pm 8,34 | 38,33 \pm 8,90 | 0,8600 |
| | 60 | 56,67 \pm 8,90 | 27,50 \pm 7,71 | 38,33 \pm 8,90 | 40,00 \pm 8,90 | 30,30 \pm 8,34 | 31,67 \pm 8,90 | 0,8600 |
| | 120 | 46,67 \pm 8,90 | 20,00 \pm 7,71 | 25,00 \pm 8,90 | 36,67 \pm 8,90 | 25,30 \pm 8,34 | 23,33 \pm 8,90 | 0,8600 |
| | 180 | 38,33 \pm 8,90 | 11,25 \pm 7,71 | 21,67 \pm 8,90 | 31,67 \pm 8,90 | 25,30 \pm 8,34 | 16,67 \pm 8,90 | 0,8600 |
| | 240 | 31,67 \pm 8,90 | 7,50 \pm 7,71 | 18,33 \pm 8,90 | 25,00 \pm 8,90 | 25,30 \pm 8,34 | 8,67 \pm 8,90 | 0,8600 |
| Vigor (1-5) | 0 | 3,00 \pm 0,40 | 2,25 \pm 0,34 | 2,33 \pm 0,40 | 3,33 \pm 0,40 | 2,50 \pm 0,38 | 2,33 \pm 0,40 | 0,8600 |
| | 30 | 3,00 \pm 0,40 | 2,00 \pm 0,34 | 2,00 \pm 0,40 | 2,00 \pm 0,40 | 2,50 \pm 0,38 | 2,00 \pm 0,40 | 0,214 |
| | 60 | 3,33 \pm 0,40 | 2,00 \pm 0,34 | 2,00 \pm 0,40 | 2,33 \pm 0,40 | 2,50 \pm 0,38 | 2,33 \pm 0,40 | 0,214 |
| | 120 | 2,67 \pm 0,40 | 2,00 \pm 0,34 | 1,67 \pm 0,40 | 2,00 \pm 0,40 | 2,17 \pm 0,38 | 2,00 \pm 0,40 | 0,214 |
| | 180 | 2,00 \pm 0,40 | 1,00 \pm 0,34 | 1,67 \pm 0,40 | 2,00 \pm 0,40 | 2,17 \pm 0,38 | 1,67 \pm 0,40 | 0,214 |
| | 240 | 1,67 \pm 0,40 | 1,00 \pm 0,34 | 1,67 \pm 0,40 | 1,67 \pm 0,40 | 2,17 \pm 0,38 | 1,00 \pm 0,40 | 0,214 |

*No se observó diferencia estadística entre los tratamientos ($p > 0,05$).

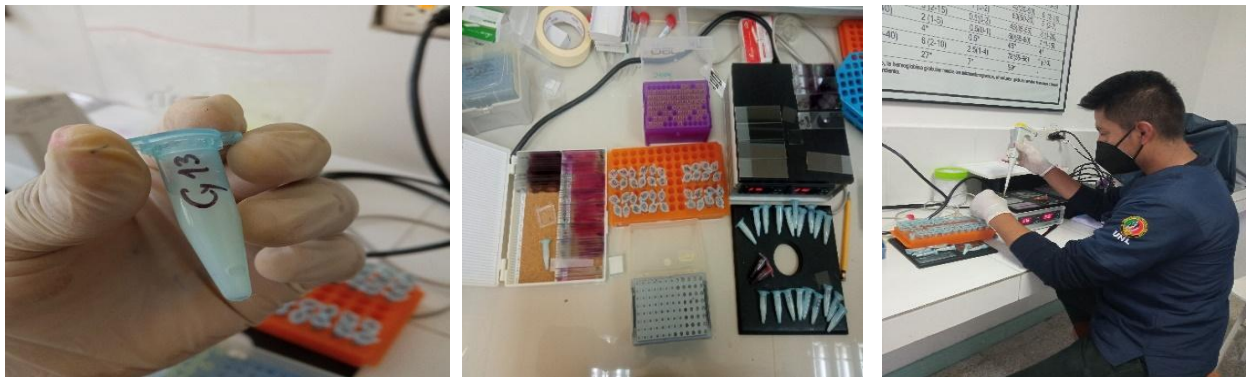
Anexo 6. Experimento 1: disección del aparato reproductor del cobayo



Anexo 7. Experimento 1: Toma de muestras seminales de la cola del epidídimo a través de lavado retrogrado, para evaluación de su concentración y morfología espermática



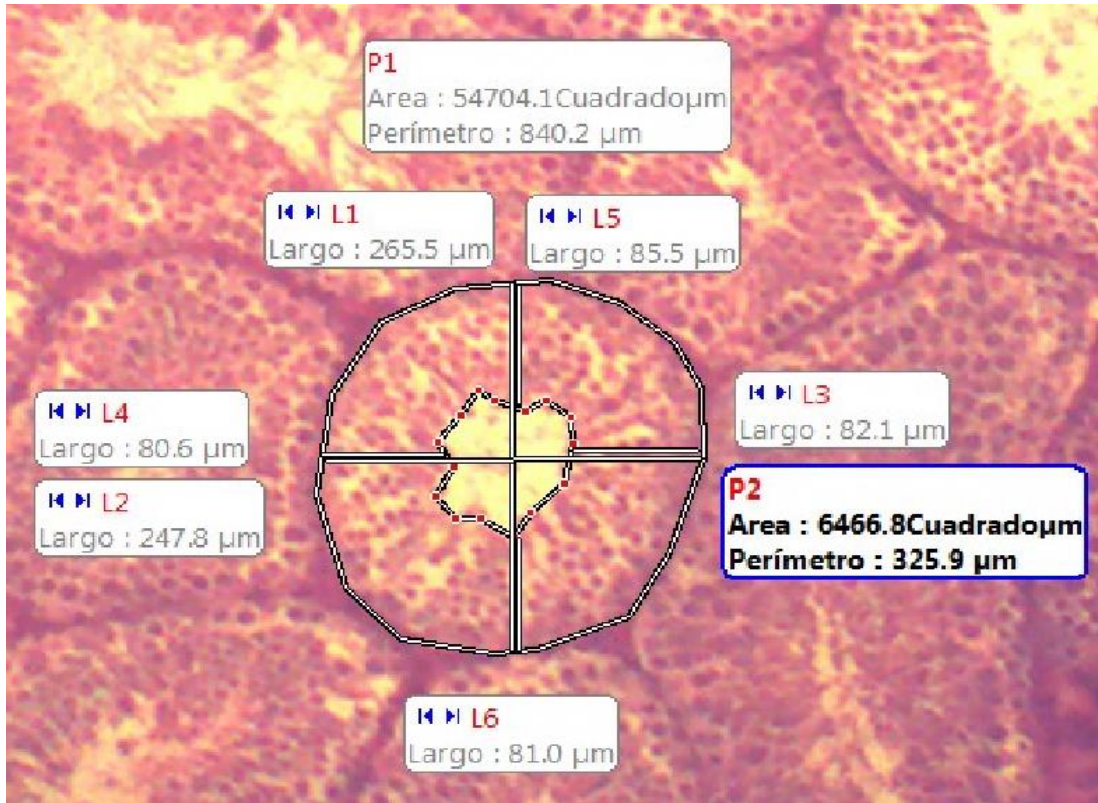
Anexo 8. Experimento 2: Toma de muestras seminales de la cola del epidídimo a través de lavado retrogrado con el diluyente Botusemen® Gold sobre los tubos Eppendorf, para evaluar la concentración, morfología, motilidad y vigor de las células espermáticas en cuyes



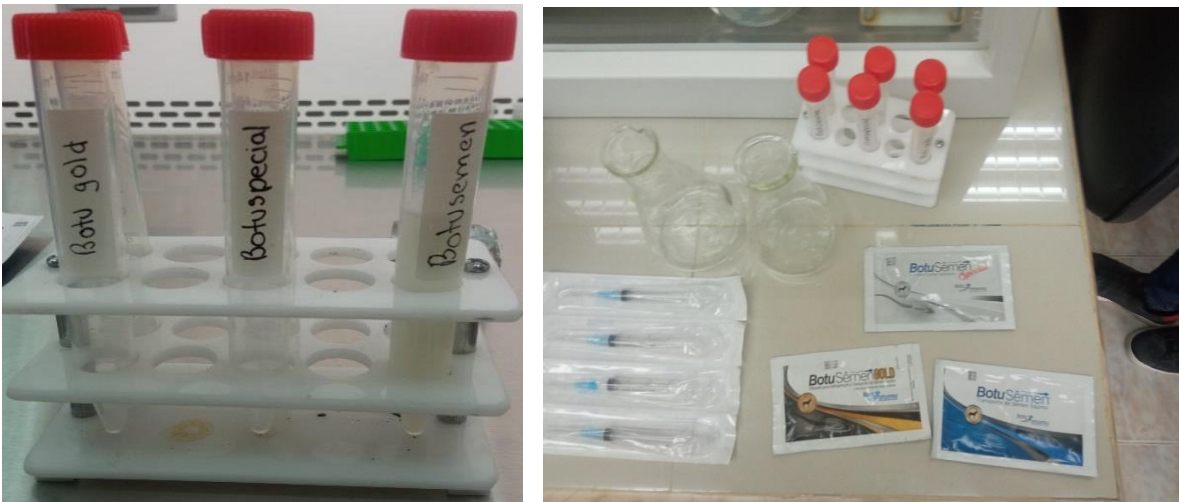
Anexo 9. Experimento 2: Toma de muestra testicular y análisis histopatológico



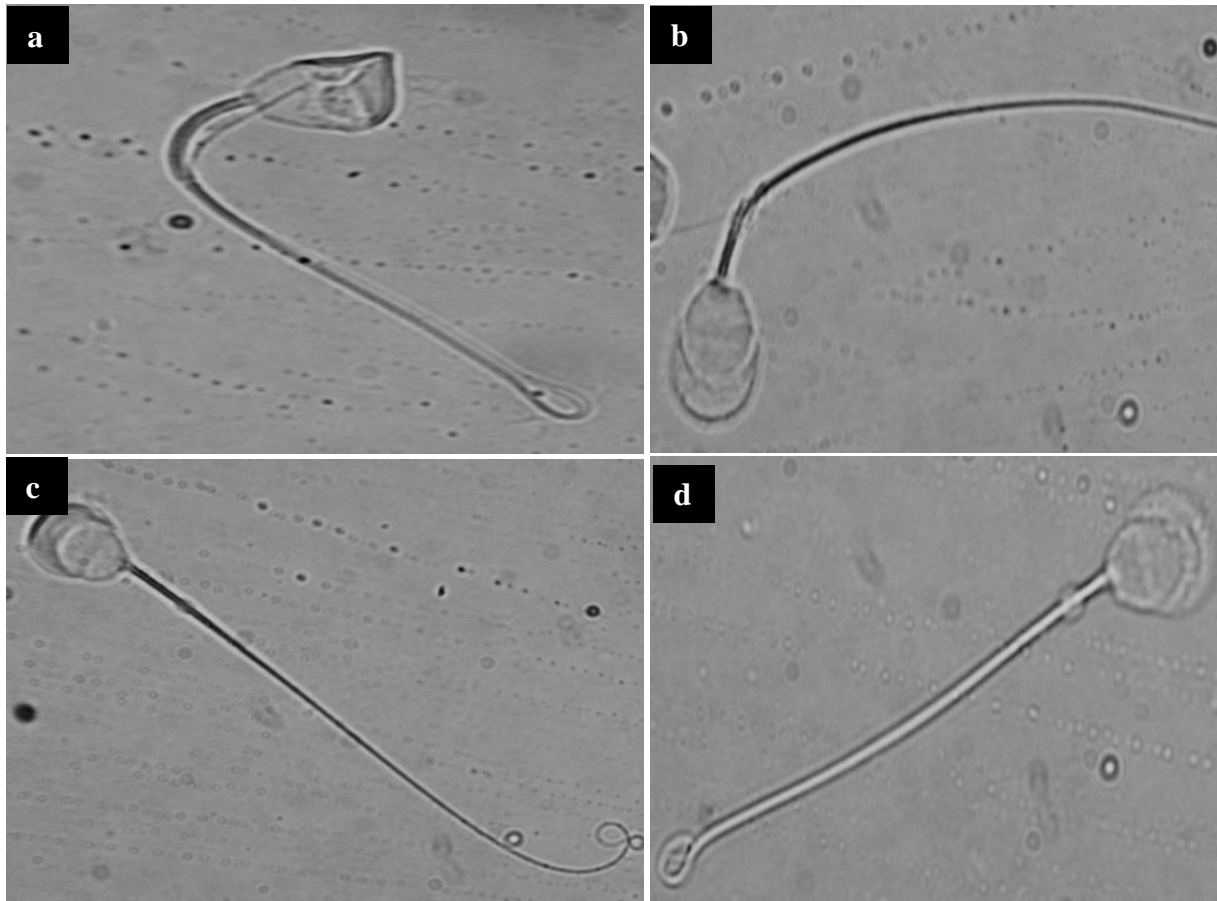
Anexo 10. Experimento 2: Medidas histopatológicas de túbulos seminíferos en cuyes a través de la aplicación de Motic images Plus 2.0



Anexo 11. Experimento 3: Uso de diluyentes a base de leche descremada (BotuGold, BotuSemen y BotuSpecial)



Anexo 12. Observación de muestras seminales a través del microscopio óptico (Labomed®, labo América, inc, USA) con aumento de 100 X para la obtención de resultados de morfología espermática en cuyes. (a) Defecto de acrosoma, (b) Defecto de pieza intermedia fractura parcial, (c) Cola enrollada, (d) Gota citoplasmática proximal



Anexo 13. Observación de muestras seminales a través del microscopio óptico (Labomed ®, labo America, inc, USA) con aumento de 40 X de la cámara de recuento celular Neubäuer para la obtención de resultados de Concentración espermática



English Speak Up Center

Nosotros "*English Speak Up Center*"

CERTIFICAMOS que

La traducción del resumen de Tesis titulado "ESTUDIO DE LA CALIDAD ESPERMÁTICA DE MUESTRAS DE LA COLA DEL EPIDÍDIMO DE COBAYOS Y EVALUACIÓN DE TRES DILUYENTES A BASE DE LECHE DESCREMADA." documento adjunto solicitado por el señor José Antonio Paccha Chamba con cédula de ciudadanía número 1105814113 ha sido realizada por el Centro Particular de Enseñanza de Idiomas "*English Speak Up Center*"

Esta es una traducción textual del documento adjunto. El traductor es competente y autorizado para realizar traducciones.

Loja, 17 de julio de 2023


Mg. Sc. Elizabeth Sánchez Burneo
DIRECTORA ACADÉMICA