

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Efecto de la exposición a la luz artificial sobre calidad espermática, morfometría testicular y niveles de testosterona en cuyes

Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Médico
Veterinario Zootecnista

Autoras:

Evelyn Daniela Guanga Lucero

María Beatriz Quilli Barbecho

Director:

Cornelio Alejandro Rosales Jaramillo

ORCID:  0000-0003-2766-7027

Cuenca, Ecuador

2024-03-18

Resumen

El estudio evaluó la exposición a la luz artificial sobre la calidad espermática, morfometría testicular y niveles de testosterona en cuyes. Se utilizaron 48 cuyes machos divididos en 4 tratamientos asignados al azar: T1: 24H luz, T2: 18H luz, T3: 12H luz y T4: 0H sin exposición. La testosterona sanguínea se evaluó en los días 1, 30, 60 del experimento en los 48 cuyes. La morfometría testicular se determinó previa castración; para la valoración de la calidad espermática se recuperaron los espermatozoides epididimarios por flujo retrógrado usando 0,5 ml de diluyente comercial (Botu-Semen special®). Los resultados demostraron que la luz artificial afecta significativamente ($p < 0,05$) al espesor del testículo izquierdo (ETI) y derecho (ETD) en T1 y T2 en comparación con T3. Los niveles de testosterona al día 60 fue significativamente mayor en T3 (5,22 ng/ml) ($p < 0,05$) comparado con T2 (2,76 ng/ml), sin diferencia entre T1 y T4. Sobre la calidad espermática, se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en la concentración espermática entre T4 y T3, pero no difirió en los demás tratamientos; para los parámetros cinéticos la motilidad total (MT) fue mayor ($p < 0,05$) en T4 (81,33%) en comparación a T1 (74,46%). En la motilidad progresiva (MP) y la velocidad rectilínea rápida progresiva fueron más altos ($p < 0,05$) en T2 (48,65%; 41,44 $\mu\text{m/s}$) y T4 (55,38%; 41,45 $\mu\text{m/s}$) en comparación a T1 (45,54%; 37,01 $\mu\text{m/s}$). En conclusión, los diferentes periodos de luz artificial no influyeron sobre morfometría testicular, pero sí sobre los niveles de testosterona, calidad espermática e histología testicular.

Palabras clave: cuyes, ambiente lumínico, fotoperiodo, fertilidad, reproducción



El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Cuenca ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por la propiedad intelectual y los derechos de autor.

Repositorio Institucional: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Abstract

The study evaluated exposure to artificial light on sperm quality, testicular morphometry and testosterone levels in guinea pigs. Forty-eight male guinea pigs were divided into four randomized treatments: T1: 24H light, T2: 18H light, T3: 12H light and T4: 0H no exposure. Blood testosterone was evaluated on days 1, 30, 60 of the experiment. Testicular morphometry was determined after castration; for the assessment of sperm quality, epididymal spermatozoa were recovered by retrograde flow using 0.5 ml of commercial diluent (Botu-Semen special®). The results showed that artificial light significantly ($p < 0.05$) affected left (ETI) and right (ETD) testis thickness at T1. Testosterone levels at day 60 were significantly higher at T3 (5.22 ng/ml) ($p < 0.05$) compared to T2 (2.76 ng/ml), with no difference between T1 and T4. On sperm quality, significant differences ($p < 0.05$) were found in sperm concentration between T4 and T3, but did not differ in the other treatments; for kinetic parameters total motility (MT) was higher ($p < 0.05$) in T4 (81.33%) compared to T1 (74.46%). In progressive motility (PM) and progressive fast rectilinear velocity were higher ($p < 0.05$) at T2 (48.65%; 41.44 $\mu\text{m/s}$) and T4 (55.38%; 41.45 $\mu\text{m/s}$) compared to T1 (45.54%; 37.01 $\mu\text{m/s}$). In conclusion, the different periods of artificial light did not influence testicular morphometry but did influence testosterone levels, sperm quality and testicular histology.

Keywords: guinea pigs, light environment, photoperiod, fertility, reproduction



The content of this work corresponds to the right of expression of the authors and does not compromise the institutional thinking of the University of Cuenca, nor does it release its responsibility before third parties. The authors assume responsibility for the intellectual property and copyrights.

Institutional Repository: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Índice de contenido

1. Introducción	15
2. Objetivos.....	17
2.1. Objetivo General.....	17
2.2. Objetivos Específicos.....	17
3. Revisión de Literatura	18
3.1. Generalidades	18
3.2. Anatomía y fisiología del aparato reproductor del macho.....	18
3.2.1. Testículos	19
3.2.2. Epidídimo.....	19
3.2.3. Conductos deferentes.....	19
3.2.4. Glándulas accesorias.....	19
3.2.4.1. Vesículas seminales	20
3.2.4.2. Próstata	20
3.2.4.3. Glándulas coagulantes	20
3.2.4.4. Glándulas bulbouretrales	21
3.2.5. Pene	21
3.3. Histología del aparato reproductor del macho.....	21
3.3.1. Testículos	21
3.3.2. Epidídimo.....	22
3.3.3. Próstata	22
3.3.4. Vesículas seminales	22
3.3.5. Glándula bulbouretral.....	23
3.3.6. Pene	23
3.4. Endocrinología del macho.....	23
3.4.1. Testosterona.....	23
3.4.2. Calidad Seminal.....	23

3.4.2.1.	Valoración de calidad seminal	24
3.4.2.2.	Evaluación macroscópica del semen	24
3.4.2.2.1.	Color.....	24
3.4.2.2.2.	Volumen	24
3.4.2.2.3.	Densidad	24
3.4.2.2.4.	pH.....	24
3.4.2.3.	Evaluación microscópica del semen	25
3.4.2.3.1.	Recuento y concentración de espermatozoides.....	26
3.4.2.3.2.	Morfología espermática	26
3.5.	Relación fotoperiodo-reproducción	27
3.5.1.	Fotoperiodo - morfometría testicular y calidad seminal	28
3.5.2.	Fotoperiodo - testosterona e histología.....	28
4.	Materiales y Métodos.....	29
4.1.	Materiales	29
4.1.1.	Materiales físicos	29
4.1.2.	Materiales biológicos	29
4.1.3.	Materiales químicos.....	30
4.2.	Métodos.....	30
4.2.1.	Área de estudio.....	30
4.2.2.	Animales y alojamiento	31
4.2.3.	Exposición a la luz artificial	31
4.2.4.	Medición de testosterona.....	32
4.2.5.	Protocolo de castración	32
4.2.6.	Morfometría testicular	33
4.2.7.	Análisis de parámetros espermáticos	33
4.2.7.1.	Concentración espermática	34
4.2.7.2.	Motilidad espermática.....	34
4.2.7.3.	Integridad del acrosoma	34
4.2.7.4.	Vitalidad.....	35

4.2.8.	Histología.....	36
4.2.9.	Diseño experimental	31
4.2.10.	Análisis estadístico.....	37
5.	Resultados y Discusión.....	38
5.1.	Morfometría testicular	38
5.2.	Concentraciones de testosterona.....	41
5.3.	Parámetros espermáticos	43
5.4.	Células espermáticas del testículo.....	46
6.	Conclusiones	50
7.	Recomendaciones	51
8.	Referencias.....	52
9.	Anexos.....	64

Índice de figuras

Figura 1. Aparato reproductor del cuy macho.....	18
Figura 2. Glándulas accesorias del cuy. 1. Glándulas de Cowper 3. Próstata 4. Glándula coagulante 5. Glándulas seminales.....	20
Figura 3. Corte histológico del testículo de cuy (<i>Cavia porcellus</i>).	22
Figura 4. Partes fundamentales del espermatozoide del cuy.....	25
Figura 5. Espermatozoide de cuy.....	26
Figura 6. Ubicación territorial de la investigación. Azuay – Sinincay – Rosas Loma.....	30
Figura 7. Esquema de iluminación en cada tratamiento.	32
Figura 8. Integridad del acrosoma del T4.	35
Figura 9. Epifluorescencia con emisión de 450- 490 nm y emisión de 520 nm para vitalidad espermática del T1.	36
Figura 10. Concentraciones plasmáticas (media \pm SEM) de testosterona medidos al día 1, 30 y 60 en cuyes asignados a diferentes tiempos de exposición a la luz artificial ^(a-d) Superíndices diferentes entre los tratamientos, de acuerdo al día de muestreo 1, 30 y 60, indica diferencias significativas ($p < 0,05$).	42
Figura 11. Recuento histológico (media \pm SEM) del número células espermáticas en tres campos ^(a-b) Diferentes superíndices en cada fila expresan diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos.....	48
Figura 12. Epitelio germinativo en los diferentes tratamientos de horas luz.....	49

Índice de tablas

Tabla 1. Diluyente Botu Semen Special.....	33
Tabla 2. Medio de HEPES para fluorescencia	35
Tabla 3. Peso de testículos y epidídimos (media \pm SEM) de cuyes sometidos a diferentes tiempos de exposición a la luz artificial	39
Tabla 4. Características morfométricas (media \pm SEM) de los testículos y los túbulos seminíferos de cuyes expuestos a diferentes tiempos de exposición a la luz artificial.....	41
Tabla 5. Características (media \pm SEM) de los espermatozoides de cuyes recuperados por flujo retrógrado en los diferentes tratamientos de exposición a la luz artificial y el control...	46

Agradecimiento

En primer lugar, les agradezco a mis padres Gerardo y Norma, hermanas Belén y Vivián que siempre me han brindado su apoyo para poder cumplir todos mis objetivos. Ellos son los que con su amor y cariño me han impulsado siempre a perseguir mis metas y nunca abandonarlas frente a las adversidades.

Le agradezco a mi tutor Dr. Cornelio y al Dr. Mauricio Dumas por su dedicación y paciencia, sin sus palabras y correcciones precisas no se hubiese podido lograr llegar a esta meta tan anhelada. Gracias por su guía y sus consejos.

A todos mis docentes, muchas gracias ya que han sido parte de mi camino universitario, y a todos ellos les quiero agradecer por transmitirme los conocimientos necesarios para hoy poder estar aquí.

Gracias a mi amiga y cómplice de aventuras María, hoy nos toca cerrar un capítulo maravilloso, agradecerte por tu apoyo y constancia, al estar en todo momento, lo logramos juntas.

Daniela Guanga Lucero

Agradecimiento

Agradezco a Dios, a mi tía, a mis hermanos y a mis sobrinos quienes han sido mi motor para seguir adelante durante toda mi etapa académica. En especial por escucharme, apoyarme incondicionalmente durante el desarrollo de este trabajo.

A nuestro director de tesis Dr. Cornelio Rosales. Su experiencia, paciencia, comprensión y orientación fueron fundamentales para el desarrollo gratificante de esta investigación.

Al Dr. Mauricio Dumas por apoyarnos y guiarnos en cada una de las actividades realizadas en el Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción Animal. Asimismo, quiero expresar mi gratitud a todos los docentes que fueron parte fundamental en mi formación universitaria, gracias por compartir sus conocimientos.

Finalmente agradezco a todos mis amigos y compañeros que siempre estuvieron alentándome a seguir hacia adelante y no darme por vencida durante este largo camino. De manera especial a Daniela gracias por su apoyo, confianza y soporte durante este proceso, hemos logrado nuestro objetivo.

María Quilli Barbecho

Dedicatoria

A Dios, por haberme dado salud, fuerza y valor para culminar esta etapa de mi vida y alcanzar mis metas como persona y como profesional.

A mis padres Gerardo y Norma que me apoyaron en todo el trayecto de mi carrera enseñándome a afrontar las dificultades sin rendirme, enseñándome a ser la persona que hoy soy, mis valores, principios y mi perseverancia.

A mis hermanas Belén y Vivian, sobrinas Marelli y Noelia por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso por estar conmigo en todo momento.

A toda mi familia porque con sus consejos y palabras de aliento hicieron de mí una mejor persona y me acompañaron en todos mis sueños y metas.

A Marlon por haberme acompañado en este largo camino, por creer en mí cuando yo misma dudaba, por escuchar mis temores y por continuar alentándome en los momentos difíciles. Este logro también es tuyo, porque me has motivado y ayudado a crecer como persona y como profesional.

A mis acompañantes, cuidadores y dadores de amor incondicional Romina, Julián, Rocky y Néstor que son mis fieles acompañantes y una parte importante de mi vida. A mi Bambi que me cuida desde el cielo y con quien inició el deseo y sueño de convertirme en veterinaria. Los amo demasiado mis pequeños traviesos, con todo lo que he aprendido y lo que continuaré instruyéndome, me seguiré esforzando por darles la mejor vida que puedan tener.

A todas mis amigas y especialmente a María, por apoyarme cuando más la necesito, por extender su mano en momentos difíciles brindándome consejos valiosos y compartiendo momentos de alegría y tristeza. Gracias por compartir conmigo tus conocimientos, tu tiempo y tu valiosa amistad en todo este trayecto.

Finalmente, a todos los doctores que han estado durante la carrera y han aportado varios conocimientos en mi persona, su conocimiento y experiencia han sido importantes para la formación de mi vida académica.

Es para todos ustedes.

Daniela Guanga Lucero

Dedicatoria

Dedico este trabajo a Dios, por ser mi guía, fortaleza y especialmente por brindarme salud durante toda mi etapa académica y lograr culminar esta meta tan anhelada.

A mi tía Teresa, por su apoyo, amor y motivación a seguir hacia adelante a pesar de las adversidades, por acompañarme en cada paso que doy para ser una mejor persona y profesional.

A mis hermanos Fabián, José y Adrián por su compañía, cariño, paciencia y por compartir conmigo todos los momentos vividos tanto buenos como malos. Gracias por demostrarme que siempre puedo contar con ustedes.

A mis abuelos María y José y mis padres Petrona y Román, quienes fueron mi fuente de inspiración, sabiduría y fortaleza. Aunque ya no estén físicamente conmigo, sus espíritus siempre me han iluminado en cada paso que di para lograr esta meta. Este logro va directo al cielo para los ángeles que siempre me cuidan.

A Jeiko por brindarme su amor, comprensión y especialmente por su apoyo absoluto durante todo este proceso. Gracias por creer en mí, por ayudarme y estar a mi lado alentándome en todo momento.

A mi compañera y amiga de tesis Daniela, quien con su carisma y apoyo fue parte fundamental para lograr este sueño. Gracias por convertirte en esa amiga sincera e incondicional.

María Quilli Barbecho

Lista de abreviaturas

ALH: Amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza

ATD: Ancho del testículo derecho

ATD: Espesor del testículo derecho

ATI: Ancho del testículo izquierdo

ATP: Adenosín Trifosfato

BCF: Frecuencia de batida del flagelo

C: Concentración espermática

DTD: Densidad del testículo derecho

DTI: Densidad del testículo izquierdo

DTS: Diámetro del túbulo seminífero

ETI: Espesor del testículo izquierdo

FSH: Hormona folículo estimulante

GnRH: Hormona gonadotrópica

H&E: Tinción de hematoxilina - eosina

HEPES: Ácido 4-(2-hidroxiethyl)-1-piperazina-sulfónico

IG: Índice gonadosomático

IP: Yoduro de propidio

LH: Hormona luteinizante

LIN: Índice de linealidad

LTD: Largo del testículo derecho

LTI: Largo del testículo izquierdo

MP: Motilidad progresiva

MT: Motilidad total

PED: Peso del epidídimo derecho

PEI: Peso del epidídimo izquierdo

PTD: Peso del testículo derecho

PTI: Peso del testículo izquierdo

SEM: Error estándar de la media

SNC: Sistema nervioso central

STR: Índice de rectitud

T: Testosterona

V: Voltio

VAP: Velocidad promedio

VCL: Velocidad curvilínea

VCLR: Velocidad curvilínea rápidos progresivos

VSL: Velocidad lineal

VSLR: Velocidad lineal rápidos progresivos

VTD: Volumen del testículo derecho

VTI: Volumen del testículo izquierdo

W: Watt

WOB: Índice de oscilación

1. Introducción

El cuy (*Cavia porcellus*) llamado también conejillo de Indias es un mamífero roedor originario de Sudamérica que fue domesticado hace 2500 a 3600 años (Cárcel, 2009). El género *Cavia* incluye especies silvestres, la mayoría son diurnas y viven en pequeños grupos en madrigueras (Riggs, 2009).

La crianza de los cuyes en el Ecuador se realiza en confinamiento; a pesar de ello, las condiciones ambientales como el fotoperiodo, temperatura, humedad pueden afectar la fisiología del animal y determinar su estado productivo (Avilés et al., 2014). La reproducción es de gran importancia en los criaderos de cuyes y representa un gran indicador en la producción de carne. Una de las características importantes en la crianza del cuy es su fácil manejo y su ciclo reproductivo corto, por ello se debe aprovechar al máximo mejorando la fertilidad, prolificidad para alcanzar una alta productividad (Rodríguez et al., 2015).

La luz es un factor ambiental muy importante para la regulación de los procesos fisiológicos necesarios para la vida, influyendo en el estado productivo y reproductivo (Valdivia, 2002). Existe evidencia de que la luz es importante para activar ciertas respuestas biológicas, tales como los ritmos circadianos, la biosíntesis de vitamina D y el fotoperiodo (Quispe et al., 2021). El fotoperíodo induce cambios en la actividad reproductiva a través de modificaciones en la secreción de LH y FSH (Malpoux, 2006).

El control fisiológico del fotoperiodo depende de tres componentes esenciales: primero, un fotorreceptor de la luz y un ritmo circadiano que separa los días largos de los cortos; segundo lugar, una vía neuronal que conecta el sistema neuroendocrino del ritmo circadiano y, por último, el sistema endocrino, que incluye la secreción de gonadotropinas hipofisarias, el desarrollo gonadal y la retroalimentación gonadal a través de esteroides sexuales (Urviola & Fernández, 2017).

Según Roenneberg et al. (2003) las hormonas reproductivas se secretan a un ritmo circadiano y una exposición adecuada a los ciclos de luz/oscuridad siendo fundamental para la fisiología reproductiva del ser vivo. De manera que, en roedores no estacionales, un fotoperiodo largo mejora la función del eje pituitaria-gónada por medio de la inhibición de la melatonina y cuando es corto altera dicho eje por medio de la secreción de melatonina (Reiter, 1983, 1991; Valenti et al., 1995; Vanecek & Illnerová, 1985). Por otra parte, Miranda, (2016) enfatizó que la luz artificial estimula en los animales el consumo de alimento y la producción hormonal de FSH y LH.

Existen escasas referencias sobre los efectos de la luz en la reproducción de los cuyes. Bauer et al. (2008) indicó que la exposición a diferentes horas de luz provoca un crecimiento y un inicio más temprano de la madurez sexual en cuyes machos. Según Trillmich et al. (2009), en los cuyes existe un incremento en la concentración de testosterona lo que indica madurez, entre la edad de 56 a 70 días en fotoperiodos largos, presentándose un retraso de 14 días en fotoperiodos cortos. La T juega un papel clave en el desarrollo de los testículos y promueve las características sexuales secundarias, por lo que, se considera que los niveles elevados de T suelen indicar el inicio de la madurez en los mamíferos (Sisk & Zehr, 2005).

Bajo las consideraciones mencionadas, en esta investigación se aplicó luz artificial (12H, 18H, 24H) en cuyes macho durante 60 días en su etapa reproductiva con el fin de evaluar el efecto sobre algunas características relacionadas con la reproducción. La exposición a la luz artificial causa un cambio en el eje hipotálamo-hipófisis y habrá mayor producción de LH, por ende, mayor secreción de testosterona lo que ocurre en un aumento en el tamaño testicular y mayor cantidad de espermatozoides en el eyaculado (Lincoln et al., 1977; Ortavant et al., 1998). En días largos la variación del tamaño testicular se debe a un mayor número de espermatocitos y espermátidas (Thibault et al., 1966).

De manera que, el conocimiento de la interacción entre los animales y su entorno puede abrir perspectivas nuevas e innovadoras relacionadas con el tiempo y ritmo de exposición de los animales a la luz sea esta natural o artificial, con la finalidad de mejorar la producción y reproducción de los cuyes machos. Es por ello que, esta investigación muestra algunos de los efectos de la luz artificial sobre la concentración de testosterona, parámetros espermáticos, morfometría testicular, recuento de células espermáticas y diámetro de los túbulos seminíferos.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Evaluar la influencia de la luz artificial en la calidad espermática, morfometría testicular y concentración de testosterona de la especie *Cavia porcellus*.

2.2. Objetivos Específicos

- Valorar la morfometría testicular, en cuyes expuestos a diferentes horas de luz artificial.
- Evaluar el efecto de la exposición de luz artificial sobre la concentración de testosterona.
- Analizar la calidad espermática de los cuyes, sometidos a diferentes tiempos de exposición de luz artificial.

3. Revisión de Literatura

3.1. Generalidades

El cuy (*Cavia porcellus*) es un mamífero que tuvo su origen en Sudamérica en la región andina del Perú, Bolivia, Ecuador y Colombia, fue domesticado hace aproximadamente 3000 años y constituyó el alimento principal de los aborígenes (Crespo, 2012). Es un animal que se adapta muy bien a múltiples pisos altitudinales; se caracteriza por ser manejable, precoz, prolífico, de reproducción corta y de cuidado sencillo, su alimentación se basa principalmente en forraje verde, aunque se ha incorporado el uso sobrealimentos para acelerar su crecimiento (Andrade et al., 2021). Morfológicamente es un animal alargado, con una capa de diferentes colores predominando el blanco, bayo, alazán y negro, encontrándose también el agoutí; su pelaje puede ser simple y compuesto entre los colores mencionados (Rosales et al., 2021; Usca et al., 2022).

3.2. Anatomía y fisiología del aparato reproductor del macho

El aparato reproductor de los cuyes machos está conformado por los testículos, epidídimo, conductos deferentes, glándulas accesorias y el pene (Sotomayor, 2011).

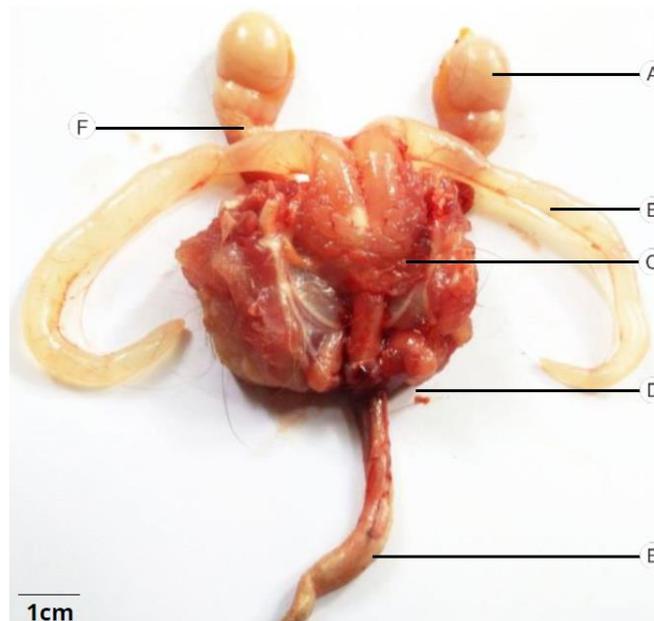


Figura 1. Aparato reproductor del cuy macho.

A testículos, **B** vesícula seminal, **C** próstata, **D** glándula bulbouretral, **E** pene, **F** epidídimo.

Fuente: (Mega & Khasanah, 2017).

3.2.1. Testículos

Los testículos se localizan en el abdomen a la altura de la vejiga; poseen una forma ovoide, miden 22 mm de largo, 12 – 18 mm de ancho y pesan entre 2,5 – 3 gramos (Harkness et al., 2002; Rosales et al., 2021). En un corte transversal presentan una cápsula que posee fibras elásticas y de colágeno y lo divide en lobulillos, estos están constituidos por la agrupación de túbulos seminíferos rodeado por tejido conjuntivo, los túbulos seminíferos se juntan y forman la rete testis (Aliaga, 2009).

Presentan tres compartimentos: compartimento extratubular que contiene vasos sanguíneos y linfáticos además de las células de Leydig (producen T), el peritubular que envuelve el túbulo seminífero, está compuesto por células mioideas, fibroblastos y fibras de colágeno y el compartimento intratubular posee células de Sertoli (Mega & Khasanah, 2017).

3.2.2. Epidídimo

El epidídimo está cubierto por tejido conectivo y cumple funciones de: reservorio y lugar de maduración de los espermatozoides; se divide en: cabeza, cuerpo y cola (Schimming et al., 2012). La cabeza está cubierta por una capa de tejido adiposo que constituye la túnica albugínea, cumple la función de maduración de los espermatozoides. El cuerpo conecta la cabeza con la cola y contiene el conducto epididimario regularmente enrollado, transporta a los espermatozoides. La cola actúa como un órgano de almacenamiento de los espermatozoides fértiles y de manera externa está cubierta por una túnica fibroelástica y fibras musculares que constituyen la túnica albugínea, con un largo de 12 mm y ancho de 9 mm (Aliaga, 2009; Fernández et al., 2006).

3.2.3. Conductos deferentes

Son conductos musculares que en el transcurso de la eyaculación desplazan a los espermatozoides desde la cola del epidídimo al conducto eyaculador de la uretra, mide 4 cm de largo por 3 cm de ancho y con un diámetro aproximado de 1,5 – 2,5 mm (Stan, 2015).

3.2.4. Glándulas accesorias

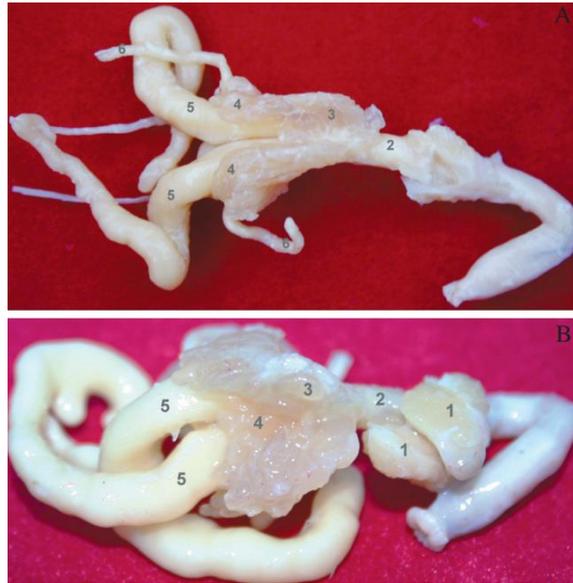


Figura 2. Glándulas accesorias del cuy. 1. Glándulas de Cowper 3. Próstata 4. Glándula coagulante
5. Glándulas seminales.

Fuente: (Vásquez & Del Sol, 2010).

3.2.4.1. Vesículas seminales

Están ubicadas en el piso de la pelvis, desemboca con los vasos deferentes mediante los conductos eyaculadores; miden 12 – 13 cm de largo por 0,6 cm de diámetro y pesan de 1 – 10 gramos, están sujetados por una membrana fibrosa vascularizada que posee curvatura mayor y menor anterior-lateral. La vesícula seminal proporciona una cantidad importante de contenido del líquido espermático, posee prostaglandinas, las cuales son importantes para la fertilidad por el efecto de contracción sobre el músculo liso (Aliaga, 2009; Quillahuaman, 2015).

3.2.4.2. Próstata

Situada dorsal a la uretra, constituida por epitelio glandular, recubierta por una capa de tejido fibroso y células de músculo liso; mide 20,25 mm de longitud por 15,10 mm de ancho y pesan 0,9 gramos. Está separada en lóbulos y formada por conductos; la secreción prostática posee un pH 6,5 ya que no posee azúcares reductores, fibrinolisisina, diesterasa y glucoronidasa siendo las responsables de la mucólisis del semen coagulado en las glándulas seminales (Matamoros, 1981; Vásquez & Del Sol, 2010).

3.2.4.3. Glándulas coagulantes

Son dos ubicadas a cada lado y cercanas a las glándulas seminales. La secreción de estas glándulas permite la coagulación de la secreción de las glándulas seminales formando un tapón vaginal después de la eyaculación (Gonzalo, 2012).

3.2.4.4. Glándulas bulbouretrales

Poseen un aspecto sacular, miden 8 mm de longitud por 5 mm de ancho; situada en el tercio posterior de la uretra, ventral al recto, dorsal a la sínfisis del pubis, consta de una cápsula fibrosa que contiene al parénquima multilobular. Son las encargadas de segregar una sustancia mucilaginoso, posee también ácido siálico, el cual se reduce cuando se castra al animal (Aliaga, 2009; Stan, 2015).

3.2.5. Pene

Es el órgano de la cópula y consta de las siguientes partes: glande, cuerpo peneano y sus raíces incluidas en el arco esquelético de la pelvis con una longitud de 45 mm y un diámetro de 5 mm. El pene posee dos cuerpos cavernosos que se encuentran lateralmente a la uretra y están compuestos de tejido vascularizado. El prepucio está conformado por tejido fibromuscular. El glande posee forma de cono incompleto con una hendidura en el lado ventral que en su centro está el meato urinario (Aliaga, 2009; Quillahuaman, 2015).

3.3. Histología del aparato reproductor del macho

Para el estudio histológico de los testículos del *Cavia porcellus* se utiliza la tinción con hematoxilina y eosina (H & E) para observar las células y los tejidos.

3.3.1. Testículos

Los testículos se encuentran rodeados por una membrana fibrosa llamada albugínea, y se caracteriza por poseer tres capas: 1) capa externa que es fina y en gran parte hialinizada; 2) capa media de fibras de colágeno que posee abundantes fibroblastos y fibras elásticas y 3) capa interna que es vascularizada y está en contacto con el testículo. Los túbulos seminíferos constan de dos tipos de células: células de Sertoli o células de soporte y células germinativas (espermatogénicas). La rete testis está cubierta por un epitelio escamoso simple (Aliaga, 2009; Vásquez & Del Sol, 2010).

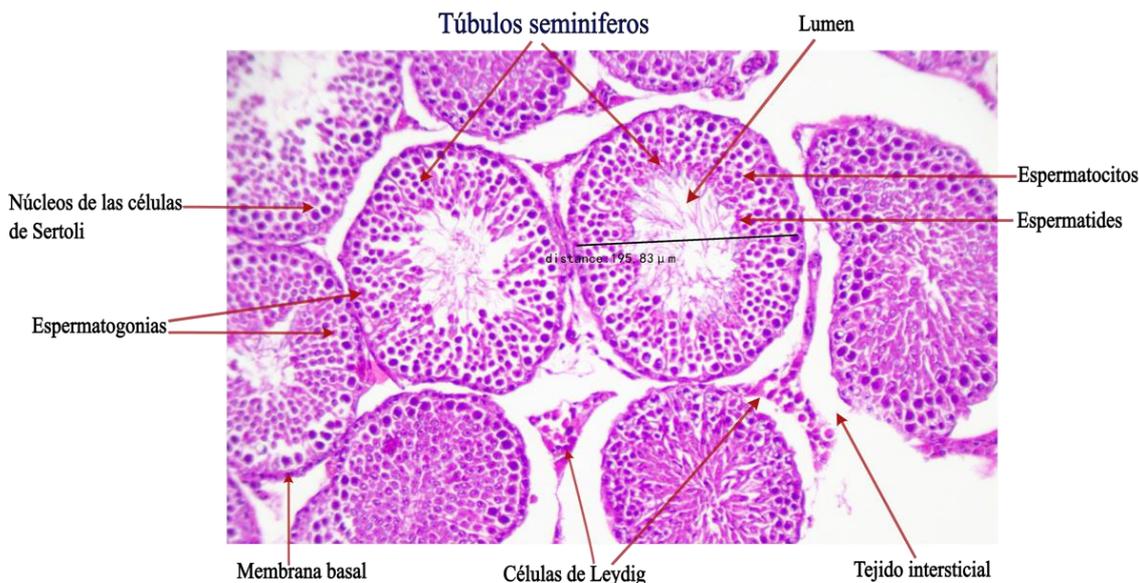


Figura 3. Corte histológico del testículo de cuy (*Cavia porcellus*).

Fuente: Autor.

3.3.2. Epidídimo

La cabeza del epidídimo tiene un epitelio cilíndrico alto, de tamaño medio en el cuerpo y epitelio cilíndrico bajo en la cabeza. El conducto en el epidídimo tiene células epiteliales columnares estratificadas, influye en la madurez espermática y el sistema locomotor de los espermatozoides (Mega & Khasanah, 2017).

3.3.3. Próstata

Está compuesta por abundantes unidades túbulo-alveolares de forma redonda, cubiertas por tejido conectivo denso y fibras musculares lisas. El epitelio secretor consta de células cúbicas con núcleos circulares u ovalados ocupando una posición central. El tejido estromal está conformado por adipocitos y fibras de colágeno con disposición laxa. Los conductos excretores de los lóbulos tienen un epitelio simple cúbico (Vásquez & Del Sol, 2010).

3.3.4. Vesículas seminales

Poseen una túnica mucosa que está recubierta por pliegues que se dirigen a la luz de la glándula; la lámina propia constituida por tejido conectivo laxo, esta se continúa con la capa media que posee tejido muscular liso y fibras de colágeno y por último la túnica externa o llamada también serosa (Vásquez & Del Sol, 2010).

3.3.5. Glándula bulbouretral

Los tabiques entre los lóbulos de la glándula contienen músculo liso. Está envuelta por una cápsula de tejido muscular esquelético y músculo liso (Mega & Khasanah, 2017).

3.3.6. Pene

Está rodeado por una túnica albugínea fibrosa sólida. El cuerpo cavernoso está envuelto por una capa de tejido conjuntivo, el cuerpo cavernoso y esponjoso consiste en tejido eréctil que contiene grandes cantidades de espacio cavernoso de las venas revestidos con células endoteliales y separados por trabéculas que consiste en fibras de tejido conectivo y células del músculo liso (Mega & Khasanah, 2017).

3.4. Endocrinología del macho

El sistema endocrino tiene una función importante en la integración y desarrollo del organismo en su etapa de crecimiento y mantenimiento de la reproducción; entre las principales hormonas están la FSH y LH que son producidas en la adenohipófisis y liberadas por la acción de la GnRH que es producida en el hipotálamo (Ptaszynska, 2007; Ramírez, 2006). La FSH tiene como función estimular la gametogénesis cuando estimula a las células de Sertoli. La LH estimula las células de Leydig para producir T (Bautista, 2018).

3.4.1. Testosterona

La T es considerada como la hormona sexual masculina, es secretada por las células de Leydig en los testículos y por la corteza adrenal; regulada mediante la retroalimentación hormonal que necesita señales del hipotálamo y la hipófisis (glándula pituitaria) y su liberación está dada por la hormona LH. Cumple las siguientes funciones: 1) estimula y acelera la espermatogénesis; 2) prolonga la vida de los espermatozoides en el epidídimo; 3) favorece el crecimiento, desarrollo y actividad de la próstata, glándulas vesiculares y bulbouretrales y el pene; 4) estimula el comportamiento sexual y la libido en el macho (Aliaga, 2009; Justel et al., 2010).

3.4.2. Calidad Seminal

El semen se compone de líquido seminal y espermatozoides. El líquido seminal se compone de secreciones de la próstata (incluidas las fosfatasa ácida, prótidos, lípidos y hexosas), las glándulas bulbouretrales y vesículas seminales. Estas secreciones proporcionan que se produzca la fertilización (Aliaga, 2009).

La calidad del semen se ve afectada por muchos factores, incluida la edad, el estado nutricional, la estación del año, la temperatura ambiental, la presencia de enfermedades e incluso el tiempo de abstinencia. Por tanto, la evaluación continua analiza aspectos

macroscópicos y microscópicos. Los parámetros macroscópicos considerados incluyen el volumen, el color, la viscosidad y el valor del pH, que pueden evaluarse en el eyaculado mediante dispositivos de medición. En cuanto a los parámetros microscópicos, dado que estos parámetros determinan la fertilidad de los machos, generalmente se requiere equipo tecnológico para una evaluación más precisa (Quispe, 2022).

3.4.2.1. Valoración de calidad seminal

El papel importante de los espermatozoides constituye el transporte del genoma nuclear y el centriolo, hasta llegar al ovocito. Por lo tanto, un análisis de semen ideal sería capaz de determinar oportuna y eficazmente el potencial de fertilización del semen mediante el estudio de las propiedades microscópicas y macroscópicas de los espermatozoides (Mellisho, 2010).

Hasta la fecha, se han presentado varios métodos de prueba para medir de forma rápida y precisa la calidad del semen y la eficiencia reproductiva del macho utilizando diferentes parámetros macroscópicos (color, volumen, densidad, pH), la evaluación microscópica incluye el análisis de la concentración, motilidad, vitalidad y morfología (Taday, 2022).

3.4.2.2. Evaluación macroscópica del semen

3.4.2.2.1. Color

El color normal del semen es gris claro, pero diversas condiciones patológicas pueden hacer que aparezcan de un color diferente (por ejemplo, leucocitosis (amarillo) o hemozoospermia (rojo/marrón)) (Ariagno & Mormandi, 2016). Por otra parte, según Tapia & Tello, (2016) menciona que el color normal del semen de cuy es de color blanco.

3.4.2.2.2. Volumen

De acuerdo con Maroto, (2020) el volumen del eyaculado varía con respecto a la especie animal y está medida en ml o cc. Durrant, (1990) reportaron que el volumen varía de 0,6 a 0,8 cc. mediante el uso de electroeyaculador.

3.4.2.2.3. Densidad

Está relacionada directamente con la concentración espermática, por lo que permite calificar al semen según su aspecto (Fuentes, 2015).

3.4.2.2.4. pH

Se considera que la concentración de esperma es inversamente proporcional al pH. El metabolismo del semen hace que el ambiente se vuelva ácido y la presencia de contaminantes como la orina y procesos inflamatorios hacen que el ambiente se eleve por encima de los niveles normales. En evaluación después de la recolección de semen (pHmetro / tiras de pH), el pH del cuy es aproximadamente 7,4 (Arencibia & Rosario, 2009).

3.4.2.3. Evaluación microscópica del semen

Esta es una de las características importantes para la evaluación de muestras espermáticas. Se trata de una evaluación de la motilidad de los espermatozoides, valorando tanto los movimientos individuales como los de masa y el objetivo del uso de la cámara de Neubauer es realizar conteo de células en un medio líquido para conocer la concentración de espermatozoides (Castro & González, 2019).

Los espermatozoides en mamíferos, como en el caso de los cuyes están compuestos estructuralmente por dos partes principales, la cabeza y la cola (Tulsiani & Abou, 2012). La cola está subdividida en cuatro regiones importantes: cuello, pieza intermedia, pieza principal y pieza terminal (fig.5).

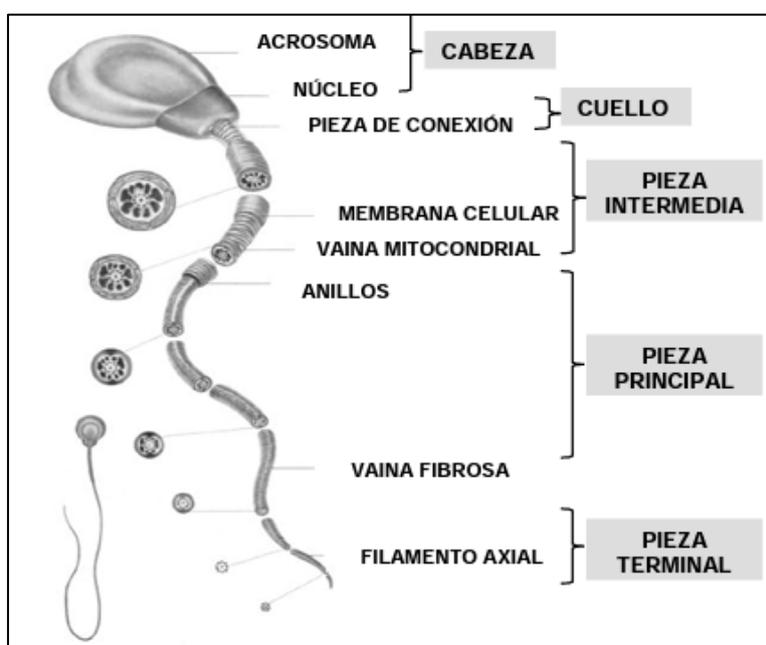


Figura 4. Partes fundamentales del espermatozoide del cuy.

Fuente: (Fawcett, 1965).

La conformación del espermatozoide es: 1) cabeza: posee un núcleo con un conjunto haploide de cromosomas; 2) cola o flagelo: proporciona movilidad y contiene entre 80-85 mitocondrias que generan ATP; 3) acrosoma: contiene enzimas que asisten a los espermatozoides en la penetración del óvulo durante la fertilización (fig.6) (Pinduisaca, 2018). Según Aliaga, (2009) la cabeza del espermatozoide del cuy es ovalada, lo que está relacionado con la forma del núcleo y con el acrosoma, en un estudio de las medidas morfométricas del espermatozoide de cuy nativo y mejorado del sur de Ecuador la longitud

de la cabeza en cuyes mejorados fue de 11,87 μm y con un ancho de cabeza de 10,17 μm , mientras que la longitud de la cola 82,76 μm (Rosales et al., 2021; Tapia & Tello, 2016).



Figura 5. Espermatozoide de cuy.

Fuente: Autor.

3.4.2.3.1. Recuento y concentración de espermatozoides

El recuento total de los espermatozoides se calcula en función de la concentración y el volumen de espermatozoides; generalmente se lo realiza a través del recuento celular directo con el uso de un hemocitómetro o una cámara de Neubauer (Ayala & Morejon, 2015; Benavides et al., 2020).

Por tanto, la motilidad de los espermatozoides se determina inmediatamente después de la recolección del semen, se coloca una gota de semen puro en un portaobjetos precalentado a 37°C y posterior observación bajo el microscopio. Los espermatozoides deben moverse hacia adelante y hacia atrás a lo largo del campo de visión del microscopio, no obstante, en los cuyes los espermatozoides tienen la particularidad de ser curvos e irregulares y generalmente tienden a agruparse en una cabeza conocida como rouleaux (Tapia & Tello, 2016).

3.4.2.3.2. Morfología espermática

Al referirse a esta evaluación, se basa en una relación directa entre la proporción de espermatozoides anormales en la eyaculación, tipo de defecto morfológico y la relación con la fertilidad in vivo (Fuentes, 2015).

3.5. Relación fotoperiodo-reproducción

El fotoperiodo es el momento del día durante el cual un animal se expone a la luz, estos cambios en la disponibilidad de luz ambiental tienen efectos importantes en los animales. En muchas especies, el fotoperiodo regula ciertos mecanismos biológicos, incluida la reproducción y que está regulado por ritmos hormonales endógenos, especialmente en especies que se reproducen estacionalmente (Correa & Fernández, 2017). En los mamíferos esta regulación puede incluir la acción de la melatonina que es secretada por la glándula pineal por la noche (Chemineau, 1993). Por tanto, la intensidad y longitud de la onda de luz que incide sobre la retina afectará la concentración de melatonina que es mayor en la noche y menor durante el día (Lincoln, 1992). El fotoperiodo coordina las señales neuroendocrinas que alteran la secreción de melatonina provocando cambios a nivel molecular hasta el conductual (Correa & Fernández, 2017).

Los receptores de melatonina están presentes en el SNC, en la glándula pituitaria, las células de la granulosa de folículos preovulatorios y los espermatozoides, entre otros. Uno de sus efectos se puede observar en la fuerte estacionalidad de la reproducción de algunas especies que se encuentran en latitudes más alejadas de la línea ecuatorial (Quispe, 2022).

La edad adulta es un parámetro de la historia de vida particularmente importante porque predice en gran medida el éxito reproductivo de varios mamíferos pequeños (Bauer et al., 2008; Randy et al., 1997; Trillmich et al., 2009). El inicio de la reproducción aumenta los costos fisiológicos a medida que cambia el metabolismo y aumentan las actividades conductuales como la búsqueda de pareja y el cortejo (Touma et al., 2003). Por lo tanto, el momento de la madurez sexual puede tener profundas consecuencias para el éxito reproductivo Romero, (2004) debiendo los animales optimizar dicho momento respondiendo a estímulos ambientales.

Los cavia (género *Cavia*) son roedores de tamaño mediano que paren muy temprano después de una gestación relativamente larga de aproximadamente dos meses (Randy et al., 1997). Al nacer, las crías pueden moverse de forma independiente, tienen sistemas sensoriales y termorreguladores completamente desarrollados e incluso comienzan a buscar alimento sólido desde el primer día (Trillmich et al., 2009). Por tanto, el desarrollo somático y reproductivo parece incluso más sensible al fotoperiodo temprano en los machos que en las hembras ya que reaccionan también a los fotoperiodos estáticos, mientras que las hembras sólo reaccionan a los fotoperiodos cambiantes (Randy et al., 1997).

Se ha demostrado cierta sensibilidad al fotoperíodo en especies que no se reproducen estacionalmente, por ejemplo, en los cuyes machos bajo un fotoperiodo artificial de 16 horas

de luz y 8 horas de oscuridad a 25°C (fotoperiodo largo), estos alcanzaron pesos corporales y concentraciones de testosterona más altos en comparación con fotoperiodos cortos de 8 horas de luz y 16 horas de oscuridad a 15°C, lo que indica que los machos alcanzan la pubertad antes (Bauer et al., 2008). De manera similar, en los cuyes silvestres (*Cavia aperea*), el fotoperiodo puede desempeñar un papel valioso en la iniciación reproductiva de las hembras al proporcionar señales importantes sobre condiciones ambientales más oportunas (Trillmich et al., 2009).

3.5.1. Fotoperiodo - morfometría testicular y calidad seminal

Se sabe que es necesario un adecuado equilibrio energético-proteico para el pleno desarrollo de los testículos. De manera similar, la capacidad de los testículos de responder a los cambios estacionales en el fotoperiodo está relacionada con la densidad de las poblaciones de receptores de FSH y LH aspectos que está relacionado con los cambios en las concentraciones de testosterona durante la involución y la recuperación de la actividad testicular (Robinson & Karsch, 1984).

Gerlach & Aurich, (2000) mencionan que el fotoperiodo se manifiesta presentando agrandamiento en la talla testicular, mayor producción de T, mayor secreción espermática y por ende mayor libido.

3.5.2. Fotoperiodo - testosterona e histología

La GnRH envía una señal a la adenohipófisis e induce la secreción de FSH y LH, luego estas viajan por el sistema circulatorio hacia los testículos, donde la FSH actúa sobre las células de Sertoli que están localizados al interior de los túbulos seminíferos y su función es apoyar el desarrollo de los espermatozoides, mientras que la LH actúa sobre las células de Leydig estimulando la producción y secreción de la testosterona (Bustos & Torres, 2012).

Los andrógenos se sintetizan principalmente en las células de Leydig, las que se encuentran en el tejido intersticial de los testículos (Amann & Schanbacher, 1983). La T se produce en las células de Leydig, se libera por difusión simple o facilitada y se metaboliza a estrógenos y dihidrotestosterona. El estrógeno se libera en la sangre y la dihidrotestosterona se libera nuevamente en los túbulos seminíferos (Rivera, 2003).

Por ello, la testosterona juega un papel importante en el desarrollo de las células espermáticas de los testículos y en los caracteres sexuales secundarios (Bauer et al., 2008).

4. Materiales y Métodos

4.1. Materiales

4.1.1. Materiales físicos

- Cuatro pozas de 1 x 1,2 x 0,50 metros cada uno
- Instrumentos de limpieza
- Balanza de precisión (BPS Plus BOECO)
- Baño María (Mettler, W350, Alemania)
- Cámara fotográfica
- Focos LED ECOLED de 15 W
- Fundas ziploc
- Cooler
- Equipo de disección
- Caja Petri
- Pipetas automáticas de 2 – 20 µl, 20 – 200 µl y de 200 – 1000 µl (Boeco®, Alemania)
- Puntas de pipetas automáticas (blancas, amarillas, azules)
- Jeringa 1 ml
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Tubos eppendorf de 1,5 ml
- Guantes de examinación
- Calibrador digital de Vernier
- Envases de orina
- Tubo tapa roja 5 ml
- Microscopio de contraste de fases (Nikon Eclipse, Nikon Instruments Inc., New York, USA)
- Programa CASA-SCA (Sperm Class Analyzer, SCA-Evolution® 2018, v.6.4.0.99 software. Microptic S.L., Barcelona, España)
- Cámara de Neubauer
- Bisturí
- Platina térmica

4.1.2. Materiales biológicos

- Testículos de cuy
- Muestras de sangre

4.1.3. Materiales químicos

- Diluyente Botu Semen Special® (SKU: 550/Botu/Special, BotuPharma, Brasil)
- Formaldehído al 2%
- Hepes (Fluorescencia/ Salt, NaCl, KOH, glucosa, agua destilada)
- Yoduro de propidio (PI, Sigma P4170)
- Formol al 10%

4.2. Métodos

4.2.1. Área de estudio

La investigación se desarrolló en la comunidad de “Rosas Loma” de la parroquia Sinincay perteneciente al cantón Cuenca de la provincia del Azuay, sus coordenadas son 2°51'04.0"S 79°00'16.7"W, y se encuentra a una altitud de 2688 m.s.n.m. Este sector presenta un clima templado con temperaturas que oscilan entre los 13 a 15°C, posee una pluviosidad inferior a los 1000 mm de lluvia al año.



Figura 6. Ubicación territorial de la investigación. Azuay – Sinincay – Rosas Loma.

Fuente: (Google Maps).

4.2.2. Diseño experimental

Para este experimento se aplicó un diseño completamente al azar (DCA). Se utilizaron 48 cuyes machos, clínicamente sanos, distribuidos al azar en cuatro grupos de acuerdo a los siguientes tratamientos según la exposición a la luz:

- T1= 24 horas de luz artificial (n=12 cuyes)
- T2= 18 horas de luz artificial (n=12 cuyes)
- T3= 12 horas de luz artificial (n=12 cuyes)
- T4= 0 horas de luz artificial (n=12 cuyes)

Se consideraron las siguientes variables:

- Variable independiente:
 - Exposición a la luz artificial
- Variables dependientes:
 - Morfometría testicular
 - Parámetros espermáticos
 - Concentración de testosterona
 - Histología testicular

4.2.3. Animales y alojamiento

Las condiciones de iluminación fueron adecuadas de acuerdo a cada tratamiento, se trabajó con 48 cuyes machos mestizos de la línea Perú, procedentes del cantón Paute de la provincia del Azuay, con una edad de 2 meses y un peso promedio de $910,83 \pm 5,83$.

Los animales fueron colocados en pozas de 1 x 1,2 x 0,50 metros. Previo al inicio de la investigación se desparasitó con Iverfull® polvo (Fenbendazol + Ivermectina) a través del balanceado para el control de parásitos externos e internos. La alimentación fue mixta a base de forraje en 30% de su peso vivo con ray grass (*Lolium multiflorum*) y alfalfa (*Medicago sativa*) administrados dos veces al día (7 a.m. y 5 p.m.) y suplementada con sobrealimento (harina de maíz, afrecho de trigo) *ad libitum*.

4.2.4. Exposición a la luz artificial

El estudio duró sesenta días. La infraestructura fue acondicionada de acuerdo a los requerimientos de dotación de luz artificial en cada uno de los tratamientos evitándose el contacto con la luz natural.

La luz artificial fue proporcionada en cada poza mediante el uso de focos LED ECOLED de 15 W de potencia y una intensidad de 90 – 130 V de fondo blanco, y de este modo se asignó cuatro tratamientos de la siguiente manera:

- Tratamiento 1 (T1): se mantuvo siempre con luz encendida y nulo contacto con la luz natural (24 H).
- Tratamiento 2 (T2): luz artificial entre las 6h00 y las 12h00 (18 H).
- Tratamiento 3 (T3): luz artificial entre las 6h00 y las 18h00 (12 H).
- Tratamiento 4 (T4): oscuridad permanente.

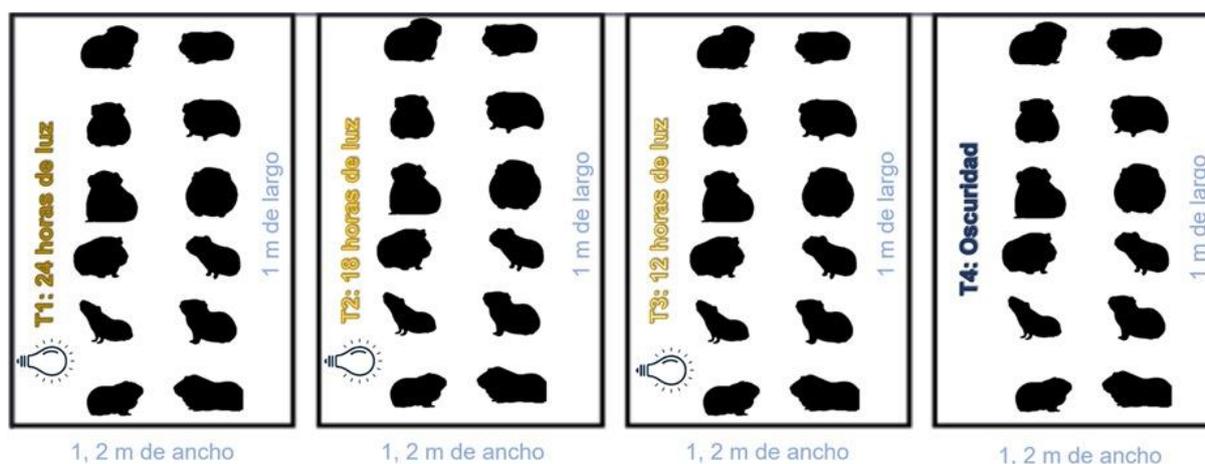


Figura 7. Esquema de iluminación en cada tratamiento.

Fuente: Autor.

4.2.5. Medición de testosterona

La medición de testosterona (T) se realizó en todos los 12 cuyes de cada tratamiento, en los días 1, 30 y 60 del trabajo experimental. Se recolectó muestras de sangre de la vena safena con una jeringa de 1 ml y se colocó en un tubo de tapa roja. Todas las muestras se tomaron a las 5 a.m., en ayuno en los días de obtención de muestras sanguíneas. El método utilizado para la cuantificación de la testosterona en suero fue el Sistema de Inmunoensayo por Quimioluminiscencia (CLIA) mediante el equipo Maglumi 2000 en el Laboratorio clínico CENBIOCLI S.A.

4.2.6. Protocolo de castración

Los cuyes fueron castrados mediante la técnica quirúrgica desde las 5:30 a.m. hasta las 7 a.m., para lo cual se siguió los siguientes pasos: Primero, los animales se sujetaron, se identificaron los testículos y se fijaron en los dedos del cirujano. Luego, se desinfectó con clorhexidina la zona procediendo a realizar anestesia local inyectando 0,5 ml de lidocaína en cada testículo. Seguidamente se realizó una incisión en cada testículo para su extirpación y

saturación de la piel externa. Finalmente se colocó clorhidrato de oxitetraciclina en la zona de la cirugía para evitar infecciones.

Luego de la castración quirúrgica, los testículos fueron colocados en fundas ziploc® rotuladas (tratamiento, testículo derecho o izquierdo, ID del cuy) y almacenadas en un cooler. Inmediatamente, los testículos fueron transportados en un lapso de una hora con quince minutos al laboratorio para el análisis de la morfometría testicular y los parámetros espermáticos.

4.2.7. Morfometría testicular

En el laboratorio, los testículos y los epidídimos junto con los conductos deferentes fueron diseccionados y colocados en cajas Petri. A continuación, con el uso de una balanza de precisión se registró el peso individual de los testículos y epidídimos. Las mediciones de la longitud, ancho y espesor del testículo se realizaron utilizando un calibrador de Vernier.

Para calcular la densidad testicular se usó la fórmula $\frac{\text{peso de los testículos (g)}}{\text{volumen de testículos (cc)}}$ descrita por Ali Abdullahi et al. (2012). Para calcular el volumen testicular se usó el método descrito por Junaidi & Martin, (2013), $(\text{ancho} \times \text{largo} \times \text{altura}) \times 0,52$, la misma que asume que los testículos son elipsoides.

4.2.8. Análisis de parámetros espermáticos

Las muestras espermáticas epididimarias fueron recolectadas mediante la técnica de flujo retrógrado descrita por Galarza et al. (2023) administrando 0,5 ml de diluyente Botu Semen Special® pre-refrigerado a 5°C a través del conducto deferente y luego la cola del epidídimo fue cortada transversalmente tres veces. Las muestras espermáticas se recuperaron por pipeteo y fueron colocadas en tubos Eppendorf de 1,5 ml. Finalmente, las muestras individuales se atemperaron en baño María antes de su evaluación.

Tabla 1. Diluyente Botu Semen Special

Reactivo	Cantidad
Botu Semen – Special®	8,5 g
Agua purificada	100 ml

Se almacenó en alícuotas de 50 µl y se congeló a -20°C.

4.2.8.1. Concentración espermática

La concentración espermática de cada una de las muestras epididimarias fue determinada mediante el uso de una cámara de Neubauer. Previamente, se preparó una dilución de 1:200 (muestra espermática: agua formolada) que fue utilizada para cargar la cámara de Neubauer para el recuento de espermatozoides en cinco cuadrantes. El resultado de la cámara se multiplica por el factor de dilución 200×5 y por 10000 y da como resultado en millones por ml. El conteo de espermatozoides se realizó mediante un microscopio de contraste de fases y objetivo 40 X (Nikon Eclipse, Nikon Instruments Inc., New York, USA).

4.2.8.2. Motilidad espermática

La motilidad espermática y los parámetros cinéticos de los espermatozoides se evaluaron objetivamente utilizando el Sistema CASA (Sperm Class Analyzer, SCA-Evolution® 2018, v.6.4.0.99 software. Microptic S.L.) acoplado a un microscopio de contraste de fases (Nikon Eclipse modelo 50i, contraste negativo). Se colocó una alícuota de 5 μl de cada muestra en un portaobjetos calentado a 37 °C y cubiertos con un cubreobjetos. Se evaluaron tres campos y 200 trayectos de espermatozoides con objetivo 100 X (velocidad de adquisición de imágenes 25 fotogramas/segundo). Se evaluaron las siguientes características cinemáticas: el porcentaje de motilidad espermática total (TM), el porcentaje de motilidad espermática progresiva (PSM), la velocidad curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$), la velocidad media de la trayectoria (VAP, $\mu\text{m/s}$), la velocidad en línea recta (VSL, $\mu\text{m/s}$), rectitud (STR, %), linealidad (LIN, %), bamboleo (WOB, %), amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (ALH, μm) y frecuencia de batida de flagelo (BCF, Hz) siguiendo lo descrito por (Galarza et al., 2020).

4.2.8.3. Integridad del acrosoma

La integridad del acrosoma se evaluó por inspección visual directa de los espermatozoides utilizando un microscopio de contraste de fases (Nikon Eclipse, Nikon Instruments Inc., New York, USA). Para esto, previamente, los espermatozoides de cada muestra espermática epididimaria fueron fijados en formaldehído al 2% en PBS y se colocó una muestra de 10 μl sobre una lámina de portaobjetos para su recuento. Se contaron 200 espermatozoides por cada muestra. Se usó la técnica descrita por (Soler et al., 2005).

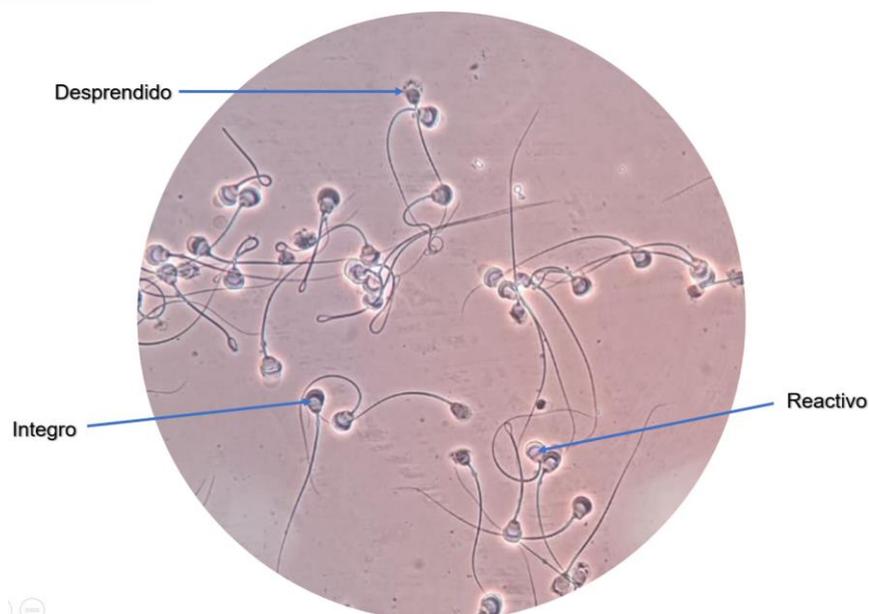


Figura 8. Integridad del acrosoma del T4.

Fuente: Autor.

4.2.8.4. Vitalidad

La vitalidad espermática se evaluó indirectamente mediante el análisis de la integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides, para ello se utilizó la sonda fluorescente: yoduro de propidio (PI, Sigma P4170) tal como describen Galarza et al. (2018). Se examinaron un total de 100 espermatozoides por portaobjetos utilizando un microscopio óptico de epifluorescencia Nikon Eclipse E200 (Nikon Instruments Inc., New York, NY, USA) con un filtro de paso de triple banda (40 X aumentos, con una excitación: 450 - 490 nm, y emisión: 520 nm) y se clasificaron en dos categorías: 1) vivos: membrana plasmática intacta, células no teñidas y 2) muertos: membrana plasmática dañada, células teñidas de rojo. En la siguiente tabla se detalla los reactivos que se ocuparon en la elaboración de la tinción.

Tabla 2. Medio de HEPES para fluorescencia

Reactivo	Cantidad
Hepes Salt	476,62 mg
Cloruro de sodio	115,27 mg
KOH	16,5 mg
Glucosa	198,77 mg
Agua destilada	100 ml

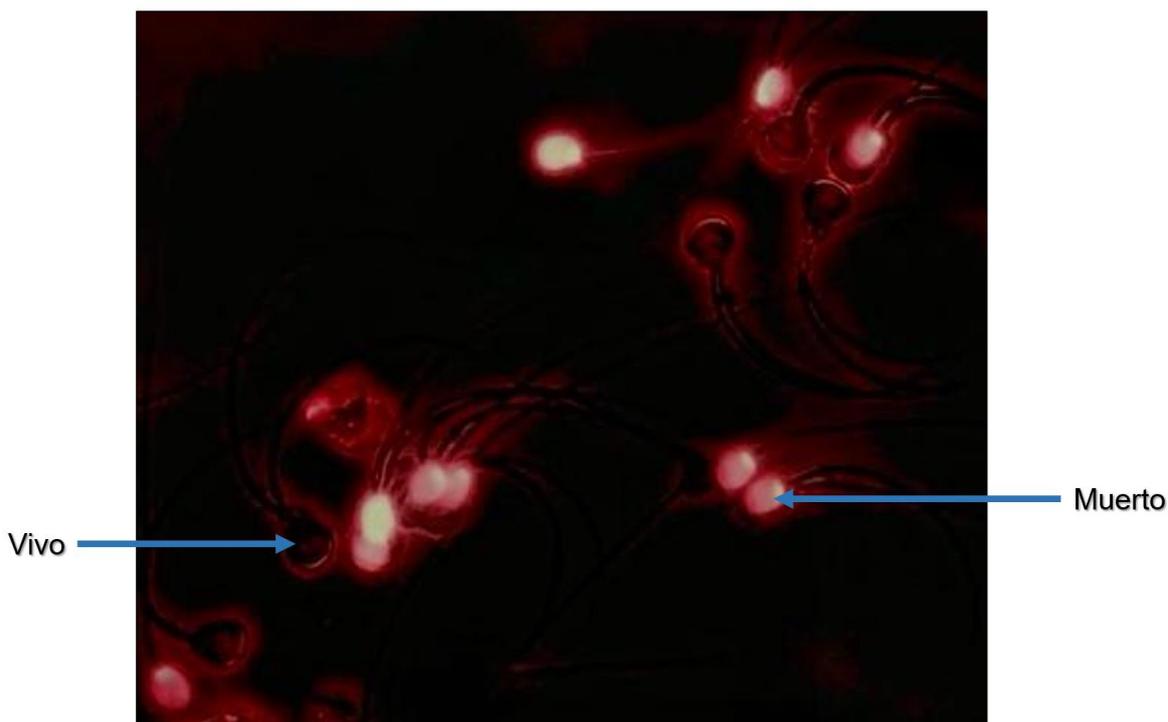


Figura 9. Epifluorescencia con emisión de 450- 490 nm y emisión de 520 nm para vitalidad espermática del T1.

Fuente: Autor.

4.2.9. Histología

Para la histología se utilizaron 24 testículos (izquierdo y derecho) por cada tratamiento, 96 testículos en total. El recuento de las células espermáticas de los túbulos seminíferos y el intersticio se realizó de acuerdo a la morfología de cada célula y en cinco campos histológicos de secciones transversales claras y nítidamente redondeadas de cada cuy, se utilizó un microscopio óptico (Olympus Tough, TG-6 System) con lente 10 X.

Previamente, los testículos fueron seccionados en tres regiones y se fijaron en solución de formalina. Posteriormente, con formaldehído al 10% en PBS, seguido de un lavado y deshidratación con concentraciones crecientes de etanol. Luego se realizó la inmersión en parafina líquida y corte en secciones sagitales del tejido en el microtomo a 5 micras. A continuación, se montó en la plancha caliente y se dejó secar las muestras eliminando los restos de parafina con xilol. Los tejidos se tiñeron con hematoxilina y eosina (H&E), luego fueron deshidratados con etanol y aclarados con xilol. Finalmente, la sección teñida fue cubierta con resina y un cubreobjetos antes de la observación y recuento celular en el microscopio.

Las secciones oblicuas o longitudinales no se tuvieron en cuenta durante el recuento de células espermatozógenas.

4.2.10. Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el programa IBM SPSS Statistics v.26. Se realizaron pruebas de normalidad y de acuerdo a los resultados se aplicaron pruebas paramétricas o no paramétricas. Para aquellos datos que presentaron normalidad se aplicó el análisis de varianza (ANOVA). El análisis post hoc se realizó mediante la prueba de comparación múltiple “Duncan” ($p < 0,05$).

5. Resultados y Discusión

5.1. Morfometría testicular

La Tabla 1 muestra los valores correspondientes al peso de los testículos y epidídimos. No se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$), excepto en el peso del epidídimo derecho en donde se observa un valor mayor ($p < 0,05$) para los cuyes que se mantuvieron en oscuridad (T4) en relación a aquellos expuestos a luz artificial T1 y T2 en los que se obtuvo valores muy inferiores.

En una investigación realizada por Rosales et al. (2021), se menciona un peso de 2,1 g para testículo izquierdo y derecho en animales criados en condiciones ambientales no controladas, este valor es diferente a lo encontrado en la nuestra investigación bajo condiciones controladas de luminosidad, observándose en todos los tratamientos valores superiores para ambos testículos; notándose los pesos más altos en los animales expuestos a 18 horas de luz artificial (T3).

Kus et al. (2003), en su estudio sobre los efectos del fotoperiodo en los testículos de ratas Wistar dedujo que un fotoperiodo prolongado provoca un aumento en el peso testicular y en los niveles de testosterona sérica, determinando que la exposición constante o fotoperiodos prolongados suprime la síntesis de la melatonina en la glándula pineal y esto disminuye el efecto inhibitor de la melatonina sobre las gónadas, lo que conduce a un aumento de las funciones gonadales.

Unchupaico et al. (2022) en un estudio sobre la motilidad y concentración espermática del líquido seminal del epidídimo en cuyes, analizaron los pesos de los epidídimos a diferentes edades, obteniendo un valor promedio de 1,56 g en epidídimo izquierdo y derecho a los cuatro meses, siendo un valor mayor a lo encontrado en nuestra investigación.

No existen reportes hasta la fecha sobre la influencia de la luz artificial sobre el peso de los epidídimos. Este estudio también constituye el primer reporte sobre el efecto de la luz artificial en los pesos de los epidídimos derecho e izquierdo de la especie.

Tabla 3. Peso de testículos y epidídimos (media \pm SEM) de cuyes sometidos a diferentes tiempos de exposición a la luz artificial

Pesos testículo/epidídimo	T1: 24 H	T2: 18 H	T3: 12 H	T4: control
PTI (g)	2,66 \pm 0,76	2,99 \pm 0,80	2,48 \pm 0,54	2,56 \pm 0,81
PTD (g)	2,93 \pm 0,69	2,99 \pm 0,94	2,64 \pm 0,44	2,53 \pm 0,67
PEI (g)	0,52 \pm 0,47	0,49 \pm 0,08	0,44 \pm 0,11	0,52 \pm 0,11
PED (g)	0,46 \pm 0,54 ^{ab}	0,43 \pm 0,07 ^a	0,56 \pm 0,09 ^{bc}	0,59 \pm 0,09 ^c

Pesos: PTI: peso testículo izquierdo, PTD: peso testículo derecho; PEI: peso epidídimo izquierdo; PED: peso epidídimo derecho. ^(a-c) Diferentes superíndices en cada fila expresan diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos.

Con respecto a las variables morfométricas (Tabla 2); el espesor del testículo izquierdo (ETI) encontrado en T1, T2 y T4 fueron mayores y significativamente diferentes ($p < 0,05$) en comparación con T3. El espesor del testículo derecho (ETD) de los cuyes expuestos a 24 h y 18 h de luz fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en comparación con el T3. Según Bellastella et al. (1998) informa que la función gonadal y la actividad sexual es reducida cuando hay fotoperiodos cortos, esto podría ser explicado porque el tratamiento 3 obtuvo un espesor más pequeño.

El diámetro de los túbulos seminíferos en los testículos de los cuyes expuestos a 24 h de luz artificial (T1) fue significativamente mayor ($p < 0,05$) al encontrado en los cuyes que se mantuvieron en oscuridad (T4); pero no se encontraron diferencias ($p > 0,05$) en comparación con los cuyes del T2 y T3.

Chuchuca, (2023) en su estudio del aparato reproductor del cuy macho en ambientes no controlados, menciona valores menores a los de este estudio en las variables largo (12,50 a 17,06 mm) y ancho (8,99 a 11,31 mm) testicular en relación a los datos obtenidos en esta investigación, por el contrario, en cuanto al volumen obtuvo un valor superior (989,86 a 1955,88 mm³). La diferencia entre estudios puede deberse a la edad de los animales valorados o a la influencia del fotoperiodo artificial que se les aplicó en el estudio. Esto puede ser explicado por la estimulación lumínica, que provoca un incremento en la secreción de FSH y LH, por ende, los testículos crecen más rápido considerando que el desarrollo gonadal es general en todas las especies y lo único que difiere es el mecanismo neurológico para activar el sistema hipotálamo-hipófisis (Bustos & Torres, 2012).

Pino, (2015) determinó que los testículos en los cuyes miden aproximadamente 16,3 mm de largo el izquierdo y 17,5 mm el derecho, un ancho de 12,5 mm en el izquierdo y 13 mm en el

derecho, datos que son menores tanto en largo como en ancho al que obtuvimos en el estudio. Rosales et al. (2021) estudiaron la morfología del testículo (largo, ancho, espesor, volumen, densidad e índice gonadosomático) obteniendo valores de 2,1 cm, 1,6 cm, 1,2 cm, $1,9 - 2 \text{ cm}^3$, $1,1 \text{ g/cm}^3$ y 0,004 respectivamente para las variables mencionadas, estos valores son similares con lo encontrado en el presente estudio.

Aponte et al. (2018) evaluaron la influencia de la anti-GnRH sobre morfometría testicular, histopatología y respuestas endocrinas en conejos, cobayas y corderos en donde el diámetro de los túbulos seminíferos en el grupo control de los cuyes fue de 218,5 μm , valor que es similar a los obtenidos en nuestra investigación.

Con respecto a lo anterior Salvetti et al. (2005) realizó un estudio de fotoperiodo en ratón para valorar el diámetro de los túbulos seminíferos con tres grupos: C (6:00 am a 20:00 p.m. de luz), grupo L (24 horas de luz) y el grupo O (oscuridad) y obteniendo valores para el grupo C 219,21 μm , el grupo L 234,14 μm y el grupo O 227,62 μm con estos resultados se puede ver que la luz tiene un efecto importante sobre el diámetro de los túbulos seminíferos ya que el 90% de túbulos seminíferos estuvieron en espermatogénesis avanzada.

Olatunji & Sofola, (2001) llevó a cabo un estudio en 15 ratas para ver el efecto de la luz y la oscuridad sobre el eje pituitario gonadal fueron divididos en tres grupos de animales: grupo 1 control (12L/12O), grupo 2 luz continua, grupo 3 oscuridad continua; y como resultado se obtuvo que las ratas expuestas a luz continua se observaron que los túbulos seminíferos contenían más espermatozoides y estaban bastante espaciados debido a una mayor masa de tejido intersticial, mientras que del grupo 3 los túbulos seminíferos parecían contener poco o ningún espermatozoide y el tejido intersticial casi no se veía.

Tabla 4. Características morfométricas (media \pm SEM) de los testículos y los túbulos seminíferos de cuyes expuestos a diferentes tiempos de exposición a la luz artificial

Variables morfométricas	T1: 24 H	T2: 18 H	T3: 12 H	T4: Control
LTI (mm)	25,71 \pm 4,06	25,52 \pm 4,47	23,94 \pm 4,18	23,14 \pm 2,20
LTD (mm)	25,47 \pm 3,67	25,28 \pm 4,51	24,53 \pm 3,58	22,91 \pm 2,49
ATI (mm)	16,30 \pm 1,79	16,98 \pm 1,39	15,91 \pm 1,58	16,42 \pm 1,82
ATD (mm)	17,14 \pm 1,25	17,21 \pm 1,54	16,45 \pm 1,08	16,50 \pm 1,96
ETI (mm)	10,22 \pm 1,45 ^a	9,91 \pm 1,09 ^a	8,56 \pm 0,95 ^b	9,84 \pm 1,06 ^a
ETD (mm)	10,28 \pm 1,43 ^a	10,12 \pm 0,74 ^a	8,86 \pm 1,00 ^b	9,74 \pm 1,10 ^{ab}
VTI (mm ³)	2,28 \pm 0,70	2,29 \pm 0,72	1,73 \pm 0,54	1,96 \pm 0,42
VTD (mm ³)	2,38 \pm 0,74	2,33 \pm 0,66	1,87 \pm 0,45	1,94 \pm 0,49
DTI (g/mm ³)	1,19 \pm 0,23	1,34 \pm 0,20	1,48 \pm 0,27	1,32 \pm 0,36
DTD (g/mm ³)	1,27 \pm 0,25	1,28 \pm 0,24	1,44 \pm 0,24	1,32 \pm 0,27
IG	0,004 \pm 0,0008	0,004 \pm 0,0009	0,003 \pm 0,0007	0,003 \pm 0,001
DTS (μ m)	202,45 \pm 2,81 ^a	197,30 \pm 2,51 ^{ab}	194,14 \pm 2,38 ^{ab}	191,90 \pm 2,53 ^b

Variables morfométricas: LTI: largo testículo izquierdo; LTD: largo testículo derecho; ATI: ancho testículo izquierdo; ATD: ancho testículo derecho; ETI: espesor testículo izquierdo; ETD: espesor testículo derecho; VTI: volumen testículo izquierdo; VTD: volumen testículo derecho; DTI: densidad testículo izquierdo; DTD: densidad testículo derecho; IG: índice gonadosomático; DTS: diámetro túbulo seminífero. ^(a-c) Diferentes superíndices en cada fila expresan diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos.

5.2. Concentraciones de testosterona

Las concentraciones plasmáticas de T en diferentes días de muestreo de exposición a la luz artificial se representan en la Figura 8. En el día 1 la concentración media de testosterona/ml en los cuyes del T1 (1,06 ng/ml) y T2 (1,14 ng/ml) fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) a los del T3 (0,46 ng/ml) y control (0,53 ng/ml). En el día 30 no se encontraron diferencias en la concentración de T entre los tratamientos (T1: 2.3; T2: 2.07; T3: 2.12 y T4 (control): 3.5 ng/ml respectivamente). Sin embargo, en el día 60 la concentración plasmática de testosterona fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en el T3 (5,22 ng/ml) en comparación con el T2 (2,76 ng/ml), pero mostraron concentraciones plasmáticas de testosterona similares a T1 (3,97 ng/ml) y el control (4,95 ng/ml). Adicionalmente, la concentración plasmática de testosterona en los cuyes aumentó significativamente ($p < 0,05$) desde el día 1 al día 30 y 60 en todos los tratamientos.

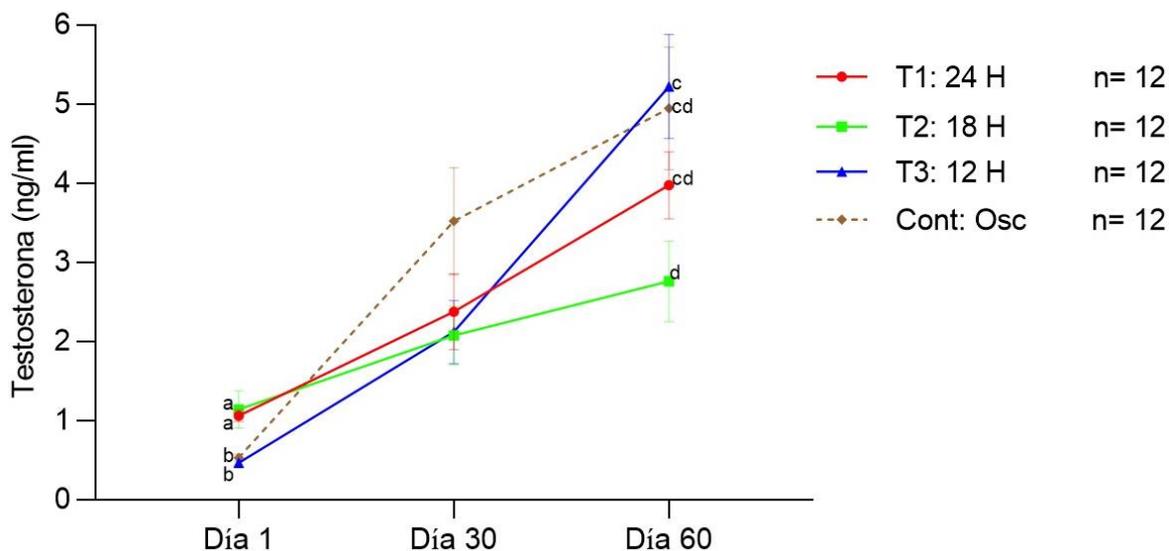


Figura 10. Concentraciones plasmáticas (media \pm SEM) de testosterona medidos al día 1, 30 y 60 en cuyes asignados a diferentes tiempos de exposición a la luz artificial ^(a-d) Superíndices diferentes entre los tratamientos, de acuerdo al día de muestreo 1, 30 y 60, indica diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los resultados del presente estudio son diferentes de lo descrito por Rosales et al. (2017) quienes indican valores de 2,44 ng/ml a una edad de 65 días y en nuestro estudio se obtuvieron valores inferiores mientras que, la medición de testosterona a los 93 días obtuvo un valor de 2,48 ng/ml y en la presente investigación en el tratamiento control se obtuvo un valor superior de 3,5 ng/ml a la misma edad.

Además, los resultados demostraron que los cuyes en edad de dos a tres meses con los diferentes tratamientos presentan valores bajos en comparación con Ayala et al. (2020) que obtuvo valores de 3,63 ng/ml a los 65 días de edad y 3,01 ng/ml a los 80 días de edad. Sin embargo, ningún estudio ha evaluado los niveles de testosterona a los 4 meses de edad, y en este estudio se obtuvieron valores elevados de 4,95 y 5,22 ng/ml.

Guenther et al. (2014) analizó los efectos fotoperiódicos sobre el desarrollo reproductivo en cuyes macho (*Cavia aperea*) en donde encontraron que los animales con fotoperiodo corto mostraron niveles de testosterona bajos y madurez sexual lenta en comparación con un fotoperiodo largo en donde lograron una mayor precocidad sexual y picos de testosterona tempranos.

Rigaudière et al. (1976) en su estudio de las concentraciones de testosterona y androstenediona en el plasma y testículos del conejillo de indias desde el nacimiento hasta la muerte, le permitió identificar períodos principales en la vida de la especie sobre secreción de andrógenos. 1) El período neonatal dura desde el nacimiento hasta los 16 días; el plasma y los andrógenos testiculares son relativamente bajos, pero hay un aumento transitorio en los

niveles plasmáticos de testosterona en los días 2 y 3. 2) La pubertad comienza entre los días 16 y 90 y se caracteriza por un rápido aumento de los niveles de plasma y testosterona testicular a partir del día 16.

Existe evidencia sobre la influencia tanto de la luz artificial como natural sobre los niveles de testosterona y subsecuentes niveles de madurez sexual (Sarlós et al., 2013). Andersson et al. (1998) encontraron que los niveles séricos de testosterona eran más altos en animales expuestos a un fotoperíodo artificial de 9 horas en comparación con los de 16 horas de luz.

No hay duda de que el fotoperíodo actúa a través de vías dependientes de GnRH y cambia la secreción de esta hormona, ya sea actuando directamente sobre el generador pulsátil o modulando los efectos de retroalimentación negativa que la testosterona ejerce a nivel hipotalámico (Todini et al., 2007).

5.3. Parámetros espermáticos

Con respecto a las variables espermáticas analizadas en los diferentes tratamientos (Tabla 3). La concentración fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en el T4 en comparación con T3, pero no difirió ($p > 0,05$) en relación a los demás tratamientos (T1, T2).

Las concentraciones determinadas en todos los tratamientos estudiados resultaron mucho mayores a la encontrada por Almeida, (2016) quienes reportaron una concentración espermática de 418×10^6 espermatozoides/ml en cinco cuyes enteros de cinco meses de edad en condiciones ambientales no controladas. Cosa similar sucede con las concentraciones espermáticas en T1 ($521,11 \times 10^6$ espermatozoides /ml) y T4 ($547,78 \times 10^6$ espermatozoides /ml) comparadas con lo reportado por Ayala et al., (2017) quienes obtuvieron una concentración de 418×10^6 espermatozoides/ml en diez cuyes con una conformación Tipo A y pelaje tipo 1, edad de 5 meses y un peso de 988,3 gramos en un ambiente no controlado. No obstante, los tratamientos T2 ($473,33$ espermatozoides /ml) y T3 ($381,11$ espermatozoides /ml), presentaron concentraciones más cercanas en comparación con este último estudio.

Se podría suponer que, las diferencias encontradas podrían deberse a la técnica de recuperación o al efecto de la luz artificial en la espermatogénesis ya que esta dura 32 días y alcanzan la pubertad a las 50 días de edad Nunes et al. (2013), es decir que la luz artificial tuvo efecto en la espermatogénesis ya que los cuyes de esta investigación entraron con 2 meses de edad, encontrándose las mayores concentraciones en los tratamientos que consideraron la oscuridad absoluta seguida por la influencia de 24 horas de luz artificial. Es así que, mediante la técnica de electroeyaculación la concentración espermática reportada es aún más baja siendo $47,33 \times 10^6$ espermatozoides/ml (Cabeza et al., 2021); $36,7 \times 10^6$

espermatozoides/ml (Benavides et al., 2020) y $43,87 \times 10^6$ espermatozoides/ml según Meza et al. (2018).

En los parámetros cinemáticos de los espermatozoides, la MT fue significativamente mayor en el T4 en comparación a T1 ($p < 0,05$). Similar cosa sucede en cuanto a la MP siendo en el T4 el que supera a todos los tratamientos especialmente a T1 ($p < 0,05$), pero sin diferencias ($p > 0,05$) en relación a T2 y T3.

En cuanto a la VSLR, el T4 obtuvo el mayor valor sin diferencia significativa ($p > 0,05$) frente a T2 y T3, pero si diferente con relación a T1 ($p < 0,05$). En cuanto a las demás variables cinemáticas (VCL, VCLR, VAP, VSL, STR, LIN, WOB, ALH y BCF), no se observaron diferencias entre tratamientos ($p > 0,05$).

La proporción de espermatozoides de muestras frescas con acrosoma intacto o reaccionado no mostró diferencias ($p > 0,05$) entre las muestras espermáticas de cuyes expuestos a diferentes tiempos de luz artificial y el control. Por otro lado, el porcentaje de espermatozoides vivos fue significativamente mayor en el grupo T4 ($p < 0,05$) en relación con los tratamientos T2 y T3, pero no se encontraron diferencias ($p > 0,05$) con T1. Además, el porcentaje de viabilidad espermática en el T1 fue significativamente mayor ($p < 0,05$) que el T2.

Aragón, (2019) realizó un estudio en donde valoró los parámetros cinemáticos en 5 cuyes machos usando electroeyaculador, del tipo 1 con 3 - 4 meses de edad y un peso final de 1.400 gramos, obteniendo los siguientes valores en las variables: MT (72,15%), MP (45,56%), VCL (89,86 $\mu\text{m/s}$), VAP (47,17 $\mu\text{m/s}$), VSL (26,05 $\mu\text{m/s}$), LIN (30,01%), STR (52,20%), WOB (53,90%), ALH (4,25 μm), BCF (5,62 Hz) datos que son similares a los de nuestro estudio excepto en la MT y STR que nuestra investigación obtuvo valores mayores.

Quispe, (2022) realizó un estudio de fotoperiodo en cuyes con tres tratamientos de luz: T1 luz artificial (10L/14D), T2 luz solar (10L/14D) y T0 (sin estímulo lumínico directo), valoró los parámetros cinéticos (MT, MP, VCL, VSL, VAP, LIN, STR, WOB, ALH, BCF) y vitalidad, en los cuales obtuvo valores similares a los tratamientos T1, T2 y T0 de este estudio en la variable MT (71,37, 29,50 y 79,63%). Además, la MP reportada (22,88, 15,61 y 29,44%) resulta ser muy inferior a la alcanzada en todos los grupos experimentales de exposición lumínica y control en este estudio. Similar situación se presenta con otras variables como la LIN (26,60, 27,85 y 26,64%), STR (48,86, 47,55 y 44,94%) y vitalidad (32,73, 20,70 y 34,86%) fueron menores en comparación con los resultados obtenidos en esta investigación.

Los mamíferos poseen la retina, es una estructura fotorreceptora relacionada con la producción nocturna de melatonina que recopila la información sobre la duración del día

regulando la señalización de la TSH en la glándula pituitaria (Guh et al., 2019). En los animales estacionales está evidenciado el efecto del fotoperiodo sobre la morfometría testicular, niveles de testosterona, concentración espermática, parámetros cinemáticos e integridad de la membrana debido al incremento de secreción hormonal de melatonina y la intensidad de la luz en la retina (Correa & Fernández, 2017; Koziol et al., 2020; Lincoln, 1992; Santiago et al., 2005; Zarazaga et al., 2010).

Pero en ratas machos el efecto de fotoperiodos largos inhibe la secreción de melatonina y provoca un aumento en la secreción de FSH y LH lo que implica una mayor estimulación de los testículos y aumento de los mismos; por ende, existe un aumento en la espermatogénesis (Olatunji & Sofola, 2001).

Mise, (2014) en su investigación obtuvo un porcentaje de vitalidad del 93% determinado con el uso de la tinción de eosina-nigrosina y la recuperación mediante la técnica de slicing; el resultado se encuentra muy por encima del porcentaje de viabilidad de esta investigación en todos los tratamientos. Loo, (2015), indicó un porcentaje de 86,7% y Ayala et al. (2017), reportó un valor de $60,2 \pm 4,02$ % de espermatozoides vivos, este porcentaje se presenta menor a los alcanzados en los diferentes tratamientos de exposición a la luz y el control de este estudio.

La variación de la luz puede producir alteraciones en la testosterona y por ende cambios en la espermatogénesis y en el proceso de maduración de los espermatozoides. Los cuyes demuestran sensibilidad al fotoperiodo, habiéndose reportado pubertades y niveles de testosterona más precoces en animales afectados por luz frente a aquellos que no la tienen (Andersson et al., 1998; Bauer et al., 2008; Trillmich et al., 2009).

Tabla 5. Características (media \pm SEM) de los espermatozoides de cuyes recuperados por flujo retrógrado en los diferentes tratamientos de exposición a la luz artificial y el control

Variables espermáticas	T1: 24 H	T2: 18 H	T3: 12 H	T4: Control
C ($\times 10^6$ espermz. /ml)	521,11 \pm 40,81 ^{ab}	473,33 \pm 31,79 ^{ab}	381,11 \pm 45,69 ^b	547,78 \pm 40,98 ^a
MT (%)	74,46 \pm 1,42 ^a	75,46 \pm 1,93 ^{ab}	75,25 \pm 1,51 ^{ab}	81,33 \pm 1,75 ^b
MP (%)	45,54 \pm 2,25 ^a	48,65 \pm 2,08 ^{ab}	54,91 \pm 2,26 ^b	55,38 \pm 2,38 ^b
VCL (μ m/s)	61,35 \pm 2,52	65,13 \pm 3,38	68,85 \pm 3,63	66,45 \pm 2,85
VCLR (μ m/s)	85,14 \pm 2,52	92,66 \pm 3,77	93,00 \pm 3,39	96,32 \pm 2,89
VAP (μ m/s)	32,22 \pm 1,25	34,00 \pm 1,75	35,72 \pm 1,68	33,82 \pm 1,36
VSL (μ m/s)	18,30 \pm 0,87	18,96 \pm 0,73	20,84 \pm 0,83	20,23 \pm 0,87
VSLR (μ m/s)	37,01 \pm 0,96 ^a	41,44 \pm 1,54 ^b	41,35 \pm 1,32 ^{ab}	41,45 \pm 0,90 ^b
STR (%)	54,81 \pm 1,21	54,65 \pm 1,05	57,60 \pm 1,29	58,03 \pm 1,27
LIN (%)	30,45 \pm 0,90	30,18 \pm 1,08	31,89 \pm 1,12	31,65 \pm 1,33
WOB (%)	53,88 \pm 0,63	53,38 \pm 1,11	53,49 \pm 0,70	52,55 \pm 1,02
ALH (μ m)	3,15 \pm 0,12	3,29 \pm 0,16	3,45 \pm 0,18	3,38 \pm 0,14
BCF (Hz)	5,00 \pm 0,17	5,08 \pm 0,13	5,27 \pm 0,17	5,24 \pm 0,21
Acrosoma intacto (%)	93,75 \pm 0,65	95,05 \pm 0,36	94,25 \pm 0,55	94,00 \pm 0,47
Acrosoma reaccionado (%)	6,25 \pm 0,65	4,95 \pm 0,36	5,75 \pm 0,55	6,00 \pm 0,47
Espermatozoides vivos (%)	70,10 \pm 1,80 ^{ab}	63,55 \pm 1,40 ^c	65,92 \pm 1,56 ^{ac}	71,27 \pm 1,2 ^b
Espermatozoides muertos (%)	29,90 \pm 1,80 ^{ab}	36,45 \pm 1,40 ^c	34,08 \pm 1,56 ^{ac}	28,73 \pm 1,2 ^b

Variables espermáticas analizadas: Concentración espermática (C) estimada mediante hematocitómetro. Motilidad total (MT), motilidad progresiva (MP), velocidad curvilínea (VCL), velocidad curvilínea-progresivos (VCLR), velocidad rectilínea (VSL), velocidad lineal rápidos progresivos (VSLR), velocidad media de trayectoria (VAP), índice de linealidad (LIN), índice de rectitud (STR), índice de oscilación (WOB), amplitud de desplazamiento lateral de la cabeza (ALH), frecuencia de batida del flagelo (BCF) evaluados mediante el sistema CASA. Integridad del acrosoma mediante observación directa/ microscopio de contraste de fases y espermatozoides vivos/muertos evaluados mediante tinción con yoduro de propidio (IP). (^{a-c}) Diferentes superíndices en cada fila expresan diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los tratamientos.

5.4. Células espermáticas del testículo

De acuerdo con la cuantificación de las células espermáticas de los túbulos seminíferos y el tejido intersticial, se encontró que: en los animales de T2, el recuento de células de Leydig fue significativamente mayor en comparación con los demás tratamientos ($p < 0,05$). Similar comportamiento se presenta sobre el número de espermatogonias, siendo mayor en el T4, diferenciándose de T1 ($p < 0,05$), pero no así con T2 y T3 ($p > 0,05$). Sin embargo, no se

encontraron diferencias ($p>0,05$) entre los tratamientos en cuanto al recuento de espermatoцитos y espermátidas (fig. 9).

No existen reportes hasta la fecha sobre la influencia de la luz artificial sobre el recuento celular de los túbulos seminíferos y el intersticio en cuyes. Este estudio también constituye el primer reporte sobre el efecto de la luz artificial en la espermatogénesis testicular de la especie.

En ratas, las neuronas supraquiasmáticas detectan la luz ambiental a través de la vía retino-hipotalámica y envían al reloj de las células de Leydig, a través de las hormonas como la LH y la melatonina, sin embargo, no se ha comprendido hasta el día de hoy la vinculación entre las neuronas supraquiasmáticas y las células de Leydig (Baburski et al., 2015; Marinkovic et al., 2021).

Shiroma, (2020) estudió el efecto del alcohol yodado en cuyes prepúberes sobre el recuento de células, obtuvo un número menor de espermatogonias (10,62 – control, 1,08 – 28 días, 18,62 – 56 días), espermatoцитos (45,86 – control, 6,56 – 28 días, 1,80 – 56 días) y espermátidas (41,07 – control, 1,87 – 28 días, 0 – 56 días) en comparación con nuestro estudio. Esto demuestra que diferentes horas de luz artificial tiene un efecto sobre la espermatogénesis del cuy.

De la misma forma Akunna et al. (2023) realizó una investigación sobre el efecto del extracto de cyperus esculentus sobre las espermatogonias y células de Leydig en cuyes en un ambiente de buena iluminación y aireación continua. Los resultados del tratamiento control para espermatogonias fue 9,03, valor menor al obtenido en la presente investigación. En cuanto al número de células Leydig se reporta un valor de 27,26 siendo similar al valor obtenido en el T2 de nuestra investigación.

Las células de Leydig secretan testosterona que es esencial para la espermatogénesis, por ello es necesario una buena población de dichas células en el testículo del adulto (Cano, 2018). De manera interesante, el número de células de Leydig determinadas en nuestro estudio son diferentes, ya que el T2 obtuvo el mayor número de células en comparación con los otros tratamientos, pero en el día 60 la concentración de testosterona resultó ser la más baja.

Por otro lado, Roselli et al. (2002) proponen que los cambios en la concentración de T pueden deberse a las diferencias en la receptividad funcional de los testículos a la LH, antes que a la sensibilidad del eje hipotálamo-pituitario o al metabolismo periférico y con el aclaramiento de

la testosterona aumenta el volumen y por ende la masa testicular, lo que tiene un efecto positivo en la síntesis de testosterona.

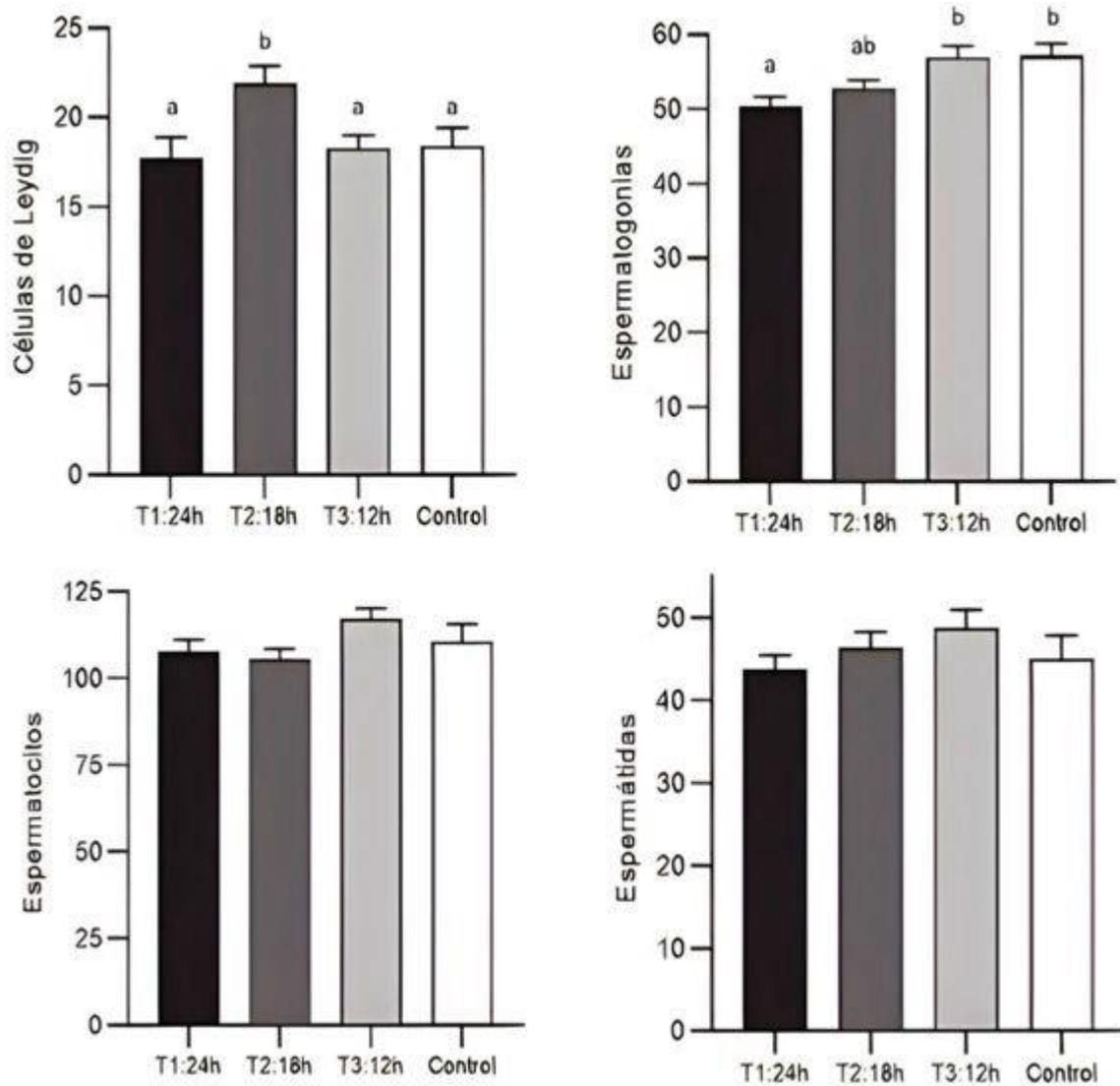


Figura 11. Recuento histológico (media ± SEM) del número células espermáticas en tres campos ^(a-b) Diferentes superíndices en cada fila expresan diferencia significativa (p<0,05) entre los tratamientos.

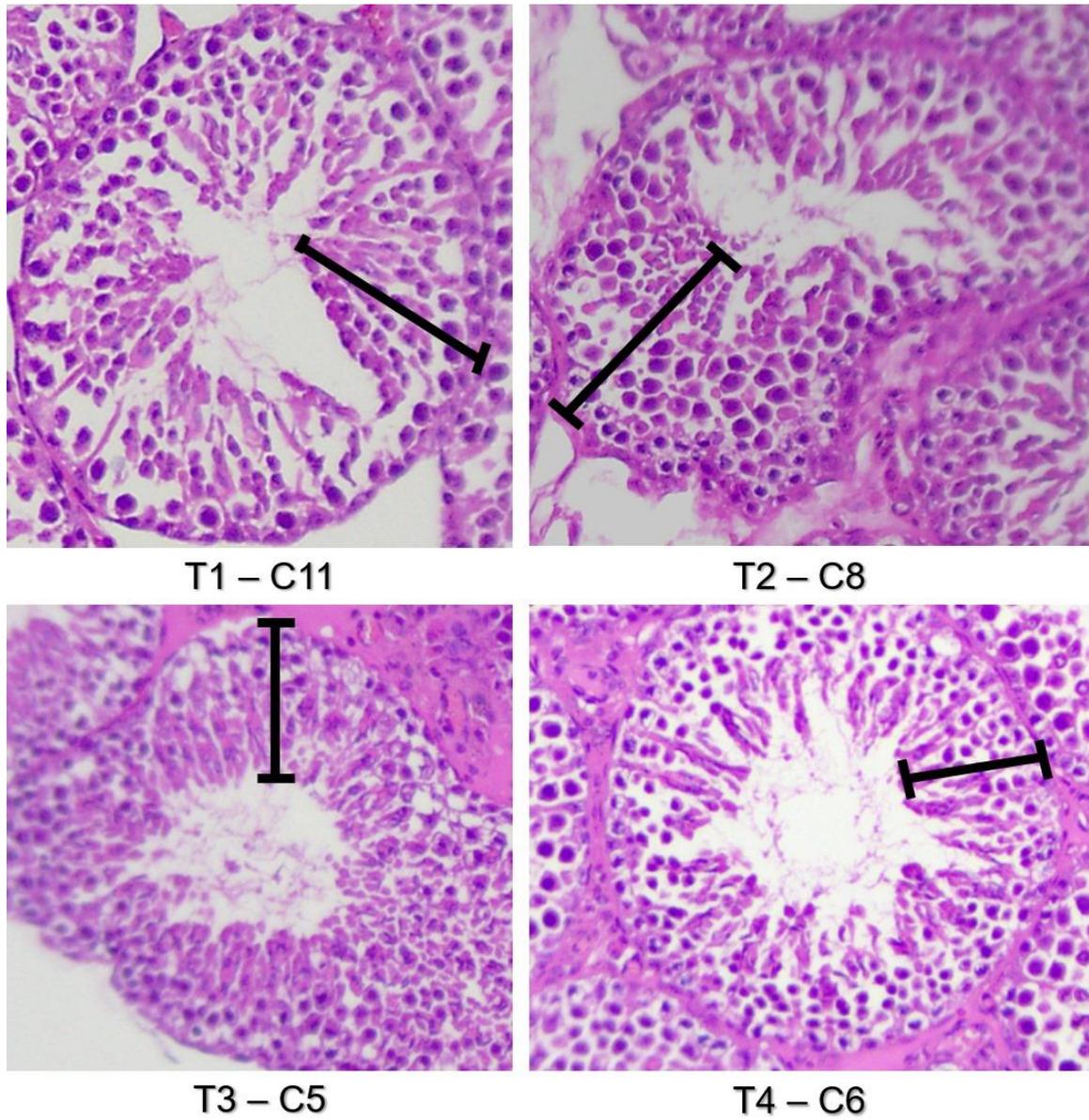


Figura 12. Epitelio germinativo en los diferentes tratamientos de horas luz.

Fuente: Autor.

6. Conclusiones

- La exposición a la luz artificial a diferentes periodos no afectó la morfometría testicular.
- El nivel de testosterona en la sangre se modifica de acuerdo a las horas de exposición a la luz artificial manteniendo una relación inversamente proporcional.
- La exposición a la luz artificial modifica las características espermáticas presentándose mejores valores a menor o nula exposición.
- Las poblaciones de células del testículo en sus fases iniciales de formación no son modificadas por la exposición del animal a luz artificial excepto en células de Leydig y espermatogonias.

7. Recomendaciones

- Ampliar las investigaciones sobre el efecto de la luz artificial con relación a la eficiencia reproductiva de la especie.
- Realizar estudios en criopreservación de espermatozoides de cuyes sometidos a la estimulación de la luz artificial.
- Estudiar los efectos de la luz artificial sobre el comportamiento animal.

8. Referencias

- Akunna, G. G., Enyioma-Aloxie, S., Wali, C. C., Umar, H. D., Kabiru, U. H., & Om'Iniabo, F. A. (2023). Morphological and biochemical evaluation of the testes of hyperglycemic guinea pigs treated with cyperus esculentus extract. *Journal of Innovations in Medical Research*, 2(10), 1–10. <https://doi.org/10.56397/JIMR/2023.10.01>
- Ali Abdullahi, I., Al-Hassan Musa, H., & Jibril, A. (2012). Scrotal circumference and testicular morphometric characteristics of the camel (*Camelus Dromedarius*) in the semi-arid environment of northern Nigeria. *Int. J. Morphol*, 30(4), 1369–1372. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022012000400019>
- Aliaga Rodríguez, L. (2009). *Producción de cuyes* (1st ed.). Universidad Católica Sede Sapientiae.
- Almeida Herdoíza, A. J. (2016). *Influencia de las espículas peneanas del cobayo sobre el comportamiento sexual, valoración espermática y fertilidad del macho* [Universidad de Cuenca]. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/24954>
- Amann, R. P., & Schanbacher, B. D. (1983). Physiology of male reproduction. *Animal Science*, 57, 380–403. https://doi.org/https://doi.org/10.2527/animalsci1983.57Supplement_2380x
- Andersson, H., Wallgren, M., Rydhmer, L., Lundstrom, K., Andersson, K., & Forsberg, M. (1998). Photoperiodic effects on pubertal maturation of spermatogenesis, pituitary responsiveness to exogenous GnRH, and expression of boar taint in crossbred boars. *Animal Reproduction Science*, 54(2), 121–137. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(98\)00149-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0378-4320(98)00149-3)
- Andrade Yucailla, V., Ríos Arias, D., Cuví Gamboa, C., Acosta Lozano, N., Pinos, N. Q., & Masaquiza, D. (2021). Comportamiento productivo de *Cavia porcellus* en la fase de engorde con la inclusión de cúrcuma longa como promotor de crecimiento. *UTCiencia*, 8(3), 92–102. <http://investigacion.utc.edu.ec/revistasutc/index.php/utciencia/article/view/372>
- Aponte, P. M., Gutiérrez Reinoso, M. A., Sánchez Cepeda, E. G., & García Herreros, M. (2018). Active immunization against GnRH in pre-pubertal domestic mammals: Testicular morphometry, histopathology and endocrine responses in rabbits, Guinea pigs and ram lambs. *Animal*, 12(4), 784–793. <https://doi.org/10.1017/S1751731117002129>

- Aragón Cruz, S. (2019). *Características macroscópicas, microscópicas, estimación de parámetros de motilidad y determinación de subpoblaciones espermáticas en semen de cuy (Cavia porcellus)*. <http://hdl.handle.net/20.500.12918/4280>
- Arencibia Arrebola, D. F., & Rosario Fernández, L. A. (2009). Consideraciones prácticas acerca de la calidad del semen de conejos aplicado en estudios de toxicología de la fertilidad. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 10(8), 1–15. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63617143011>
- Ariagno, J., & Mormandi, E. (2016). Guía práctica para la evaluación del semen. *ByPC*, 80(3), 29–36. <https://revistabypc.org.ar/index.php/bypc/article/view/120>
- Avilés, D. F., Landi, V., Delgado, J. V., & Martínez, A. M. (2014). *El pueblo ecuatoriano y su relación con el cuy*. http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/Cuyes/ley_Cuy.htm
- Ayala Guanga, L., Astiz, S., Nieto Escandon, P., Dután Saramago, J., Rodas Carpio, R., Pesántez Pacheco, J. L., & Rosales Jaramillo, C. (2020). Relationship between testosterone and penile spicules in Guinea pigs (*Cavia porcellus*). *Theriogenology*, 158, 368–374. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.09.034>
- Ayala Guanga, L. E., Rodas Carpio, R., Almeida, A., Torres Inga, C. S., & Nieto Escandón, P. E. (2017). Espículas peneanas del cobayo (*Cavia porcellus*), influencia sobre el comportamiento sexual, fertilidad y calidad espermática. *Rev. Prod. Anim*, 29(3), 36–42.
- Ayala Saltos, B. D., & Morejon Moreta, A. E. (2015). *Evaluación comparativa de la calidad seminal bajo dos niveles nutricionales en sementales de razas Bos taurus y Bos indicus en hacienda Zoila Luz, Santo Domingo de los Tsáchilas*. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/10454>
- Baburski, A. Z., Sokanovic, S. J., Janjic, M. M., Stojkov-Mimic, N. J., Bjelic, M. M., Andric, S. A., & Kostic, T. S. (2015). Melatonin replacement restores the circadian behavior in adult rat Leydig cells after pinealectomy. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 413, 26–35. <https://doi.org/10.1016/J.MCE.2015.05.039>
- Bauer, B., Womastek, I., Dittami, J., & Huber, S. (2008). The effects of early environmental conditions on the reproductive and somatic development of juvenile guinea pigs (*Cavia aperea f. porcellus*). *General and Comparative Endocrinology*, 155(3), 680–685. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2007.09.015>

- Bautista Deleg, S. V. (2018). *Evaluación de tres técnicas de castración en cuyes (Cavia porcellus) y su influencia en el comportamiento y productividad*. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/32844>
- Bellastella, A., Pisano, G., Iorio, S., Pasquali, D., Orio, F., Venditto, T., & Sinisi, A. A. (1998). Endocrine secretions under abnormal light-dark cycles and in the blind. *Hormone Research, 49*(3–4), 153–157. <https://doi.org/10.1159/000023163>
- Benavides, F., Sutovsky, P., López, V., Kennedy, C., & Echevarría, L. (2020). Semen parameters of fertile Guinea pigs (*Cavia porcellus*) collected by transrectal electroejaculation. *Animals, 10*(5). <https://doi.org/10.3390/ani10050767>
- Bustos Obregón, E., & Torres Díaz, L. (2012). Reproducción estacional en el macho. *Int. J. Morphol, 30*(4), 1266–1279.
- Cabeza, U., Ordóñez, C., Meza, A., & Cucho, H. (2021). Morphological and morphometric characterization of the guinea pig sperm (*Cavia porcellus*). *Spermova, 10*(2), 94–101. <https://doi.org/10.18548/ASPE/0008.14>
- Cano Rosas, L. (2018). *Caracterización morfológica y bioquímica de las neuronas intrínsecas de los testículos del cobayo Hartley*. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/server/api/core/bitstreams/4771fa90-04ed-4d09-86a6-ed0a688d85ed/content>
- Cárcel Rubio, M. J. (2009). Valoración morfológica en otras especies de animales de compañía. In *Valoración morfológica de los animales domésticos* (pp. 671–685).
- Castro Murillo, K., & González Cruz, S. (2019). *Métodos modernos de evaluación seminal en equinos*. <http://hdl.handle.net/20.500.12494/12318>
- Chemineau, P. (1993). *Medio ambiente y reproducción animal*. <https://www.fao.org/3/v1650t/v1650T04.htm>
- Chuchuca Carrión, C. A. (2023). *Estudio del aparato reproductor del cuy macho (Cavia porcellus)*. <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/handle/123456789/26709>
- Correa, L. M., & Fernández, J. L. (2017). Influencia de la melatonina sobre la fisiología y la conducta de ungulados. *Rev. Investig. Altoandín, 19*, 337–350. <https://doi.org/10.18271/ria.2017.298>

- Crespo García, N. de J. (2012). *La carne de cuy: nuevas propuestas para su uso*. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/1563>
- Durrant, B. S. (1990). Semen collection, evaluation, and cryopreservation in exotic animal species: Maximizing reproductive potential. *ILAR Journal*, 32(1), 2–10. <https://doi.org/10.1093/ilar.32.1.2>
- Fawcett, D. W. (1965). *The anatomy of the mammalian spermatozoon with particular reference to the guinea pig*.
- Fernández Santos, M. R., Estes, M. C., Montoro, V., Soler, A. J., & Garde, J. J. (2006). Cryopreservation of Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) epididymal spermatozoa: Effects of egg yolk, glycerol and cooling rate. *Theriogenology*, 66(8), 1931–1942. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.05.012>
- Fuentes Ibáñez, S. (2015). *Incremento del porcentaje de gestación en la transferencia de embriones bovinos de aptitud láctea mediante tratamientos hormonales de sincronización y postransferencia de la hembra receptora*. <https://anembe.com/wp-content/uploads/tesis-santiago-leon-2015.pdf>
- Galarza, D. A., López Sebastián, A., & Santiago Moreno, J. (2020). Supplementing a skimmed milk–egg yolk-based extender with L-carnitine helps maintain the motility, membrane integrity and fertilizing capacity of chilled ram sperm. *Reproduction in Domestic Animals*, 55(7), 805–813. <https://doi.org/10.1111/rda.13687>
- Galarza, D. A., López Sebastián, A., Woelders, H., Blesbois, E., & Santiago Moreno, J. (2018). Sephadex filtration as successful alternative to density-gradient centrifugation procedures for ram sperm selection with improved kinetics. *Animal Reproduction Science*, 192, 261–270. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.03.022>
- Gerlach, T., & Aurich, J. E. (2000). Regulation of seasonal reproductive activity in the stallion, ram and hamster. *Animal Reproduction Science*, 58(3–4), 197–213. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(99\)00093-7](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/s0378-4320(99)00093-7)
- Gonzalo, A. C. (2012). *Fisiología reproductiva de los cobayos*. <http://dpd.fvet.uba.ar/cartelera/00007212.pdf>
- Guenther, A., Palme, R., Dersen, M., Kaiser, S., & Trillmich, F. (2014). Photoperiodic effects on reproductive development in male cavies (*Cavia aperea*). *Physiology and Behavior*, 123, 142–147. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.10.017>

- Guh, Y. J., Tamai, T. K., & Yoshimura, T. (2019). The underlying mechanisms of vertebrate seasonal reproduction. *Proceedings of the Japan Academy Series B: Physical and Biological Sciences*, 95(7), 343–357. <https://doi.org/10.2183/pjab.95.025>
- Harkness, J. E., Murray, K. A., & Wagner, J. E. (2002). *Biology and diseases of guinea pigs*. 203–246.
- Junaidi, A., & Martín, G. B. (2013). Calipers and ultrasonography for measurement of the volume and mass of testes in dogs. *Veterinary Science Research*, 59–63. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4172/2157-7579.S1.004>
- Justel, N., Bentosela, M., & Ruetti, E. (2010). *Testosterone, emotion and cognition: castrated animals studies*. 27, 191–208. <http://www.redalyc.org/pdf/180/18018446001.pdf>
- Kozioł, K., Broda, D., Romerowicz-Misielak, M., Nowak, S., & Kozirowski, M. (2020). Melatonin concentration in peripheral blood and melatonin receptors (MT1 and MT2) in the testis and epididymis of male roe deer during active spermatogenesis. *Theriogenology*, 149, 25–37. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.03.025>
- Kus, I., Akpolat, N., Oner, H., Ayar, A., Pekmez, H., Ozen, O. A., & Sarsilmaz, M. (2003). The effects of photoperiod on testes in rat: A morphometric and immunohistochemical study. *Neuro Endocrinology Letters*, 24(3–4), 209–214. www.nel.edu
- Lincoln, G. A. (1992). Photoperiod pineal hypothalamic relay in sheep. *Animal Reproduction Science*, 28(1–4), 203–217. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-4320\(92\)90107-O](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0378-4320(92)90107-O)
- Lincoln, G. A., Peet, M. J., & Cunningham, R. A. (1977). Seasonal and circadian changes in the episodic release of follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone and testosterone in rams exposed to artificial photoperiods. *The Journal of Endocrinology*, 72(3), 337–349. <https://doi.org/https://doi.org/10.1677/joe.0.0720337>
- Loor Cedeño, A. I. (2015). *Caracterización morfológica del espermatozoide del cobayo (Cavia porcellus) en el cantón Latacunga*. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/2836>
- Malpaux, B. (2006). Chapter 41 - Seasonal regulation of reproduction in mammals. In J. D. Neill (Ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (Third, pp. 2231–2281). Academic press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-515400-0.50046-4>

- Marinkovic, D. Z., Medar, M. L. J., Becin, A. P., Andric, S. A., & Kostic, T. S. (2021). Growing up under constant light: A challenge to the endocrine function of the Leydig cells. *Frontiers in Endocrinology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.653602>
- Maroto Hernández, M. (2020). *Evaluación de la motilidad del semen fresco utilizando dos diluyentes comerciales en diferentes horas de extracción*. <https://iracbiogen.com/wp-content/uploads/2021/06/Evaluacion-de-la-motilidad-del-semen-fresco-utilizando-dos-diluyentes-comerciales-en-diferentes-horas-de-extraccion-Maroto.pdf>
- Matamoras, Y. (1981). Anatomía e histología del sistema reproductor del tepezcuinte (Cuniculus paca). *Rev. Bio. Trop*, 29(1), 155–164. <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/25534>
- Mega Androma, E., & Khasanah, L. U. (2017). Anatomy and histology of reproductive organ of male guinea pig as a source of learning. *PROC.INTERNAT.CONF.SCI.ENGIN*, 1(2597–5250), 9–18. <https://ejournal.uin-suka.ac.id/saintek/icse/article/view/2489>
- Mellisho, E. (2010). *Manual de laboratorio de reproducción animal*.
- Meza Chatata, A., Huanca Marca, N., & Cucho, H. (2018). *Domestic guinea pig semen collection protocol (Cavia porcellus) by electroejaculation method -preliminary results*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.18590.18248>
- Miranda, S. (2016). *Luz en avicultura comercial*. https://www.engormix.com/avicultura/iluminacion-galpones-avicolas/luz-avicultura-comercial_a32935/
- Mise Chango, M. N. (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*. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/2863>
- Mousa-Balabel, T. M. (2011). Using light and melatonin in the management of new zealand white rabbits. *Open Veterinary Journal*, 1, 2226–4485. <http://www.openveterinaryjournal.com>
- Nunes, A. K. R., Gouveia, B. B., Matos T., M. H., Pires, I. C., Franzo, V. S., Faria, M. D., & Gradelal, A. (2013). Análise morfológica e funcional do processo espermatogênico em cobaios (Cavia porcellus) da pré-puberdade até a pós-puberdade. *Pesquisa Veterinaria Brasileira*, 33(1), 1–7. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2013001300001>

- Olatunji Bello, I. I., & Sofola, O. A. (2001). Effect of continuous light and darkness exposures on the pituitary - gonadal axis and thyroid activity in male rats. *African Journal of Biomedical Research*, 4(3), 119–122. <https://hdl.handle.net/1807/4202>
- Ortavant, R., Bocquier, F., Pelletier, J., Ravault, J. P., Thimonier, J., & Volland-Nail, P. (1988). Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. *Australian Journal of Biological Sciences*, 41(1), 69–86. <https://doi.org/10.1071/BI9880069>
- Pinduisaca Casa, K. F. (2018). *Colecta y evaluación de semen de cuyes (Cavia porcellus), extraído por la técnica de electroeyaculación en el centro experimental Uyumbicho*. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15292/1/T-UCE-0014-070-2018.pdf>
- Pino Melgar, T. M. (2015). *Descripción histológica de ovarios y testículos de cuyes (Cavia porcellus) a los dos meses de edad, suplementados con nucleótidos San Camilo - Arequipa, 2014*. <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/3082>
- Ptaszynska, M. (2007). *Compendio de reproducción animal*. (J. J. Molina, Ed.; 9ª). Intervet Internacional.
- Quillahuaman Huaman, V. (2015). *Aparato reproductor en los cuyes*. <https://dokumen.tips/documents/aparato-reproductor-de-cuyes-de-hembra-y-macho.html?page=2>
- Quispe Ccasa, H. A. (2022). *La radiación solar en el desarrollo somático, calidad seminal y fertilidad de Cavia porcellus L.* <https://hdl.handle.net/20.500.14077/2914>
- Quispe-Ccasa, H. A., Aguilar-Yoplac, J., Valdivia-Gallardo, J. C., Segura, G., Milla Pino, M. E., & Cayo-Colca, I. S. (2021). Effect of photoperiod with sunlight at thermal stress and sperm parameters in guinea pigs. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 24(12), 1297–1308. <https://doi.org/10.3923/pjbs.2021.1297.1308>
- Ramírez, L. (2006). El sistema endocrino de los animales domésticos. *Mundo Pecuario*, 1, 11–15. http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/21952/articulo_5.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Randy, J. N., Marinovic, A. C., Moffatt, C. A., Kriegsfeld, L. J., & Kim, S. (1997). The effects of photoperiod and food intake on reproductive development in male deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Physiology & Behavior*, 62(5), 945–950. <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.10.017>

- Reiter, R. J. (1983). The pineal gland: an intermediary between the environment and the endocrine system. *Psych neuroendocrinology*, 8(1), 31–40. [https://doi.org/10.1016/0306-4530\(83\)90039-2](https://doi.org/10.1016/0306-4530(83)90039-2)
- Reiter, R. J. (1991). Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocrine Reviews*, 12(2), 151–180. <https://doi.org/10.1210/edrv-12-2-151>
- Rigaudière, N., Pelardy, G., Robert, A., & Delost, P. (1976). Changes in the concentrations of testosterone and androstenedione in the plasma and testis of the guinea-pig from birth to death. *Reproduction*, 48(2), 291–300. <https://doi.org/https://doi.org/10.1530/jrf.0.0480291>
- Riggs, S. M. (2009). Chapter 17 - Guinea pigs. In M. A. Mitchell & T. N. Tully (Eds.), *Manual of Exotic Pet Practice* (pp. 456–473). <https://doi.org/doi.org/10.1016/B978-141600119-5.50020-2>
- Rivera del Álamo, M. M. (2003). *Efecto del fotoperíodo sobre la calidad seminal de verracos destinados a inseminación artificial*. <https://www.tdx.cat/handle/10803/5725#page=1>
- Robinson, J. E., & Karsch, F. J. (1984). Refractoriness to inductive day lengths terminates the breeding season of the suffolk ewe. *Biology or Reproduction*, 31(4), 656–663. <https://doi.org/https://doi.org/10.1095/biolreprod31.4.656>
- Rodríguez L., H., Gutiérrez R., G., Palomino T., M., & Hidalgo L., V. (2015). Características maternas al nacimiento y destete en cuyes de la costa central del Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 26(1), 77–85. <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i1.10941>
- Roenneberg, T., Wirz-Justice, A., & Mellow, M. (2003). Life between clocks: Daily temporal patterns of human chronotypes. *Journal of Biological Rhythms*, 18(1), 80–90. <https://doi.org/10.1177/0748730402239679>
- Romero, L. M. (2004). Physiological stress in ecology: Lessons from biomedical research. *Trends in Ecology and Evolution*, 19(5), 249–255. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2004.03.008>
- Rosales J., C., Ayala, L., Aguilar, Y., Dután, J., & Taboada, J. (2017). Niveles de testosterona total en cuyes (*Cavia porcellus*) extirpados las espículas pineales, castrados químicamente y enteros y relación con tamaño testicular y vesícula seminal. *REDVET*, 18, 2–9. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63654640042.pdf>

- Rosales J., C., Guevara V., G., Perea G., F., Ayala G., L., & Nieto E., P. (2021). Morfometría de la gónada masculina y espermatozoides de cuyes (*Cavia porcellus*) nativos y mejorados del sur de Ecuador. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 32(2). <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i2.17988>
- Rosales-Jaramillo, C., Román-Bravo, R., & Aranguren-Méndez, J. (2021). Morphometric and faneroptic characterization of sub populations native cobayos (*Cavia porcellus*) of the south equatorian highland. *Revista Científica de La Facultad de Veterinaria*, 31(2), 71–79. <https://doi.org/10.52973/rcfcv-luz312.art4>
- Roselli, C. E., Stormshak, F., Stellflug, J. N., & Resko, J. A. (2002). Relationship of serum testosterone concentrations to mate preferences in rams. *263 Biology of Reproduction*, 67(1), 263–268. <https://doi.org/https://doi.org/10.1095/biolreprod67.1.263>
- Salveti, N. R., Ludeña, M. G., Ricci, N., Lorente, J. A., Gapel, C. M., & Ortega, H. H. (2005). Morfología gonadal del ratón (*Mus musculus*): Efecto de la falta de alternancia luz/oscuridad. *FAVE Sección Ciencias Veterinarias*, 1(1), 21–29. <https://doi.org/https://doi.org/10.14409/favecv.v1i1.1362>
- Santiago Moreno, J., Gómez Brunet, A., González Bulnes, A., Toledano Díaz, A., Malpoux, B., & López Sebastián, A. (2005). Differences in reproductive pattern between wild and domestic rams are not associated with inter-specific annual variations in plasma prolactin and melatonin concentrations. *Domestic Animal Endocrinology*, 28(4), 416–429. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.02.002>
- Sarlós, P., Egerszegi, I., Balogh, O., Molnár, A., Cseh, S., & Rátky, J. (2013). Seasonal changes of scrotal circumference, blood plasma testosterone concentration and semen characteristics in racka rams. *Small Ruminant Research*, 111(1–3), 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.11.036>
- Schimming, B. C., Domeniconi, R. F., Panhoza TSE, M. do C., TSE, H. G., & Orsi, A. M. (2012). Morfologia do epidídimo de cobaio (*Cavia porcellus*) em diferentes fases do desenvolvimento pós-natal. *Vet. Res. Anim. Sci*, 49(4), 307–317. <http://hdl.handle.net/11449/74020>
- Shiroma Tamashiro, P. L. (2020). Daño testicular inducido por el alcohol yodado 0.5% en cuyes (*Cavia porcellus*) prepúberes. *Revista Académica de Investigación*, 11(35), 142–157. <https://www.eumed.net/rev/tlatemoani/index.html>

- Sisk, C. L., & Zehr, J. L. (2005). Pubertal hormones organize the adolescent brain and behavior. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 26(3–4), 163–174. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2005.10.003>
- Soler, A. J., Estes, M. C., Fernández-Santos, M. R., & Garde, J. J. (2005). Characteristics of Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) spermatozoa cryopreserved after storage at 5°C in the epididymis for several days. *Theriogenology*, 64(7), 1503–1517. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.03.013>
- Sotomayor Correa, V. A. (2011). *Estudio de factibilidad para la producción y exportación de carne de cuy (Cavia porcellus) para mercados de Estados Unidos y España*. <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/1377/1/102338.pdf>
- Stan, F. (2015). Anatomical particularities of male reproductive system of guinea pigs (*Cavia porcellus*). *Bulletin UASVM Veterinary Medicine*, 72(2), 288–295. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-vm:11410>
- Taday Huaraca, D. A. (2022). *Valoración microscópica de la calidad del semen de cuy*. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/17097>
- Tapia Pesántez, D. A., & Tello Larriva, D. J. (2016). *Evaluación cuali-cuantitativa de espermatozoides de la cola del epidídimo de cuyes (Cavia porcellus) criollos y mejorados en dos edades reproductivas*. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/25404>
- Theau-Clement, M., & Boitti, C. (1998). Biostimulation methods for breeding rabbit does: synthesis of the first results. *Rab Mundial. Ciencia*, 205–208. <https://doi.org/https://doi.org/10.4995/wrs.1998.344>
- Thibault, C., Courot, M., Martinet, L., Mesnil du Buisson, F. DU, Ortavant, R., Pelletier, J., & Signoret, J. P. (1966). Regulation of breeding season and estrous cycles by light and external stimuli in some mammals. *Journal of Animal Science*, 25, 119–142. <https://doi.org/https://doi.org/10.2527/jas1966.25supplement119x>
- Todini, L., Malfatti, A., Terzano, G. M., Borghese, A., Pizzillo, M., & Debenedetti, A. (2007). Seasonality of plasma testosterone in males of four Mediterranean goat breeds and in three different climatic conditions. *Theriogenology*, 67(3), 627–631. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.09.023>
- Touma, C., Sachser, N., Möstl, E., & Palme, R. (2003). Effects of sex and time of day on metabolism and excretion of corticosterone in urine and feces of mice. *General and*

Comparative Endocrinology, 130(3), 267–278. [https://doi.org/10.1016/S0016-6480\(02\)00620-2](https://doi.org/10.1016/S0016-6480(02)00620-2)

Trillmich, F., Mueller, B., Kaiser, S., & Krause, J. (2009). Puberty in female cavies (*Cavia aperea*) is affected by photoperiod and social conditions. *Physiology and Behavior*, 96(3), 476–480. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.11.014>

Tulsiani, D. R. P., & Abou-Haila, A. (2012). Biological processes that prepare mammalian spermatozoa to interact with an egg and fertilize it. *Scientifica*, 2012, 1–12. <https://doi.org/10.6064/2012/607427>

Unchupaico Payano, I., Alponse Sierra, A., & Barrera Molina, S. (2022). Motilidad y concentración espermática del líquido seminal del epidídimo de cuyes de varias edades criados en el Valle del Mantaro. *Prospectiva Universitaria*, 3(2), 48–50. <https://doi.org/https://doi.org/10.26490/uncp.prospectivauniversitaria.2006.3.1297>

Urviola García, A. P., & Fernández, J. L. (2017). Factores moduladores de la estacionalidad reproductiva en ungulados. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(3), 319–336. <https://doi.org/10.18271/ria.2017.297>

Usca Méndez, J. E., Flores Mancheno, L. G., Tello Flores, L. A., & Navarro Ojeda, M. N. (2022). *Manejo general en la cría del cuy*.

Valdivia Bonet, L. (2002). *Fotobiología cutánea: Generalidades*. Revista Peruana de Dermatología. https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v12_n2/fotobiologia_cutanea.htm

Valenti, S., Guido, R., Giusti, M., & Giordano, G. (1995). In vitro acute and prolonged effects of melatonin on purified rat Leydig cell steroidogenesis and adenosine 3',5'-monophosphate production. *Endocrinology*, 136(12), 5357–5362. <https://doi.org/10.1210/endo.136.12.7588282>

Vanecek, H. J., & Illnerová, H. (1985). Effect of short and long photoperiods on pineal N-acetyltransferase rhythm and on growth of testes and brown adipose tissue in developing rats. *Neuroendocrinology*, 41(3), 186–191. <https://doi.org/10.1159/000124176>

Vásquez, B., & Del Sol, M. (2010). Estudio morfológico de la próstata y glándulas vesiculares de cobayo (*Cavia porcellus*). *Int. J. Morphol*, 28(4), 1301–1307. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022010000400050>

Zarazaga, L. A., Gatica, M. C., Celi, I., Guzmán, J. L., & Malpaux, B. (2010). Effect of artificial long days and/or melatonin treatment on the sexual activity of Mediterranean bucks. *Small Ruminant Research*, 93(2–3), 110–118. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2010.05.008>

9. Anexos



Anexo A. Pozas de cada tratamiento con su iluminación respectiva.



Anexo B. Identificación de cada cuy.



Anexo C. Cuyes con luz artificial y cuyes en oscuridad absoluta.



Anexo D. Toma de muestra sanguínea.



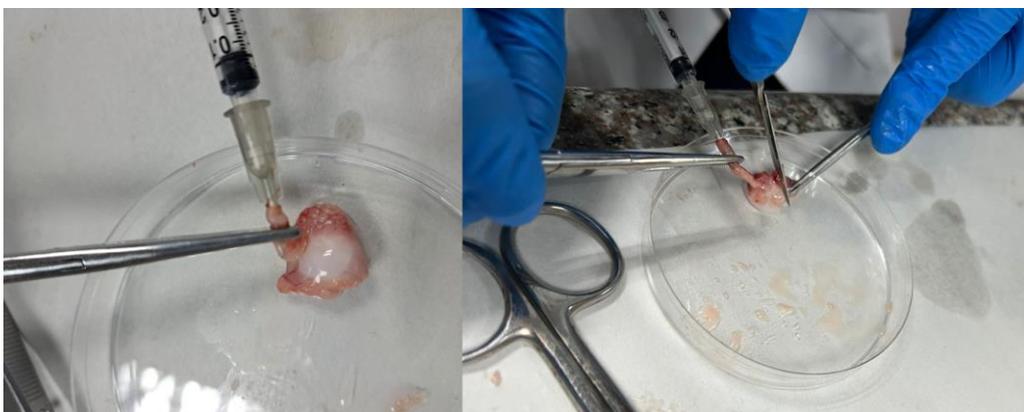
Anexo E. Pesaje del cuy precastración.



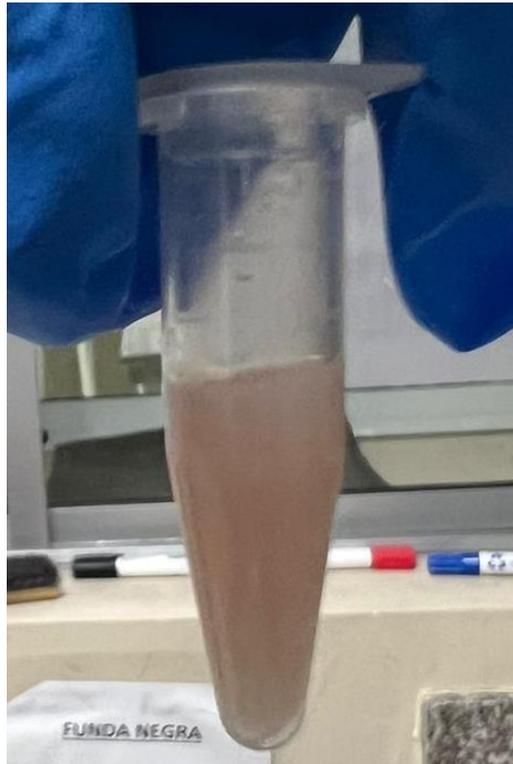
Anexo F. Instrumental usado en morfometría testicular.



Anexo G. Pesaje y medición del testículo.



Anexo H. Recuperación de espermatozoides por el método de flujo retrógrado.



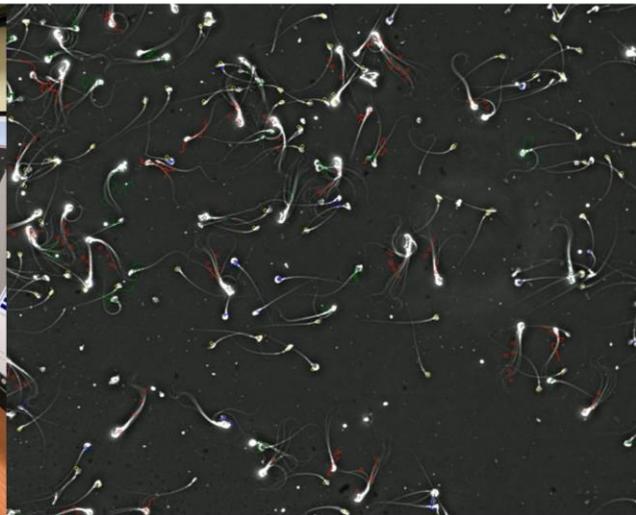
Anexo I. Recuperación espermática.



Anexo J. Preparación y observación de la vitalidad espermática.



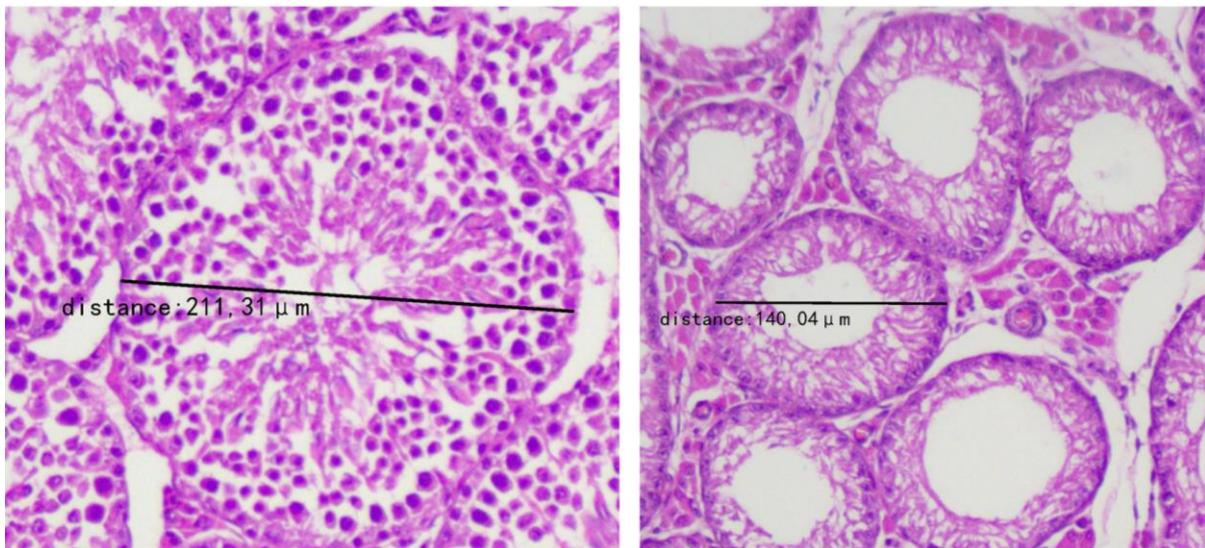
Anexo K. Observación de la integridad del acrosoma.



Anexo L. Limpieza de campo para ver la motilidad de los espermatozoides.

PROYECTO UNIVERSIDAD DE CUENCA Muestra Inicial					PROYECTO UNIVERSIDAD DE CUENCA -Segunda Muestra					PROYECTO UNIVERSIDAD DE CUENCA -Tercera Muestra							
EXAMENES DE TESTOSTERONA				Unidad:	ng/ml	EXAMENES DE TESTOSTERONA				Unidad:	ng/ml	EXAMENES DE TESTOSTERONA				Unidad:	ng/ml
GRUPO 1: OSCURIDAD (0S)		GRUPO 2: DOCE HORAS (12 H)			GRUPO 1: OSCURIDAD (0S)		GRUPO 2: DOCE HORAS (12 H)			GRUPO 1: OSCURIDAD (0S)		GRUPO 2: DOCE HORAS (12 H)					
CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO		
1	0.57	1	0.64	1	3.64	1	0.80	1	6.98	1	7.72						
2	2.84	2	0.43	2	7.66	2	2.50	2	3.16	2	6.35						
3	0.39	3	0.51	3	1.49	3	4.21	3	3.44	3	7.45						
4	1.50	4	2.17	4	5.74	4	4.34	4	7.09	4	5.57						
5	0.50	5	0.25	5	2.49	5	0.54	5	4.05	5	2.68						
6	0.47	6	0.46	6	2.46	6	3.59	6	9.42	6	2.98						
7	0.61	7	0.37	7	2.95	7	1.45	7	3.30	7	6.50						
8	1.91	8	0.79	8	6.13	8	2.61	8	2.43	8	5.90						
9	0.45	9	0.43	9	2.36	9	2.10	9	6.98	9	1.86						
10	0.34	10	0.50	10	0.87	10	2.76	10	6.43	10	6.27						
11	0.75	11	5.34	11	5.36	11	4.66	11	1.15	11	5.24						
12	0.70	12	0.31	12	5.93	12	0.65	12	4.58	12	2.44						
GRUPO 3: DIECIOCHO HORAS (18 h)		GRUPO 4: VEINTE Y CUATRO HORAS (24 H)			GRUPO 3: DIECIOCHO HORAS (18 h)		GRUPO 4: VEINTE Y CUATRO HORAS (24 H)			GRUPO 3: DIECIOCHO HORAS (18 h)		GRUPO 4: VEINTE Y CUATRO HORAS (24 H)					
CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO	CODIGO	RESULTADO				
1	2.60	1	1.18	1	4.58	1	3.48	1	5.33	1	3.36						
2	3.44	2	1.41	2	6.24	2	4.93	2	5.79	2	6.31						
3	0.33	3	1.21	3	0.67	3	2.11	3	5.13	3	4.15						
4	0.41	4	0.84	4	1.39	4	0.87	4	2.26	4	3.88						
5	1.59	5	7.49	5	2.90	5	5.23	5	1.31	5	1.08						
6	4.28	6	0.93	6	6.29	6	1.75	6	4.50	6	3.45						
7	0.80	7	1.06	7	1.54	7	1.83	7	1.94	7	2.34						
8	1.06	8	0.94	8	1.70	8	1.48	8	3.11	8	3.27						
9	1.22	9	0.59	9	2.41	9	0.36	9	3.87	9	6.01						
10	0.34	10	4.34	10	0.86	10	FALLECIDO	10	0.64	10	FALLECIDO						
11	1.98	11	1.23	11	2.95	11	2.32	11	1.30	11	2.46						
12	1.10	12	1.24	12	1.76	12	4.65	12	2.71	12	4.53						

Anexo M. Resultados de los niveles de testosterona día 1, 30, 60.



Anexo N. Resultados de la histología de los testículos del T4:0H.