

---

# MEMORIAS

---



---

## XXXVII REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL DE LA ASOCIACIÓN PERUANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL

---



# XXXVII REUNIÓN CIENTÍFICA ANUAL DE LA ASOCIACIÓN PERUANA DE PRODUCCIÓN ANIMAL

DEL 22 AL 24 DE OCTUBRE DE 2014

ABANCAY

Editor

Dr. Nilton César Gómez Urviola

Editor adjunto

M.V.Z. Mauro León Curillo Tacuri

Colaboran:

Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac (UNAMBA)

Asociación Peruana de Producción Animal (APPA)

## EFFECTO DEL PLASMA SEMINAL SOBRE LA RESPUESTA A LA PRUEBA HIPOOSMÓTICA EN ESPERMATOZOIDES DE ALPACA (*Vicugna pacos*)

Pacheco, J.I.<sup>1</sup>; Mamani-Cato, R.H.<sup>2</sup>; Franco, F.<sup>1</sup>; Zea, O.<sup>1</sup>; Pezo, S.D.<sup>1</sup>. y V.M. Vélez<sup>1</sup>  
<sup>1</sup> Estación IVITA Marangani. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima. Perú. mvz\_joelpc@hotmail.com  
<sup>2</sup> Centro de Investigación Quimsachata. INIA-Illpa. Puno. Perú.

### INTRODUCCIÓN

La prueba hipoosmótica o test hipoosmótico (HOST) es una prueba funcional, mediante la cual los espermatozoides vivos son sometidos a una incubación en una solución hipoosmótica, los espermatozoides con la membrana funcional permitirán el ingreso de agua por osmosis que se evidenciará por hinchamiento y enrollamiento de la cola (Jeyendran *et al.*, 1984). En eyaculados de llamas obtenidas por vagina artificial, y sometidos a dicha prueba, se observó porcentajes de endosmosis del 40% utilizando una solución de 100 mOsmol (Giuliano *et al.*, 2007). Se indica 36% en espermatozoides de semen colectado por electroeyaculación en llamas usando también solución hipoosmótica ajustada a 50 mOsmol (Carretero *et al.*, 2009). En eyaculados de alpaca obtenidos por electroeyaculación se obtuvo porcentajes de endosmosis con un rango de 20 a 62% utilizando solución hipoosmótica de 100 mOsmol (Giuliano *et al.*, 2010), mientras que en semen entero de alpacas se reportó 23.5% utilizando solución hipoosmótica de 150 mOsmol (Pacheco *et al.*, 2011). Espermatozoides epididimarios de alpaca fueron sometidos al test hipoosmótico a una osmolaridad de 100 mOsmol, obteniendo una respuesta de 89.08%, evidenciando una mayor respuesta en espermatozoides libres de plasma seminal (Rodríguez, 2009).

Bajo tales consideraciones, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la respuesta endosmótica de espermatozoides de alpaca en presencia y ausencia de plasma seminal y reconstituyendo el plasma seminal a espermatozoides obtenidos del conducto deferente.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron 6 alpacas machos, tres machos donaron semen entero mediante la técnica de vagina artificial, dicho semen sirvió también para obtener plasma seminal por centrifugación, a 2000 g/20 minutos y en tres machos se obtuvieron espermatozoides libres de plasma seminal, los cuales fueron obtenidos por la técnica de desviación de los conductos deferentes (Pérez *et al.*, 2004).

Las muestras de espermatozoides fueron divididas en tres grupos por tratamiento, haciendo un total de 45 muestras: Grupo 1 (n = 15) espermatozoides libres de plasma seminal (obtenidos del conducto deferente, aspirados en PBS); Grupo 2 (n = 15) espermatozoides libres de plasma seminal reconstituidos con plasma seminal (obtenidos del conducto deferente, aspirados en PBS, mezclados en 50/50% con plasma seminal), Grupo 3 (n = 15) semen entero (obtenido por vagina artificial)

Las muestras fueron incubadas en una solución hipoosmótica ajustada a 100 mOsmol (citrate de sodio + fructosa + 2H<sub>2</sub>O c.s.p. 100 mL). Se mezcló 0.1 mL de semen + 0.9 mL de solución hipoosmótica, incubado por 30 minutos en baño maría a 37 °C y se detuvo la reacción con 0.1 mL de formaldehído al 4%. Se realizó el conteo de espermatozoides positivos a endosmosis, contando no menos de 200 espermatozoides por muestra utilizando microscopio óptico con objetivo de inmersión (100 X), se evaluó la vitalidad mediante tinción supravital de eosina (0.7%)-nigrosina (1%)

El diseño estadístico utilizado correspondió a un diseño completamente al azar y la comparación de medias se realizó con la prueba de Duncan; asimismo, se utilizó la prueba de correlación de Pearson para relacionar los valores de endosmosis y vitalidad; los datos fueron analizados utilizando el programa SAS V9.0 (SAS, 2002).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos del efecto de la endosmosis y la vitalidad influenciada por la presencia o no de plasma seminal, se detallan en la Tabla 1. La endosmosis encontrada en espermatozoides libres de plasma seminal obtenidos del conducto deferente (38.66%), es inferior al reporte de Rodríguez (2009), quien indica 89.08% en espermatozoides epididimarios, posiblemente los espermatozoides sufran cambios en la permeabilidad de su membrana durante su tránsito por el conducto deferente. Los espermatozoides que fueron reconstituidos con plasma seminal presentan similar respuesta endosmótica que aquellos libres de plasma seminal, lo cual podría deberse a la cantidad de plasma seminal utilizado, que correspondió a sólo el 50% del volumen total previo a la incubación, la disminución de la vitalidad podría atribuirse a la utilización de plasma seminal de otro animal, este hallazgo es similar a la respuesta reportada por Carretero *et al.*, (2009) quienes encontraron 36% de endosmosis en semen de llama obtenido mediante electroeyaculación, donde dicho semen es menos viscoso que el semen obtenido por vagina artificial.

La endosmosis del semen entero con presencia de plasma seminal fue superior a los grupos 1 y 2, indicarían que el plasma seminal no influye negativamente sobre esta respuesta como se tenía previsto, siendo similar a las respuestas observadas en espermatozoides de llama en eyaculados obtenidos por vagina artificial (Giuliano *et al.*, 2007), superior a las obtenidas por electroeyaculación (Giuliano *et al.*, 2009) y similar a lo descrito en semen de alpacas obtenidas por electroeyaculación (Giuliano *et al.*, 2010), y superior a lo obtenido por Pacheco *et al.* (2011), quienes utilizaron una solución hipoosmótica de 150 mOsmol, mientras que en el presente estudio se utilizó solución hipoosmótica de 100 mOsmol.

De otro lado, las correlaciones encontradas entre endosmosis y vitalidad fueron negativas, lo cual nos indica que existe una relación inversamente proporcional, principalmente en el grupo 2, indicando que a menor vitalidad existe mayor endosmosis, similar a lo descrito por Pacheco *et al.* (2011), quienes indican que no existe relación directa entre ambas pruebas por lo cual recomiendan realizar esta prueba de manera rutinaria puesto que la vitalidad no necesariamente indicaría la funcionalidad de la membrana de dichos espermatozoides.

En conclusión, no existe efecto negativo del plasma seminal sobre la respuesta a la prueba hipoosmótica en espermatozoides de alpaca, siendo superior la endosmosis en semen entero; la vitalidad es similar entre espermatozoides sin plasma seminal y de semen entero, sin embargo esta disminuye cuando se le adiciona plasma seminal a espermatozoides libres de plasma seminal; no existe correlación positiva entre la endosmosis y la vitalidad indicando que la vitalidad no refleja necesariamente la integridad de la membrana plasmática, por lo cual se recomienda realizar de manera rutinaria esta prueba en espermatozoides de alpaca.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Carretero, I.; Giuliano, S.; Casaretto, C.; Gambarotta, M. and Neild, D. 2009. *Invet*, 11(1): 55-63.
- Giuliano, S.; Ferrari, M.R.; Spirito, S.E.; Campi, S.H; Director, A. y Fernández, H. 2007. *Avances de investigación*. Fac.Cs.Vet. UBA. Buenos Aires. Argentina.
- Giuliano S., Casaretto,C., Morán,M., Huanca,H. 2010. III Simposium internacional de investigaciones sobre camélidos. DESCO. Arequipa, Perú.
- Jeyendran, R.S.; Van Der Vem, H.H; Perez-Pelaez; M.; Crabo, B.G. and Zaneveld, J.L. 1984. *J. reprod fert* 70: 219-228.
- Pacheco, J.J; Deza, H.W.; Mamani, R.H. y Quispe, Y.E. 2011. Reúmenes del xxxiv reunión científica anual de la asociación peruana de producción animal. APPA Trujillo-Perú.
- Perez, G., Zevallos, J.P. y Quintano, J. 2004- Sobrevivencia de los espermatozoides de alpaca colectados del conducto deferente en tres dilutores. XVII Congreso de Ciencias Veterinarias – Tacna – Perú.
- Rodríguez, C. 2009. Tesis de Maestría. Unidad de post grado. Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima Perú.

- SAS 2002. Microsoft® windows®, Cary, NC: SAS Institute Inc.

**Tabla 1. Endosmosis espermática de alpaca en presencia y ausencia de plasma seminal.**

Espermatozoides	n	HOST (%)	D.S.	CV	Mín	Máy	Vitalidad (%)
Sin plasma seminal	15	38.66 <sup>a</sup>	7.82	20.07	26.19	59.49	69.12 <sup>a</sup>
Reconstituidos con plasma seminal	15	38.95 <sup>a</sup>	7.67	19.83	24.00	51.00	57.46 <sup>b</sup>
Con plasma seminal	15	54.70 <sup>b</sup>	8.91	15.96	43.00	73.00	68.50 <sup>a</sup>

Duncan ( $\alpha = 0.05$ ), letras diferentes entre filas indican diferencia estadística.

### EFFECT OF SEMINAL PLASMA ON HIPOOSMOTIC SWELLING TEST IN ALPACA SPERMATOZOA

**ABSTRACT:** A study was designed in order to evaluate the effect of seminal plasma on the response to the hypoosmotic test in alpaca sperm organized for this purpose as follows: Group 1 (n = 15) free of seminal plasma sperm (was obtained aspirates in PBS), Group 2 (n = 15) free of seminal plasma reconstituted sperm with seminal plasma (obtained from the vas deferens, aspirated in PBS, mixed 50/50% with seminal plasma) and Group 3 (n = 15) whole semen (obtained by artificial vagina), samples were incubated in a hypoosmotic solution adjusted to 100 mOsmol (sodium citrate + fructose + 2H<sub>2</sub>O 100 mL) . 0.1 mL + 0.9 mL semen of hypoosmotic solution was mixed, was incubated for 30 minutes in water bath at 37 °C and the reaction with 0.1 mL of 4% formaldehyde stopped. Counting at least 200 sperm per sample using optical immersion microscope objective (100 X) was performed, the vitality was evaluated by staining supravital eosin (0.7%), nigrosine (1%). the results indicate that there is no detrimental effect of seminal plasma on endosmotic response being, in contrast, superior in the whole semen; the vitality of spermatozoa without seminal plasma is similar, however decreases when reconstituted with seminal plasma, perhaps because seminal plasma is another animal; no positive correlation between endosmosis and vitality, indicating that the latter does not necessarily reflect the integrity of the membrane by which it is recommended that this test routinely in tests alpaca semen.

**Keywords:** endosmosis, seminal plasma, sperm, alpaca.