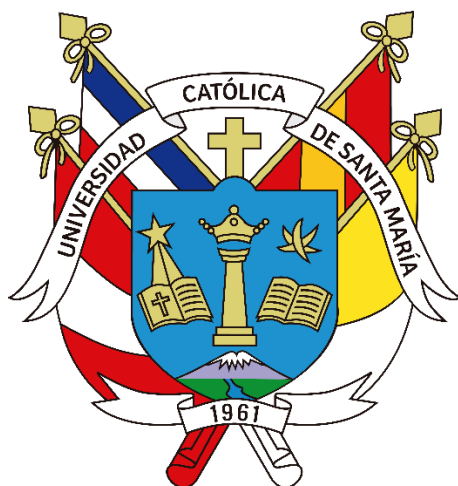


Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias e Ingenierías Biológicas y Químicas
Escuela Profesional Medicina Veterinaria y Zootecnia



EVALUACIÓN DE TERMORRESISTENCIA DE SEMEN COMERCIAL PORCINO MEDIANTE ANÁLISIS ESPERMÁTICO ASISTIDO POR COMPUTADORA - CASA (COMPUTER-ASSISTED SPERM ANALYSIS). AREQUIPA – 2021.

EVALUATION OF THERMAL RESISTANCE OF COMMERCIAL SWINE SEMEN BY COMPUTER-ASSISTED SPERM ANALYSIS - CASA (COMPUTER-ASSISTED SPERM ANALYSIS). AREQUIPA-2021.

Tesis presentada por el Bachiller:

Angulo García Luis Fernando

Para optar el Título Profesional de

Médico Veterinario y Zootecnista

Asesor:

Dr. Cs. M. Sc. MVZ Reátegui Ordoñez

Juan Eduardo

Arequipa- Perú

2022

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
TITULACIÓN CON TESIS
DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 09 de Mayo del 2022

Dictamen: 003892-C-EPMVZ-2022

Visto el borrador del expediente 003892, presentado por:

2013200181 - ANGULO GARCIA LUIS FERNANDO

Titulado:

EVALUACIÓN DE TERMORRESISTENCIA DE SEMEN COMERCIAL PORCINO MEDIANTE ANÁLISIS ESPERMÁTICO ASISTIDO POR COMPUTADORA - CASA (COMPUTER-ASSISTED SPERM ANALYSIS). AREQUIPA ? 2021.

Nuestro dictamen es:

APROBADO

1331 - OBANDO SANCHEZ ALEXANDER DANIEL
DICTAMINADOR



2201 - SANZ LUDEÑA CARLO EDISON
DICTAMINADOR



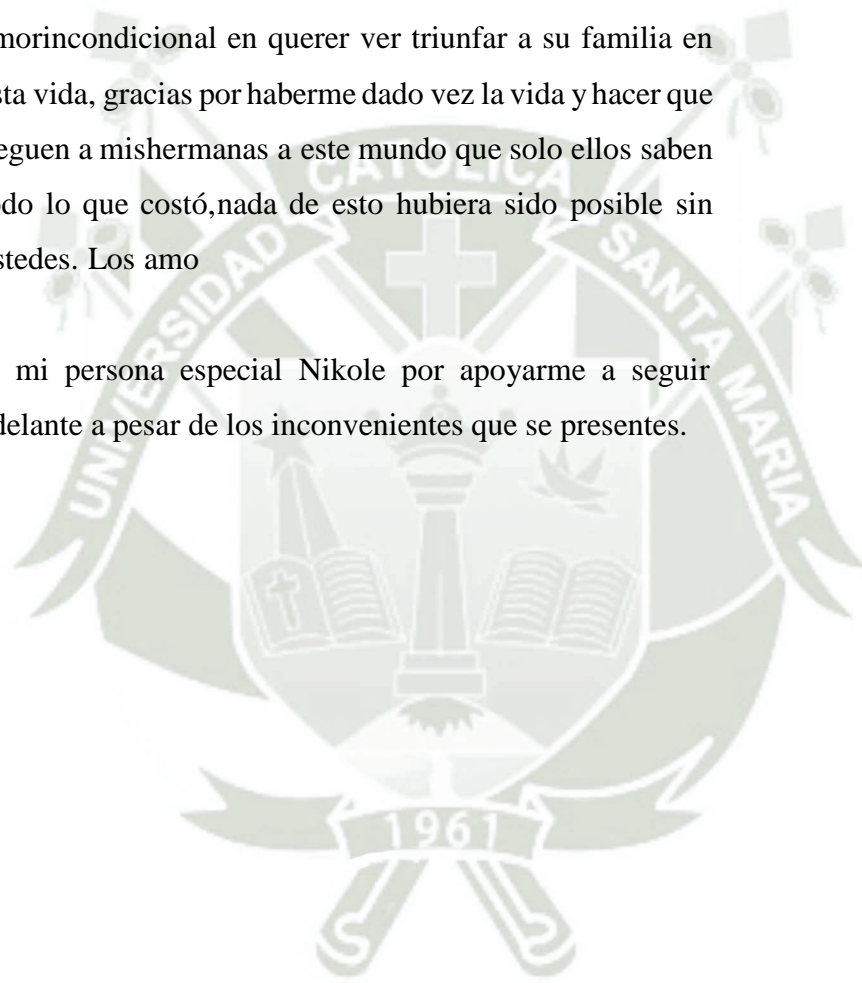
3129 - ROMAN COYLA VERONICA MARIANELLA
DICTAMINADOR



DEDICATORIA

A mi amada familia Jorge, Jessica, Celina, Felipe, Andrea y Antonella y mis engréidos duke, layca y betoven, por su amor incondicional en querer ver triunfar a su familia en esta vida, gracias por haberme dado vez la vida y hacer que lleguen a mis hermanas a este mundo que solo ellos saben todo lo que costó, nada de esto hubiera sido posible sin ustedes. Los amo

A mi persona especial Nikole por apoyarme a seguir adelante a pesar de los inconvenientes que se presentes.



AGRADECIMIENTO

A Dios, que su amor y bondad infinita me permite lograr alcanzar las metas propuestas, siempre acompañándome con su presencia divina día a día y más aún cuando siento tocar fondo haciéndome entender que son pruebas que debo superar para ser un mejor Ser Humano

A la Universidad Católica de Santa María por ser mi alma mater y haberme permitido llevar todos los años de formación en sus aulas, llenos de sacrificios, dedicación y sobretodo muchas alegrías.

Al Dr. Cs. MVZ Juan Eduardo Reátegui Ordoñez, mi amigo y asesor de tesis, nunca dudó en compartirme sus conocimientos para resolver todas las dudas, con su ayuda y dedicación incondicional se pudo hacer posible esta investigación.

A mi jefe de equipo de trabajo Eduardo Salgado. por haberme brindado su apoyo y comprensión durante la realización de este trabajo.

A mis jurados de tesis, por la orientación que me brindaron en el presente trabajo.

Y a cada persona que estuvo conmigo durante toda esta etapa, alentándome y brindándome su verdadera amistad, saben perfectamente quienes son.

RESUMEN

La termorresistencia espermática es una evaluación práctica, para poder determinar la calidad, mortalidad e integridad de los espermatozoides, sometidos a distintas temperaturas expuestas durante el proceso de conservación y manipulación de semen preservado hasta el momento de realizar la Inseminación Artificial (IA). Con el objetivo de evaluar la calidad y termo resistencia espermática en semen diluido de porcino mediante Análisis Espermático Asistido por Computadora (CASA) se analizaron 5 colectas de semen, de cada uno de los 2 genotipos de verracos a estudiados (Landrace y Large White), del total de sachets diluidos se muestrearon 3 sachets por cada colecta y genotipo, haciendo un total de 30 repeticiones o unidades experimentales de semen fresco preservado, los sachets fueron sometidos a tres temperaturas de conservación; menor a la óptima ($<16\text{ }^{\circ}\text{C}$), temperatura óptima ($16\text{ a }18\text{ }^{\circ}\text{C}$) y mayor a la óptima ($>18\text{ }^{\circ}\text{C}$) y fueron contrastadas por el sistema CASA a 0, 24, 48 y 72 horas. Se realizó investigación de nivel descriptivo con diseño experimental bloque completamente al azar mediante un arreglo factorial. Para la estadística inferencial se requirió de ANDEVA y la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%. Los resultados mostraron que la movilidad del semen se ve influenciada por la temperatura, también se observa que la movilidad del semen preservado se ve influenciado por el tiempo de conservación de la colecta 1 a la 5, mientras que solo se halló influencia en la movilidad por la interacción de la temperatura y el tiempo de conservación en la colecta 2, 4 y 5; en las colectas 1 y 3 la movilidad no se vio influenciada por dicha interacción. La morfología nominal del semen solo se ve influenciada por la temperatura en la colecta 1 y 5, también se observa que la morfología nominal del semen preservado se ve influenciado por el tiempo de conservación en las colectas 1, 3 y 5, mientras que no se halló influencia en la morfología nominal por la interacción de la temperatura y el tiempo de conservación. La gota proximal del semen se ve influenciada por la temperatura, también se observa que se ve influenciado por el tiempo de conservación excepto en la tercera colecta, mientras que solo se halló influencia en la gota proximal por la interacción de la temperatura y el tiempo de conservación en las colectas 2, 4 y 5; en las colectas 1 y 3 la gota proximal no se vio influenciada por dicha interacción. No se observó diferencia estadística significativa ($p>0,05$) en las características

seminales



del semen crio preservado a la evaluación de la termorresistencia mediante análisis espermático asistido por computadora (CASA), la interacción de temperatura y tiempo de conservación de semen conservado afecta negativamente ($p < 0,05$) en las características seminales evaluadas mediante análisis espermático asistido por computadora

PALABRAS CLAVE: Termo resistencia, semen, porcino.



ABSTRACT

The sperm thermoresistance is a practical evaluation, to be able to determine the quality, mortality and integrity of the spermatozoa, subjected to different temperatures exposed during the process of conservation and manipulation of preserved semen until the moment of carrying out the Artificial Insemination (AI). In order to evaluate sperm quality and thermoresistance in diluted boar semen by Computer Assisted Sperm Analysis (CASA), 5 semen collections were analyzed from each of the 2 boar genotypes studied (Landrace and Large White). Of the total number of diluted sachets, 3 sachets were sampled for each collection and genotype, making a total of 30 repetitions or experimental units of fresh preserved semen. The sachets were subjected to three storage temperatures; less than optimal ($<16\text{ }^{\circ}\text{C}$), optimal temperature (16 to $18\text{ }^{\circ}\text{C}$) and greater than optimal ($>18\text{ }^{\circ}\text{C}$) and were contrasted by the CASA system at 0, 24, 48 and 72 hours. A descriptive level research was carried out with a completely randomized block experimental design through a factorial arrangement. For inferential statistics, ANOVA and Tukey's test were required with a significance level of 5%. The results showed that the mobility of semen is influenced by temperature, it is also observed that the mobility of preserved semen is influenced by the conservation time of collection 1 to 5, while only influence was found in mobility by the interaction of temperature and storage time in collection 2, 4 and 5; in collections 1 and 3, mobility was not influenced by this interaction. The nominal morphology of the semen is only influenced by the temperature in collections 1 and 5, it is also observed that the nominal morphology of the preserved semen is influenced by the conservation time in collections 1, 3 and 5, while it is not observed. found influence on the nominal morphology by the interaction of temperature and storage time. The proximal drop of semen is influenced by temperature, it is also observed that it is influenced by storage time except in the third collection, while influence was only found in the proximal drop by the interaction of temperature and storage time. conservation in collections 2, 4 and 5; in collections 1 and 3 the proximal drop was not influenced by this interaction, No statistically significant difference ($p>0.05$) was observed in the semen characteristics of cryopreserved semen to the evaluation of thermoresistance by computer-assisted sperm analysis (CASA), the

interaction of temperature and preservation time of preserved semen negatively affects($p<0.05$) in seminal characteristics evaluated by computer-assisted sperm analysis

KEY WORDS: Thermo resistance, semen, pig.



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	
AGRADECIMIEN	
TOSRESUMEN	
ABSTRACT	
CAPITULO I.....	15
1. INTRODUCCIÓN.....	16
1.1. Enunciado del Problema	16
1.2. Descripción del problema	16
1.3. Justificación del trabajo.....	16
1.3.1. Aspecto general.....	16
1.3.2. Aspecto tecnológico.....	17
1.3.3. Aspecto social	17
1.3.4. Aspecto económico.....	17
1.3.5. Importancia del trabajo	18
1.4. Objetivos	18
1.4.1. Objetivos generales.....	18
1.4.2. Objetivos específicos	18
1.5. Hipótesis.....	19
CAPITULO II.....	20
2. MARCO TEÓRICO	21
2.1 Análisis bibliográfico	21
2.1.1 Composición del semen de porcino	21
2.1.2 Estructuras del espermatozoide	29
2.1.3 Evaluación seminal	35
2.1.4 Sistema de análisis seminal computarizado CASA	41
2.1.5 Características Seminales y Fenotípicas	43
2.2 Antecedentes de investigación	45
2.2.1 Análisis de tesis	45
2.2.2 Análisis de trabajos de investigación.....	55
CAPITULO III	58
3. MATERIAL Y MÉTODOS	59
3.1 Materiales	59
3.1.1 Localización del trabajo.....	59
3.1.2 Materiales biológicos	59
3.1.3 Materiales de laboratorio	60
3.1.4 Materiales de campo	60
3.1.5 Equipos y maquinarias	60
3.2 Métodos.....	60
3.2.1 Muestreo	60
3.2.2 Métodos de evaluación	61
3.3 Variables de respuesta.....	68

3.3.1	Variables independientes	68
3.3.2	Variables dependientes	68
3.4	Evaluación estadística	69
3.4.1	Diseño Experimental.....	69
CAPITULO IV		71
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	72
4.1	Resultados	72
4.1.1	Motilidad Seminal.....	72
4.1.2	Morfología Seminal	79
4.1.3	Gota Citoplasmática Distal	88
4.1.4	Cola Plegada	93
4.1.5	Gota Citoplasmática Distal	100
CAPITULO V		105
5.	CONCLUSIONES.....	106
CAPITULO VI.....		107
6.	RECOMENDACIONES	108
CAPITULO VII.....		109
7.	REFERENCIAS	110
ANEXOS.....		113
Anexo 1	Ubicación.....	114
Anexo 2	Secuencia fotográfica.....	115
Anexo 3	Informe de resultado de análisis espermático	120

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 01 Cuadro de operalización de variables	69
CUADRO N° 02 Resultados de Motilidad del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación	72
CUADRO N°. 03 Evaluación de la movilidad del semen preservado según genotipo y colecta en distintas temperaturas y tiempo de conservación	73
CUADRO N°. 04 Comparaciones múltiples por genotipo, temperatura y tiempo de conservación	75
CUADRO N°. 05 Resultados de Morfología Normal del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación	79
CUADRO N° 06 Evaluación de la morfología del semen preservado según genotipo y colecta en distintas temperaturas y tiempo de conservación	80
CUADRO N°. 07 Comparaciones múltiples por grupo	82
CUADRO N°. 08 Evaluación de la movilidad del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempo de conservación	83
CUADRO N°. 09 Comparaciones múltiples por grupo	84
CUADRO N.º. 10 Resultados de Gota Citoplasmática Distal del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación	88
CUADRO N°. 11 Evaluación de la gota distal del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempo de conservación	90
CUADRO N° 12 Comparaciones múltiples por grupo	91

CUADRO N° 13 Resultados de Cola Plegada del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación	
93	
CUADRO N°. 14 Evaluación de las colas plegadas del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación	
95	
CUADRO N°. 15 Comparaciones múltiples por grupo	
96	
CUADRO N°. 16 Evaluación de las colas plegadas del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación	
96	
CUADRO N°. 17 Comparaciones múltiples por grupo	
97	
CUADRO N°18 Resultados de progresividad del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas	1
00	
CUADRO N°. 19 Evaluación de la progresividad semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación	1
01	
CUADRO N°. 20 Comparaciones múltiples por grupo	1
02	

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N°. 1 Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la segunda Colecta.....	76
GRÁFICO N°. 2 Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la cuarta Colecta.....	77
GRÁFICO N°. 3 Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la quinta Colecta.....	78
GRÁFICO N°. 4 Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la segunda Colecta.....	85
GRÁFICO N°. 5 Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la cuarta Colecta.....	86
GRÁFICO N°. 6 Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la quinta Colecta.....	87
GRÁFICO N°. 7 Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la primera Colecta.....	92
GRÁFICO N°. 8 Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la segunda Colecta.....	98
GRÁFICO N°. 9 Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la quinta	

Colecta..... 99

GRÁFICO N°. 10 Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la segunda
Colecta..... 103

GRÁFICO N°. 11 Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la quinta
Colecta..... 104



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 01 Esquema del espermatozoide del porcino	25
Figura N° 2 Esquema de composición de la membrana plasmática	27
Figura N° 3 Diferencias entre las imágenes obtenidas con contraste de fases positivo (izquierda) y negativo (derecha)	61
Figura N° 4 Trayectoria curvilínea de un espermatozoide a diferentes frecuencias de captura	62
Figura N° 5 Identificación del centroides de la cabeza del espermatozoide	64
Figura N° 6 Reconstrucción de una trayectoria a partir de los centroides de la cabeza de un espermatozoide móvil en la secuencia de imágenes de video	64

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Foto N° 01: Recepción del semen en el laboratorio	1
15	
Foto N° 02: Dilución del semen en viales para evaluación en el sistema CASA	1
15	
Foto N° 03: Microscopio del sistema de análisis espermático asistido por computadora CASA	1
15	
Foto N° 04: Análisis del sistema CASA	1
16	
Foto N° 05: Identificación de espermatozoides por el sistema CASA	1
16	
Foto N° 06: Preparación de los Sachets	1
16	
Foto N° 07: Conservación de sachets a diferentes temperaturas $T > 18C^{\circ}$	1
17	
Foto N° 08: Conservación de sachets a diferentes temperaturas $T 16-18C^{\circ}$	1
18	
Foto N° 09: Conservación de sachets a diferentes temperaturas $T < 16C^{\circ}$	1
19	



1. INTRODUCCIÓN

1.1. Enunciado del Problema

Evaluación de termorresistencia de semen comercial porcino mediante Análisis Espermático Asistido por Computadora - CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis).

1.2. Descripción del problema

A pesar de que los protocolos empleados para la preservación de semen porcino han sufrido notables modificaciones en los últimos años, con el fin de reducir el efecto deletéreo que el proceso produce sobre los espermatozoides, para así conseguir una mejor calidad del semen preservado, la pérdida de viabilidad espermática sigue siendo considerable, puesto que únicamente sobreviven a la preservación en torno a un 50% (1). esto hace pensar que es necesario un correcto manejo de las temperaturas de conservación durante todo el tiempo transcurrido hasta la IA razón por la cual es necesario realizar una prueba de termorresistencia en semen porcino preservado comercial evaluando en el transcurso del tiempo la calidad seminal del mismo.

1.3. Justificación del trabajo

1.3.1. Aspecto general

La termorresistencia espermática es una evaluación práctica, para poder determinar la calidad, mortalidad e integridad de los espermatozoides, sometidos a distintas temperaturas que están expuestos durante todo el proceso de conservación y manipulación de semen preservado hasta el momento de realizar la IA.

Los porcentajes medios relativos a la integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides a medida que aumenta el tiempo de incubación, se produce una disminución clara de la vitalidad espermática (1).

La mayoría de las pruebas convencionales utilizadas de forma

rutinaria en la valoración del semen fresco tienen, individualmente
consideradas, un



valor limitado a la hora de explicar la alta variabilidad en la resistencia de los eyaculados de verraco (2) por ello la presente investigación precisa evaluar la calidad del semen expuesto a diferentes temperaturas y tiempos a las que puede estar expuesto el semen durante su manejo, transporte y conservación antes de su uso en la IA.

1.3.2. Aspecto tecnológico.

La termorresistencia busca evaluar la calidad de semen porcino diluido, expuesto a diferentes temperaturas y en distintos tiempos de almacenaje para poder determinar la resistencia y calidad espermática. La inseminación artificial (IA) con semen refrigerado es la práctica más común en la crianza y el manejo reproductivo porcino, por lo que cualquier mejora en la misma ayudará a aumentar significativamente su eficiencia reflejada en índices de fertilidad.

El estudio de la termorresistencia espermática en semen preservado de porcino servirá como herramienta útil para el buen manejo y transporte espermático con el mantenimiento de características seminales aptas para la aplicación de biotecnologías reproductivas y su repercusión de mejoras de indicadores reproductivos.

1.3.3. Aspecto social

El correcto manejo de la temperatura del semen preservado y el conocimiento de la termorresistencia espermática al conservar una dosis de semen para la IA representa una gran mejora para la producción y reproducción porcina y en consecuencia para el producto, para ello el saber tener los parámetros de la termorresistencia del espermatozoide en el semen diluido y comercializado significa la mejora productiva del sistema de producción de carne porcina.

1.3.4. Aspecto económico

El saber la termorresistencia que tiene el espermatozoide en el semen preservado representa una mejora económica para los productores,

porque



afecta directamente en la calidad de la dosis de semen, en la fertilidad del semen conservado y el número de lechones nacidos impactando directamente en los indicadores reproductivo y económicos del sistema de producción porcina.

1.3.5. Importancia del trabajo

La importancia de la investigación consiste en evaluar la termorresistencia espermática y con ella la funcionalidad, viabilidad y calidad del semen conservado de porcino a lo largo del tiempo de conservación del semen.

La termorresistencia espermática juega un papel importante en la evaluación seminal, tener el conocimiento de la calidad de semen es importante tanto para el productor como para la producción, los análisis y pruebas seminales nos ayudan a tener ese conocimiento ya que brindan parámetros que permiten tener un mejor manejo del semen para su posterior uso en reproducción, los análisis, pruebas y resultados de una investigación, nos permiten tener mayor conocimiento para poder tener una mejor calidad del semen, mejor conservación, transporte y calidad del semen.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivos generales

Evaluar la calidad y termorresistencia espermática en semen diluido de porcino mediante Análisis Espermático Asistido por Computadora – CASA.

1.4.2. Objetivos específicos

- Evaluación de la calidad espermática de semen preservado según genotipo en temperatura menor a la óptima a las 0, 24, 48 y 72 horas.
- Evaluación de la calidad espermática de semen preservado según genotipo en temperatura óptima a las 0, 24, 48 y 72 horas.

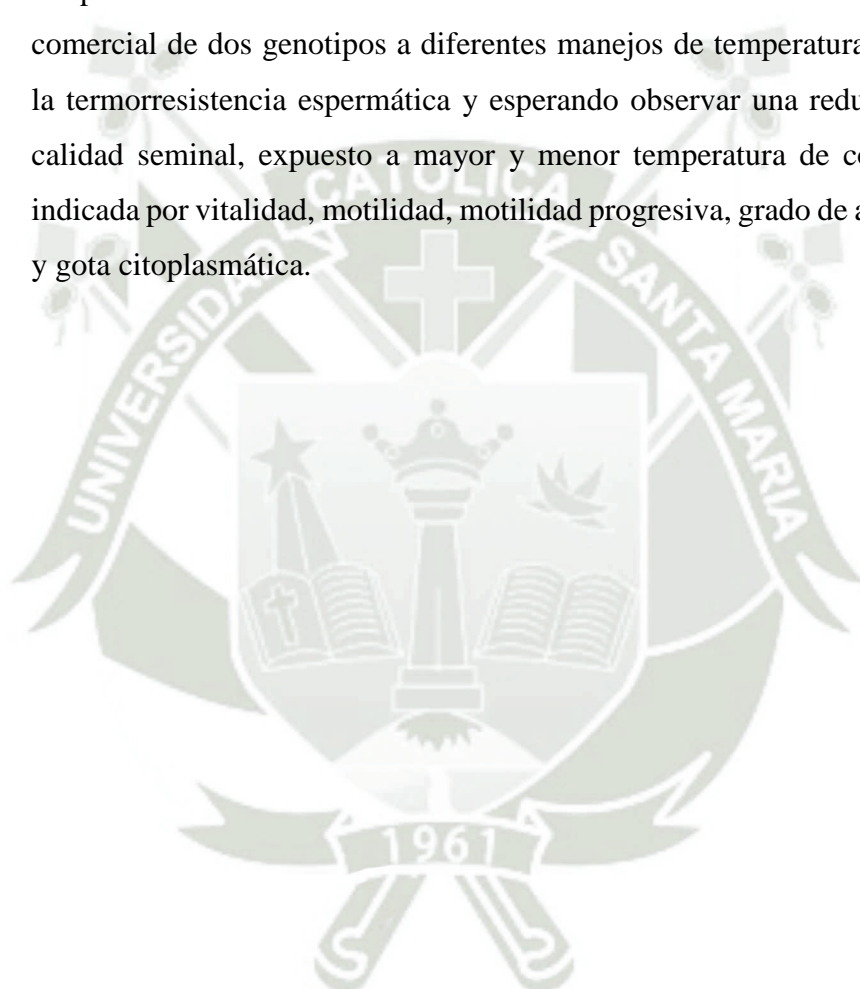
- Evaluación de la calidad espermática de semen preservado según genotipo en temperatura mayor a la óptima a las 0, 24,48 y 72 horas.



1.5. Hipótesis

Dado que la prueba de termorresistencia de semen diluido de porcino nos indica la capacidad de resistencia del espermatozoide expuesto a diferentes temperaturas y tiempos de conservación, es probable que:

Se pueda evaluar la calidad seminal en muestras de semen preservado comercial de dos genotipos a diferentes manejos de temperatura, valorando la termorresistencia espermática y esperando observar una reducción en la calidad seminal, expuesto a mayor y menor temperatura de conservación indicada por vitalidad, motilidad, motilidad progresiva, grado de aglutinación y gota citoplasmática.







2. MARCO TEÓRICO

2.1 Análisis bibliográfico

2.1.1 Composición del semen de porcino

El semen de porcino difiere al de otras especies domésticas, la característica más destacada es el gran volumen de eyaculado que llega a ser de entre 200 y 250 ml de semen. El eyaculado se compone de espermatozoides y plasma seminal, el cual se encuentra constituido por una mezcla del contenido de los ductos de la cola del epidídimo y de secreciones producidas por las glándulas sexuales accesorias, las cuales se vacían al lumen uretral de forma fraccionada y concentrada, por lo que el eyaculado se divide en tres fracciones o porciones. En la primera fracción denominada pre-espermática predomina la secreción de las glándulas uretrales, bulbo uretrales y próstata. En la segunda porción o “fracción rica” es donde se encuentra la gran mayoría de los espermatozoides y donde el fluido del epidídimo en el que originalmente son bañados se diluye con fluido derivado de las vesículas seminales y de la próstata. La última fracción también denominada post-espermática en la cual se encuentra una menor proporción de espermatozoides bañados casi en su totalidad por secreciones provenientes de las vesículas seminales, próstata y glándulas bulbo uretrales (3).

El plasma seminal contiene bajas concentraciones de fructosa y sorbitol y a la vez un elevado contenido de ácido cítrico, ergotina e inositol, las cuales son producidas en las vesículas seminales. El gel seminal o tapioca contiene una alta concentración de ácido siálico, lo que refleja la funcionalidad de las glándulas bulbo uretrales, estas contribuyen a la secreción acuosa que es pobre en materia orgánica pero rica en cloruro de sodio (3).

Existen diversos factores que afectan la calidad espermática del semen de porcino, como lo son el fotoperíodo, humedad relativa, temperatura, nutrición, manejo, raza, edad, infecciones virales, parasitarias o bacterianas y en específico la frecuencia con la que se colecta semen,

en esta última se



ve un decremento en la concentración espermática, así como un efecto en lamotilidad y morfología (3).

- **Espermatozoides**

Los espermatozoides son el producto final del proceso de la gametogénesis en el macho. Se trata de una célula haploide, es decir, que tiene la mitad de cromosomas que una célula somática y es la portadora de la información genética paterna (4).

Los espermatozoides son únicos entre las células en su forma y función, maduros tienen una cabeza forma aplanada, portadora del núcleo y una cola, que contiene el aparato necesario para la motilidad celular. El acrosoma o casquete acrosómico es una estructura de doble pared, situada en la porción anterior del núcleo. El cuello une a la cabeza del espermatozoide con su cola, la cual a su vez se subdivide en los segmentos medio, principal y caudal o terminal; son células germinales, producto final de procesos de desarrollo complejos y no pueden experimentar posteriores divisiones o diferenciaciones (5).

Los gametos masculinos o espermatozoides se forman en los túbulos seminíferos de los testículos. El rol principal de esta célula terminal es el transporte de un paquete, constituido por el genoma nuclear y el centriolo, hasta el ovocito (4).

- **Plasma seminal**

El plasma seminal permite a los espermatozoides, su transporte desde el sistema reproductor del macho, durante la eyacuación, hasta el tracto genital de la hembra. Es un fluido isoosmótico compuesto en un 75% por agua, llevando en disolución fructosa, ácido cítrico, sorbitol, inositol, fosfolípidos, prostaglandinas, enzimas y proteínas, además de iones inorgánicos como sodio, potasio y cloro (5).

Presenta un pH neutro sostenido por un complejo sistema tampón que protege a los espermatozoides de los cambios de pH, que afectan la



supervivencia de las células espermáticas, cuya función química es mantener la bioquímica nutricional del espermatozoide donde el pH del semen recién eyaculado se encuentra próximo a 7.4 ± 0.2 , al igual que otros fluidos orgánicos y cuando se reduce este pH al mismo tiempo se reduce el metabolismo energético del espermatozoide y su motilidad (5).

El metabolismo glicolítico que desarrolla el espermatozoide (el carbohidrato principal es la glucosa) hace que el pH intracelular disminuya y el metabolismo celular quede reducido por lo que su alimentación del espermatozoide se ve afectada. El ácido, láctico es el principal metabolito de este proceso y ha sido utilizado como índice de calidad seminal (5).

- **Morfología del espermatozoide**

El espermatozoide del cerdo se asemeja mucho al de otros ungulados domésticos. La cabeza es de aproximadamente $8.5\mu\text{m}$ de largo; es el doble de largo que de ancho (3).

La pieza intermedia es de aproximadamente $10\mu\text{m}$ de largo y la cola es de $30\mu\text{m}$. La cabeza está cubierta por una estructura derivada del aparato de Golgi que se encuentra en forma de capa denominada acrosoma constituida por una membrana acrosomal interna y una externa, la primera más corta que la segunda, ambas son una extensión de la membrana plasmática del espermatozoide; además, en el interior de ambas membranas se encuentra el contenido acrosomal, compuesto por enzimas que son liberadas durante la reacción acrosomal. Al segmento donde coinciden estas dos partes se le denomina zona ecuatorial (3).

Los espermatozoides pueden perder el acrosoma cuando mueren, a este fenómeno se le conoce como reacción acrosomal degenerativa y el análisis de esta reacción sirve para determinar el nivel de daño espermático (3).

- **Características**

La forma y tamaño de los espermatozoides en un momento determinado es consecuencia de los factores que afectan la espermatogénesis y su valoración ha sido tradicionalmente una técnica complementaria al análisis seminal que potencialmente puede determinar las variaciones celulares que afectan la fertilidad (6).

Las anomalías morfológicas se clasifican en primarias y secundarias. Las primarias se originan en el testículo y se relacionan con defectos de la cabeza espermática, acrosoma y presencia de gota citoplasmática proximal; las secundarias se originan en el epidídimo y están relacionadas con la presencia de gota citoplasmática distal y otros defectos del flagelo espermático (4).

La producción de espermatozoides anormales puede deberse a la edad, problemas nutricionales, enfermedades, factores ambientales (calor, heridas por traumatismos, sustancias tóxicas, cambio de ambiente, etc.), como por razones hormonales o genéticas (7).

Las alteraciones en la morfología pueden tener un origen genético, de ahí la importancia de presentar una correcta morfología. Un espermatozoide cuya información genética, la mitad del futuro embrión, no esté bien codificada y organizada no dará lugar a un embrión viable (8).

La morfología está más relacionada con las tasas de fertilidad que la concentración o la motilidad, y se sabe que los eyaculados con mejor concentración tienden a presentar menor porcentaje de células anormales. Sin embargo, la morfología espermática y el análisis del semen en su conjunto, a menudo no son suficientes para determinar un diagnóstico definitivo de infertilidad de un

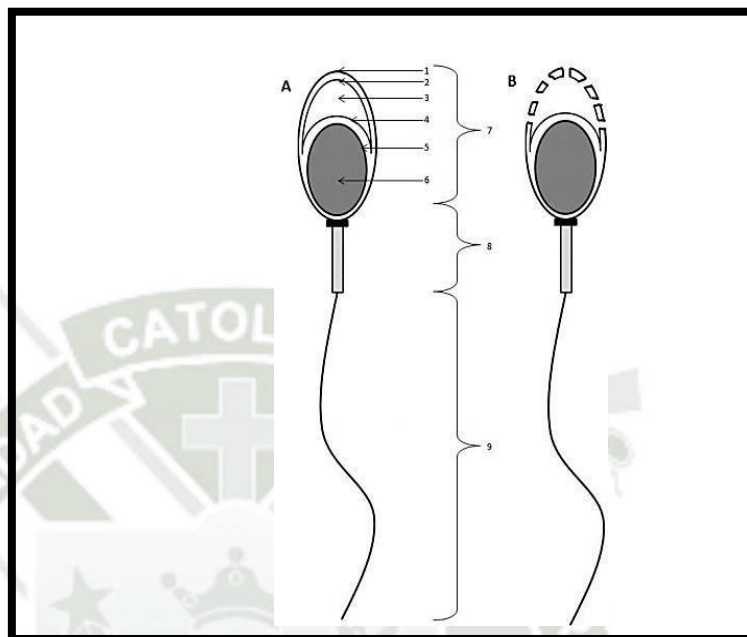
individuo, pues un análisis



convencional no cubre el espectro biológico de una célula tan especializada como el espermatozoide (4).

Figura N° 1

Esquema del espermatozoide del porcino



A) Representación esquemática de un espermatozoide "sin reacción acrosomal" donde se observa la (1) membrana plasmática, (2) membrana acrosomal externa, (3) contenido acrosomal, (4) membrana acrosomal interna, (5) envoltura nuclear, (6) núcleo, (7) cabeza, (8) pieza intermedia y (9) cola del espermatozoide sin reacción acrosomal.
B) Representación de un espermatozoide de porcino con reacción acrosomal

Fuente: Valdés (2015):

- **Membrana celular**

La membrana celular fue descrita por primera vez por Schwann en 1839 en su obra "Teoría Celular", donde la describe como una estructura capaz no solo de separar los contenidos celulares del medio externo, sino que además era capaz de alterar químicamente las sustancias con las que entraba en contacto. En 1888 George Quincke propuso que la membrana plasmática era de naturaleza lipídica y proteica. En estudios posteriores se destacaron los siguientes puntos acerca de la estructura y funciones de la membrana plasmática (3).

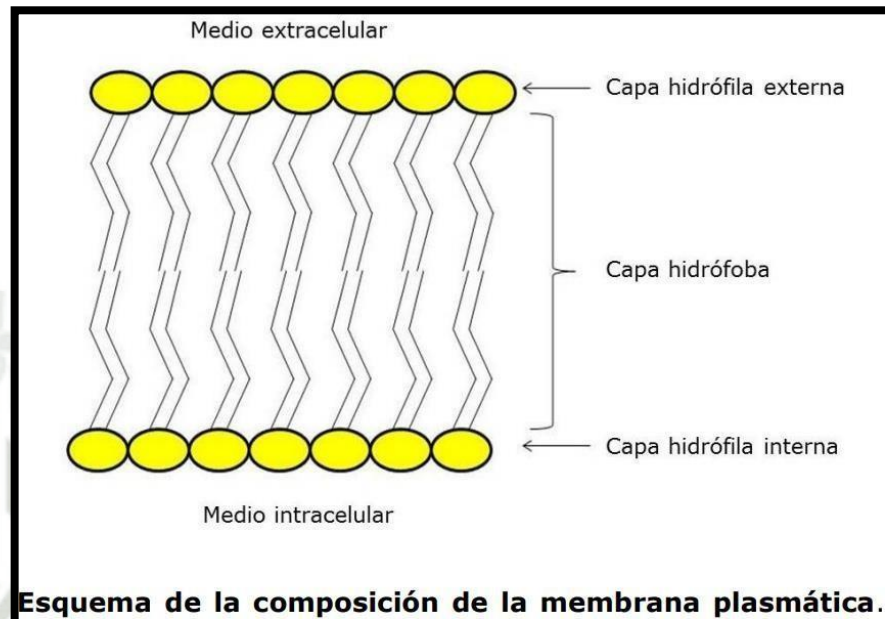
1) Constituida por proteínas y lípidos.

- 2) Los lípidos son anfifílicos y se organizan de tal manera que forman una bicapa, las regiones polares se orientan hacia el exterior de la membrana y las no polares al interior de ésta.
- 3) La estructura es mantenida por las interacciones hidrófobas, estas interacciones son relevantes tanto en la organización de los lípidos como en la interacción entre lípidos y proteínas.
- 4) Existen interacciones entre proteína y proteína (3).

Las proteínas involucradas en el transporte de sustancias atraviesan la membrana. El modelo de Mosaico Fluido propone a la membrana celular como una solución bidimensional de lípidos en la que se encuentran sumergidas proteínas globulares, postulando que:

- 1) Cada molécula lipídica puede desplazarse en el plano de la monocapa en la que se encuentra, que le proporciona un estado de fluidez a la membrana.
- 2) Las proteínas que se encuentran inmersas en la membrana pueden moverse lateralmente.
- 3) La membrana celular es asimétrica lo que significa que cada una de sus caras es diferente (3).

Figura N° 2

Esquema de composición de la membrana plasmática

Fuente: Valdés, 2015 (3).

Una característica de la membrana plasmática es el transporte de sustancias. En general las moléculas sin carga eléctrica (no iónicas) como el H₂O, N₂, O₂, CO₂, etanol, glicerol y los esteroides se difunden a través de la membrana. Las moléculas con carga eléctrica (iónicas) como H⁺, Na⁺, Ca⁺⁺, Cl⁻, glucosa y todos los aminoácidos no difunden a través de la membrana ya que al presentar carga eléctrica se unen a moléculas de H₂O las cuales deben liberar para poder atravesar la porción hidrófoba de la membrana plasmática (9).

- **Membrana espermática**

Las células espermáticas y su membrana plasmática ofrecen un modelo de estudio interesante, ya que ellas exhiben una composición lipídica diferente al de las células somáticas, con una polaridad lateral inusual que es objeto de cambios dinámicos posterior al eyaculado, lo cual constituye un papel importante en la fertilización (10).

Los espermatozoides de los mamíferos son células altamente diferenciadas, lo que se refleja en su membrana plasmática. Basados en evidencia morfológica, la distribución de las diferentes clases de proteínas integrales de la membrana varía significativamente entre la cola, la pieza intermedia, la región ecuatorial y el acrosoma. En la membrana plasmática se encuentra el 35% del total de lípidos del espermatozoide (3).

Existe evidencia que indica que la composición de la membrana plasmática, en particular la constitución lipídica, está relacionada con la susceptibilidad de las células a la criocapacitación o al choque por frío. Especies que producen espermatozoides con un alto contenido de colesterol y grasas poliinsaturadas en la membrana tienden a ser más susceptibles al choque por frío, el colesterol está involucrado en la fluidez y estabilidad de membrana, en los espermatozoides de porcino a diferencia de los de bovino el porcentaje de colesterol en las membranas es menor (0.45 y 0.26% respectivamente) y se distribuye de manera asimétrica ya que se encuentra en mayor proporción en la monocapa externa (11).

- **Cromatina nuclear**

La cromatina espermática es una estructura compacta, condensada y organizada, la cual es considerada un componente clave en la fertilización y término de la gestación (12).

Se ha reportado en humanos y otras especies domésticas, entre ellas los cerdos, que los machos infértiles tienen mayores niveles de defectos en la cromatina e integridad del ADN en contraste a los individuos fértiles; además, la calidad del semen se encuentra relacionada con estas deficiencias (13).

- **Fracciones del eyaculado**

Fracción 1: Fracción pre espermática, la cual es acuosa y de fácil identificación por su transparencia y su función es limpiar el paso del semen por el pene, limpiando así las vías genitourinarias; es la primera emisión, constituida principalmente por secreciones de glándulas accesorias y tiene un volumen de alrededor de 10 ml, esta fracción tiene como características que no tiene espermatozoides, tiene una alta carga bacteriana y presenta unos grumos que se originan de la glándula de Cowper, es de color transparente y no interesa para la recolección (5).

Fracción 2: Fracción rica en espermatozoides, que comprenden líquidos que son espesos, blanquecinos y opacos, ya que contienen la mayor carga espermática y es la de mayor importancia del eyaculado, esta es la fracción que se colecta con fines de inseminación (5).

Fracción 3: Gel o tapioca, que procede de las glándulas de Cowper y que consta de unos grumos gelificados que se expulsan al final del eyaculado después de la fracción rica en espermatozoides, esta es desechada porque aumenta las aglutinaciones espermáticas en el semencolectado. Esta fase tiene poco contenido de espermatozoides y es de color transparente con gran cantidad de grumos (que sirven para formar un sello en la hembra luego de la eyaculación). No tiene ningún interés para la recolección, pero la importancia de su observación es que en ocasiones está alternada con emisión de fracción rica en espermatozoides, tiene un volumen aproximado de 200 ml. y está constituido por gran cantidad de plasma seminal, secreciones de la próstata y grumos de la glándula de Cowper (5).

2.1.2 Estructuras del espermatozoide

- **Cabeza del espermatozoide**

La cabeza del espermatozoide presenta importantes diferencias en

la forma entre las distintas especies animales. Por ejemplo, es ovoide y discoidal en conejo, toro y cerdo, falciforme en ratón, rata y hámster, y



algo aplastada y elipsoide en el hombre. La característica principal de esta estructura, es el núcleo oval aplanado, conteniendo cromatina condensada, muy compacta y que consiste en un complejo formado por ADN y una clase especial de proteínas básicas llamadas protaminas (14).

El núcleo espermático en el extremo anterior, está cubierto en casi su totalidad por el acrosoma, una membrana que aparece durante la espermiogénesis originada desde el aparato de Golgi. Esta estructura en forma de casquete, contiene acrosina, hialuronidasa y otras enzimas hidrolíticas que participan activamente en el proceso de la fecundación (4).

El "segmento ecuatorial" de esta zona resulta muy importante, debido a que es en esta parte del espermatozoide, junto con el segmento anterior de la región posacrosómica, donde se fusiona inicialmente la membrana del ovocito durante la fecundación. La reactividad de la membrana acrosomal representa un requisito absoluto para la fertilización *in vivo*; sólo los espermatozoides que pueden realizar la reacción acrosomal tienen la habilidad de pasar a través de la zona pelúcida del ovocito y como consecuencia, fusionarse con él para formar un embrión (15).

La cromatina nuclear está altamente condensada, ocupando un volumen significativamente menor que el ocupado en células somáticas. De hecho, el DNA sufre un empaquetamiento tan estrecho con las proteínas nucleares que la transcripción es casi imposible. Este empaquetamiento de la estructura cromática puede resultar esencial para evitar el daño del DNA si los espermatozoides son expuestos a ambientes agresivos, como pueda ser la elevada acidez del tracto reproductor femenino (14).

El acrosoma es una vesícula intracelular, membranosa y aplanada

que cubre la parte anterior del núcleo, variando considerablemente su tamaño y forma entre las distintas especies. Es una membrana que aparece durante la espermatogénesis como producto del complejo de



Golgi. Si bien la membrana acrosómica interna se dispone por encima de la membrana nuclear, la membrana acrosómica externa se sitúa por debajo de la membrana plasmática. La reactividad de la membrana acrosomal representa un requisito absoluto para la fertilización *in vivo*; sólo los espermatozoides que pueden realizar la reacción acrosomal tienen la habilidad de pasar a través de la zona pelúcida y como consecuencia, fusionarse con el ovocito para formar un embrión (15).

- **Pieza media o cuello**

La pieza media o cuello, como su nombre indica está situada entre la cabeza y el flagelo, y es una zona un poco más ensanchada que la base de la cola. Su función es primordial porque alberga las mitocondrias, consideradas el motor del movimiento del espermatozoide, pues son las responsables de generar energía (8).

- **Flagelo del espermatozoide**

El flagelo o cola espermática está formado por un axonema eucariota típico, con una estructura radial de micro túbulos. Alrededor de este axonema se sitúan diversas estructuras que varían respecto al segmento del flagelo que se trate (14).

Tanto la parte intermedia, como la principal, contienen una serie de elementos semirrígidos cuya función es la de otorgar direccionalidad y flexibilidad al movimiento flagelar. La parte intermedia contiene las mitocondrias estructuradas en una vaina mitocondria, cuya función es la de generar la energía necesaria para el mantenimiento del movimiento del axonema. El flagelo está formado por el cuello o pieza de conexión y los segmentos intermedio, principal y terminal. El cuello o segmento conector es corto, y forma una placa basal que termina en una depresión en el extremo posterior del núcleo, continuando en sentido posterior, conteniendo a su vez, nueve fibras gruesas que se proyectan hacia

atrás a través de la mayor parte del flagelo (14).



El segmento principal es el más largo del flagelo espermático y se continua en sentido posterior al anillo citoplasmático, extendiéndose casi hasta la punta del mismo, y está formado por el axonema en el centro y sus fibras gruesas asociadas. El segmento caudal o terminal, posterior a la terminación de la vaina fibrosa, contiene solo el axonema central cubierto de membrana plasmática (14).

La estructura del citoesqueleto, característica de espermatozoides de mamífero (y algunas especies de pájaros), consiste en un cilindro hueco formado por dos columnas longitudinales unidas por anillos circulares. Las columnas (compuestas por el débil empaquetamiento longitudinal de estructuras filamentosas de 15 a 20 μm de diámetro), están situadas en la región donde dos de las fibras densas no están presentes, recorriendo toda la pieza principal. Los anillos de la vaina están compuestos por filamentos orientados circularmente que presentan un fuerte empaquetamiento. La vaina fibrosa parece estar implicada en la modulación del plano de batida del flagelo espermático. Finalmente, el segmento terminal presenta una ausencia total de estructuras excepto los túbulos del axonema (10).

- **Colección del semen**

La colección del semen debe hacerse en una sala de colección o en el corral del verraco en cuestión. La colección puede hacerse con vagina artificial o manualmente, ya sea con mano enguantada o introduciendo el pene en un cilindro de goma descartable. Normalmente se usa un potrode metal para la colección, al cual los verracos entrenados montan sin mayores problemas (16).

En el caso de colección de semen para diagnóstico en campo, lo más indicado (y probablemente la única forma de colección) es usar

una cerda en celo, de edad y tamaño corporal adecuados para el verraco. El semen se colecta en una bolsa de plástico montada en un termo o en un



recipiente aislante de boca ancha. La apertura del recipiente se cubre y fija con gasa a los efectos de evitar el contacto de la secreción gelificante de las glándulas bulbouretrales con el resto del eyaculado. Se deja que el verraco entre al área de colección y se familiarice con el ambiente y el potro de colección, una vez que el verraco haya montado en forma correcta el potro, en caso de usar vagina artificial se deja que el macho haga movimientos de búsqueda con su pene y que le permite penetrar lavagina artificial con una buen cantidad de aire en su cámara (mitad de agua templada y aire), a partir de cuyo momento se comienza a pulsar un manguito de goma acoplado a la válvula de la vagina artificial de modo que la presión dentro de la vagina artificial aumente y pulse rítmicamente. En caso de usar el método manual, se permite también queel verraco haga movimientos de búsqueda de la vulva o por debajo del potro y cuando los movimientos de búsqueda disminuyen, se atrapa el glande del pene (porción espiralada) con la mano y se ejerce fuerte presión manual continuada sobre el espiral. En el caso de usar un cilindro descartable de goma se coloca el glande del pene dentro del cilindro y se aplica una presión moderada con la mano sobre el cilindro. La presión aplicada sobre el glande del pene (ya sea con vagina artificial, cilindro o mano) provoca la eyaculación que demora más o menos entre 5 y 15 minutos dependiendo del verraco (16).

Como ya se ha descrito, el eyaculado del cerdo es fraccionado y consiste de una primera fracción que en principio solo contiene secreción de la próstata y algo de gel de las glándulas bulbouretrales (acuosa, translúcida a opaca en color). La segunda porción del eyaculado, fácilmente identificable por su color blanco a lechoso, se llama fracción rica en espermatozoides a la que le sigue otra fracción (post- espermática) donde el número de espermatozoides disminuye rápidamente y donde la secreción creciente de las vesículas seminales y de las glándulas bulbouretrales dominan (la fracción post-espermática vuelve a ser translúcida u opaca, dependiendo del

volumen de la secreción bulbouretral que contenga. En muchos verracos se nota un



intervalo entre la primera y segunda fracción, lo cual a veces lleva a detener la colección pensando que ya ha eyaculado. Esto no debe permitirse ya que lleva a la colección incompleta del eyaculado, con muy bajo volumen y prácticamente libre de espermatozoides. El volumen del eyaculado varía normalmente dentro de un rango importante (100 a 300ml) pero si el volumen colectado es menos de 50ml y la concentración espermática muy baja, hay razón para pensar que la eyaculación (colección) no ha sido completa y debe repetirse. La presión manual (o la presión de la vagina artificial) sobre el espiral peneano debe mantenerse durante toda la eyaculación. Sólo se disminuye la presión cuando el verraco intenta hacer nuevos movimientos de búsqueda, lo que marca que la eyaculación ha terminado. Si esto no se hace, el verraco comenzará una nueva onda de eyaculación, algo que algunos consideran incorrectamente como verracos que eyaculan dos fracciones ricas en espermatozoides en su eyaculado (17).

- **Aptitud reproductiva del verraco**

Su aptitud reproductiva depende primariamente de su salud general y su bienestar y específicamente de la función de su sistema endocrino y de sus testículos, su tracto genital y sus glándulas sexuales accesorias, todo lo cual incide en la eficiencia de su capacidad de servicio. Cada una de estas funciones puede cambiar en forma continua, dependiente o independientemente entre sí, pasando de ser muy buena a muy mala en el tiempo, afectando la fertilidad en grado variable. La evaluación de la aptitud reproductiva persigue un sólo propósito; llegar a un diagnóstico que permita pronosticar el uso del reproductor o de su semen. La evaluación se compone del examen clínico del reproductor, incluyendo su capacidad para servir hembras, así como de la calidad de su semen y, en última instancia, del análisis de su fertilidad, probada mediante registros apropiados (4).

No obstante, aunque es necesaria una buena calidad para alcanzar valores de fecundidad aceptables, no todos los eyaculados aptos mantienen niveles de fertilidad dentro de la normalidad (18).

2.1.3 Evaluación seminal

- **Color y olor**

El color es normalmente gris a blanco grisáceo. En caso de haberse colectado solamente la segunda fracción, el color se hace o más blanco o tira a amarillento, dependiendo del verraco y de la concentración espermática. La contaminación con sangre, suciedad o flóculos se considera inaceptable (16).

La aparición de colores u olores anómalos puede ocurrir por alteraciones patológicas del aparato genital o por la mezcla del semen con orina durante la eyaculación (19).

- **Volumen**

El eyaculado total promedio del verraco es de 250 ml, con un rango que varía entre 50 a 400 ml. La gran variación del volumen seminal se explica por el tamaño de las glándulas seminales y bulbouretrales y al grado de estimulación sexual alcanzado antes de la colecta y; también es consecuencia de los diversos factores que influyen en el verraco y que afectan de manera directa o indirecta la producción del eyaculado, como: La edad, raza, frecuencia de colecta, estado nutricional, momento de la colecta, estado de salud y los agentes estresantes (18).

El eyaculado del verraco presenta tres fracciones, que se pueden separar fácilmente: La primera fracción es un líquido transparente pobre en espermatozoides; luego de 30 segundos a un minuto se secreta la segunda fracción, que es una emisión blanquecina muy rica en espermatozoides (500 a 1000 000 / mm³), luego el color cambia a un color más claro, con pobre concentración espermática (100 000

/ mm3),



en esta fase se secreta el mayor volumen del eyaculado, que puede alcanzar 80 ml (Cameron, 1989) y la tercera fracción, sale al final del eyaculado, es un líquido viscoso gelatinoso con gránulos secretado por las glándulas Bulbouretrales, que constituye el 20% del eyaculado (16).

- **Aspecto.**

El aspecto del semen por lo general se determina por el grado de opacidad, con variaciones de denso cremoso a denso acuoso lo cual ayuda a determinar la calidad del material seminal obtenido (20).

El eyaculado, es un líquido denso y a su vez cremoso, que contiene espermatozoides en un contorno llamado plasma seminal (20).

- **pH**

El semen del verraco tiene un pH que oscila entre 6.5 a 7.5. Los cambios en el pH seminal afectan la viabilidad y motilidad espermática. Los bajos o elevados niveles de la secreción de las glándulas sexuales accesorias son determinantes para que el pH del semen tenga una reacción alcalina o más ácida (17).

El semen con un pH elevado, por encima de 8, es indicador de un eyaculado de baja calidad o que el verraco tiene un proceso infeccioso en el tracto genital (16).

Las variaciones de pH entre eyaculados de un mismo reproductor pueden ser generados por el pH del epidídimo, que es ácido, entre 5,9 a 6,9, originado por la permanencia de los espermatozoides en estado de anabiosis e inmovilidad (21).

- **Motilidad espermática**

La evaluación de este parámetro determina la proporción de espermatozoides móviles y de movimiento progresivo. La

movilidad



individual es una de las características más indicadoras de la capacidad fecundante *in vivo* de una muestra de semen y se correlaciona positivamente con la fertilidad en porcinos (10).

La motilidad y viabilidad de los espermatozoides depende de una secreción equilibrada y proporcional de la vesícula seminal y próstata. Los fluidos de la vesícula seminal contienen factores que tienen un efecto negativo sobre la motilidad espermática. Mientras, que la secreción de la próstata contiene factores que estimulan la motilidad y al entrar en contacto con los espermatozoides lo protegen de los efectos negativos de la secreción de la vesícula seminal (4).

El movimiento normal de los espermatozoides es rectilíneo, en una sola dirección, progresivo y con movimientos rápidos de la cola. Los eyaculados con estas características son los más fértiles y para ser considerados de calidad, el 80% de los espermatozoides deben tener un movimiento progresivo (10).

Los espermatozoides presentan también movimientos anormales, de rotación, vibración y retroceso, la observación de estas anomalías se relaciona con una menor fertilidad (4).

- **Metabolismo espermático**

El espermatozoide es una célula altamente especializada y su actividad metabólica varía de acuerdo a diferentes etapas de la vida del gameto cual está determinada por señales del medio que lo rodea con el fin de lograr la fecundación. El espermatozoide requiere de un metabolismo energético que genere suficiente energía libre para movilidad flagelar, que ocurre de manera más eficiente en condiciones aeróbicas, principalmente por fosforilación oxidativa a nivel de las mitocondrias que se encuentran en la pieza intermedia del flagelo; sin embargo, esto no es suficiente para

alcanzar la hiperactividad del movimiento flagelar durante la capacitación, por lo que la pieza principal posee toda la



maquinaria enzimática para generar ATP a partir de la glicólisis, la cuales fundamental para el proceso de fecundación. (1)

- **Concentración espermática**

El eyaculado del verraco se caracteriza por tener baja concentración, que excepcionalmente no pasa de los 500,000 espermatozoides/mm³ de semen. Esta característica es indicadora de una buena capacidad productora de gametos en los túbulos seminíferos y aunque no está relacionada directamente con la fertilidad, afecta la tasa de dilución seminal y el número de dosis procesables de un eyaculado (10).

La concentración espermática es una característica muy variable entre individuos (10).

Está relacionada con la edad, el ambiente social y la estación. La raza es otro factor que influye en el número de espermatozoides del eyaculado (4).

- **Morfología**

Las anomalías espermáticas son consecuencia de patologías genitales en los verracos. Los resultados de las pruebas para determinar estas anomalías no muestran relación con la fertilidad pero permiten identificar reproductores con semen de baja calidad, que luego se podrían descartar como donantes en programas de inseminación artificial (17).

- **Factores que influyen sobre la calidad seminal**

Se considera que el semen de verraco es de calidad cuando posee una buena capacidad fecundante, se puede obtener una mayor cantidad de dosis seminales y puede conservarse un mayor periodo de tiempo sin perder dicha capacidad. La calidad seminal es muy variable, pueden existir diferencias entre eyaculados de un mismo

reproductor o entre



eyaculados de diferentes reproductores. Los principales factores responsables de esta variación son: Edad, raza, estado nutricional, alteraciones del aparato reproductor, estación del año, frecuencia de colección y estimulación sexual (4).

- **Edad**

La producción espermática en los verracos está directamente relacionada con la edad. Los verracos jóvenes, con menos de 8 meses, producen menor volumen, concentración y por tanto un menor número de dosis que los verracos adultos. Esta producción se va incrementando, siendo mayor en verracos con más de 18 meses de edad (22).

- **Raza**

Existe una diferencia racial en cuanto al tamaño y desarrollo testicular y la capacidad de producción de espermatozoides. En general las razas Large White, Landrace y Duroc, producen mayor cantidad de semen por eyaculado y mayor número de células espermáticas (23).

- **Nutrición**

Como la nutrición y correcta alimentación, tiene una influencia muy significativa sobre la libido, la producción espermática y la calidad seminal, es recomendable el suministro de un pienso específico para los verracos (22).

Para obtener un eyaculado con buenas características es necesario manejar a los reproductores de manera individual y mantener un plan nutricional correcto (4).

- **Estación**

Es la temperatura ambiental y el fotoperiodo los factores que más influyen sobre la producción espermática, siendo en otoño e

invierno, unas mejores estaciones que las de primavera y verano
(22).



- **Luz**

Los días largos (16 horas) perturban la producción espermática del verraco, en comparación con los días cortos (10 horas). Se observa una disminución del número total de espermatozoides recogidos por eyaculado, de su motilidad y poder fecundante ya que la luz induce la secreción de melatonina en la glándula pineal, la cual actúa por un lado sobre los melanóforos que se encargan de la coloración de la piel y por otro lado sobre los melanocitos que regulan la secreción de GnRH. La recomendación es de mantener a los verracos con un ritmo de 12 horas/luz/día, mejor que 16 (22).

- **Temperatura**

La temperatura confort de los verracos ronda alrededor de los 18-20°C con una humedad relativa ambiente del 60-70% y la ventilación debe ser en torno a los 25 m³/h/cerdo, en invierno y de 200 m³/h/cerdo en verano, si es dinámica y de 10-20 si es estática, dependiendo del porcentaje de superficie de ventanas respecto de la superficie del suelo (22).

- **Ambiente social**

Siempre es mejor el crecimiento en grupo que de forma aislada. Una vez de adultos, se deben mantener separados pero con la existencia de un contacto con hembras, principalmente a través del olfato y del oído (22).

- **Tamaño testicular**

Está relacionado a la edad del animal y a las variaciones estacionales, como ocurre en el jabalí. En el verraco doméstico, existe una correlación entre el peso del testículo en la pubertad y la producción de espermatozoides y en el verraco adulto también se ha observado esta correlación entre el tamaño del testículo y la producción espermática (22).

- **Ritmo de colección**

La frecuencia de las colecciones presenta una correlación inversa con el volumen del eyaculado y la concentración espermática (4).

Al aumentar el número de colecciones, el volumen de eyaculado disminuye 20% en las frecuencias de dos y tres veces por Colecta, con reducciones mayores si el semen es extraído todos los días (4).

La frecuencia elevada de colecciones en el verraco originan alteraciones en el patrón de secreción y reabsorción de los fluidos del epidídimo, que ocasionarían defectos en la maduración y anomalías en la motilidad de los espermatozoides (24).

2.1.4 Sistema de análisis seminal computarizado CASA

El Computer Assisted Semen Analysis (CASA) fue desarrollado en la Universidad de Pennsylvania por Liu y Warne en 1977 y perfeccionado en 1980 por Amann y Hammersatedt; se introduce en el mercado a principio de los 80, originalmente para la evaluación de semen humano. Al paso de los años se ha ido perfeccionando y modernizándose. En la actualidad se utiliza mucho en el campo veterinario, tanto en investigación, como en el de la industria de los centros de inseminación artificial (25).

Los sistemas CASA brindan resultados como un espermograma clásico, pero de una manera más rápida y objetiva de los diferentes parámetros como motilidad total, motilidad progresiva, motilidad local, concentración, porcentaje de vivos/muertos y morfología, logrando de esta manera, optimizar el procesamiento de muestras seminales (25).

Es decir, establece, de una manera efectiva, medidas cuantitativas del movimiento individual de los espermatozoides además de dar información sobre la concentración del semen en cuestión. Con este tipo de análisis se espera obtener medidas correctas de la motilidad

espermática y



concentración que proporcionen información precisa acerca del estado del semen (26)

Es relevante señalar que los sistemas CASA están completamente infrautilizados, pues, aún en algunos sitios suelen usarse tan solo para reproducir la observación subjetiva tradicional. A pesar de ello, aportan un menor error técnico y suponen un ahorro de tiempo significativo. En general, los informes de análisis que aportan los sistemas CASA se limitan al porcentaje de células móviles, móviles progresivos, estáticas, células de morfología normal, concentración y los valores de cinética y morfometría de la muestra con lo que, se puede hacer una valoración real de la población espermática. Además, los informes obtenidos directamente del programa están en función de los módulos adquiridos dentro del sistema CASA (27).

- **Unidades independientes del sistema CASA**

Un microscopio de contraste de fases conectado a una cámara de video, que envía la imagen desde el microscopio a un monitor de TV. La imagen se envía al ordenador, donde un analizador digital de imagen captura varias fotografías seridas de cada campo. El software discrimina a los espermatozoides de otras partículas que puedan aparecer en la imagen por su tamaño, y analiza la trayectoria recorrida por cada espermatozoide individual, la velocidad de las células, el movimiento rectilíneo, circular o lateral (28).

La velocidad es uno de los parámetros que puede medir el CASA. Esta se realiza de tres maneras diferentes:

- VAP: es la distancia recorrida por el espermatozoide a lo largo de la trayectoria media.
- VSL: velocidad según la trayectoria rectilínea.
Distancia recorrida entre el primer punto y el último de su trayectoria.

- VCL: velocidad según la trayectoria curvilínea. Distancia recorrida a lo largo de su trayectoria real en función del tiempo (28).

El movimiento de cabeceo o desvío de su trayectoria se cuantifica a través de dos parámetros como son:

- ALH: Amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza de espermatozoide.
- BCF: Frecuencia de corte de la línea de trayectoria (28).

El número de espermatozoides totales y motiles se puede calcular por medio de los valores:

- MOT: El cual indica el porcentaje de espermatozoides motiles.
- PRG: Indica el porcentaje de espermatozoides motiles progresivos. Este dato es el que se utiliza al evaluar las dosis inseminante (28).

2.1.5 Características Seminales y Fenotípicas

- **Características Seminales**

La frecuencia de los defectos de los espermatozoides y las dimensiones y la forma de los espermatozoides dependen de la concentración de los espermatozoides. Los eyaculados con una alta concentración de espermatozoides contienen una gran cantidad de espermatozoides, pero tienen un volumen menor que los eyaculados con una menor concentración de espermatozoides. Los espermatozoides de los eyaculados con la menor concentración de espermatozoides tienen dimensiones más grandes que los espermatozoides de los eyaculados con concentraciones de esperma intermedias y altas. Esto se expresa en una mayor área y perímetro de la cabeza y en una mayor longitud total del esperma. . En los eyaculados de los verracos Landrace, estas relaciones son más pronunciadas que en los verracos blancos grandes. Un aumento de la concentración de espermatozoides reduce la

aparición del defecto de Dag pero promueve la aparición de espermatozoides con una gotita proximal, una pseudogotita o una gotitadistal. La dependencia de las características de la eyaculación y el tamaño y la forma de los espermatozoides de la concentración de espermatozoides está influenciada por la raza. En los eyaculados de los verracos (29).

- **Características Fenotípicas**

Large White: Raza originaria de Inglaterra. Su cuerpo es largo, ancho y profundo con apariencia maciza. Son totalmente blancos, sin manchas con orejas erectas. Tiene buena rusticidad, su carácter es prolífero y buena aptitud lechera y materna. Muy valorada por sus características maternas, esta raza porcina se utiliza habitualmente en cruces como línea materna. Es, además, la mejor considerada, entre las razas mejoradas, en cuanto a resistencia. La Yorkshire es, con frecuencia, la mejor raza en cuanto a valores de prolificidad, cualidades maternas como capacidad lechera y productividad. Aunque parece ser que da una edad de pubertad de su descendencia más tardía. También se encuentra, junto con la Duroc, entre las que presentan una mayor velocidad de crecimiento e índice de conversión. Pero las cosas cambian cuando nos ponemos a hablar de parámetros de calidad, solo la raza Duroc está menos valorada en cuanto a calidad de la canal, por sus proporciones en partes nobles y por la calidad de la carne. Para la calidad de la carne se toma en cuenta sobre todo la cantidad de grasa infiltrada en el músculo. Sin embargo, esta raza presenta rara vez, músculo pálido blanco exudativo (PSE) (30).

Landrace: Raza de origen europeo. Presenta una coloración blanca con orejas del mismo color, dirigidas en su totalidad hacia adelante. Son los más largos de todas las razas. Muy prolíferos, con un

promedio de 12 lechones con muy buen peso al nacer. Su forma de cría más adecuada



es la intensiva. Muy versátil, ya que se utiliza como línea pura, materna o paterna. Sus índices productivos son muy parecidos a la Yorkshire, aunque tiene un mayor rendimiento de la canal y también una mayor longitud de la misma. Presenta unos valores algo inferiores en los parámetros reproductivos, y una mayor tendencia a presentar PSE. Esta raza está reconocida como de tipo magro, ya que presenta unos bajos valores de engrosamiento. Es, probablemente, junto con la Yorkshire la raza más utilizada (30).

2.2 Antecedentes de investigación

2.2.1 Análisis de tesis

Barriga M. (31) Dice que teniendo como objetivo la evaluación de la calidad de semen de Caballo Peruano de Paso criopreservado con LDL y yema de huevo de gallina, como crioprotectores no penetrantes específicos, se realizó la colección de semen de 4 caballos Peruanos de Paso. Las muestras colectadas mediante vagina artificial fueron evaluadas macroscópicamente para los indicadores de; volumen, color, densidad, pH. Luego adicionadas con preservante de la actividad espermática, se trasladaron al laboratorio para ser criopreservadas mediante la técnica convencional planteada por Moussa y col, 200229 divididas en dos alícuotas adicionando a una Lipoproteínas de baja densidad (LDL) y a la otra yema de huevo de gallina como crioprotectores no penetrantes. Posterior a la criopreservación se realizó las evaluaciones microscópicas de; test de HOST, motilidad, concentración, integridad de membrana y morfología. Los parámetros macroscópicos observados obtuvieron como resultado, volumen promedio 41,5 ml; color y aspecto blanco lechoso; y pH 7,46 promedio, estos valores no mostraron diferencia estadística ($p > 0,05$) entre garañones. Se observó mejor calidad seminal en pajillas criopreservadas con lipoproteínas de baja densidad (LDL) frente a semen criopreservado con yema de huevo de gallina, existiendo diferencia estadística ($p < 0,05$). Podemos concluir que hay una mejora de la calidad del semen criopreservado con lipoproteínas de baja densidad frente a semen

criopreservado con yema de huevo entera de gallina, esto por el aislamiento de la LDL de la yema entera (31).

Rodríguez A. (32) Con el objetivo de evaluar los efectos de dos criopreservantes penetrantes: glicerol y dimetilformamida sobre las características del semen criopreservado de toros de lidia obtenidas de epidídimo y de eyaculado completo, se recolectaron 5 muestra de semen mediante la técnica de electroeyaculación y 5 muestras de semen de cola del epidídimo. La extracción del semen por electroeyaculación se realizó utilizando la técnica de Palmer⁴⁵. El semen de la cola del epidídimo fue colectado con la técnica de flujo retrógrado⁴⁹. Las muestras fueron analizadas por motilidad, concentración, integridad estructural y funcional de la membrana plasmática (prueba hipo osmótica) y viabilidad espermática (coloración con eosina/nigrosina). Obteniendo los siguientes resultados a partir del semen del eyaculado completo: Motilidad a las 0 horas con glicerol 3,8 y con dimetilformamida 2,52 según la escala³⁸; Motilidad a las 2 horas con glicerol 1,8 y con dimetilformamida 0,68 según la escala³⁸, Viabilidad 45,22% y 33,70%; Integridad membrana plasmática 43,30% y 32,76%; Anormalidades de cabeza 5,04% y 7,56%; Anormalidades del Acrosoma 5,32% y 6,64% y Anormalidades de la cola 6,20% y 9,68% para glicerol y dimetilformamida respectivamente. A partir del semen de la cola del epidídimo: Motilidad a las 0 h 2,64 horas y 1,36; Motilidad a las 2 horas 0,80 y 0,40 según la escala³⁸; Viabilidad 50,20% y 25,08%; integridad de membrana plasmática 47,96% y 22,16% Anormalidades de cabeza 8,60% y 8,36%; Anormalidades del Acrosoma 8,76% y 8,68% y Anormalidades de la cola 9,08% y 8,96% para glicerol y dimetilformamida respectivamente. Llegando a las siguientes conclusiones: La motilidad, morfología y la funcionalidad de membrana espermática con el criopreservante glicerol y Dimetilformamida presentan diferencia estadística significativa

($p < 0,05$), presentando mejores valores de calidad seminal en semen criopreservado con glicerol. En tanto, los indicadores de calidad seminal de semen colectado de cola de epidídimo y por electroeyaculación presentan diferencia estadística significativa



($p < 0,05$), presentando mejores valores de calidad seminal en semen colectado por electroeyaculación o eyaculado completo (32).

Quispe P. (33) El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Animal del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Católica de Santa María. El objetivo es determinar la calidad seminal y funcional del semen crio preservado comercial de origen nacional en bovinos lecheros de 3 Centros de Colección Seminal de Arequipa del año 2016. Se evaluaron en total 30 pajillas de semen bovino, 10 por cada Centro de Colección Seminal. Se evaluó: concentración, motilidad, vitalidad, morfología, integridad de membrana plasmática e integridad de acrosoma después del proceso de descongelamiento. Los resultados obtenidos para el Centro 1, Centro 2 y Centro 3 después de la descongelación fueron en motilidad progresiva: 41%, 49% y 46%; en concentración: 22.25×10^6 , 27.25×10^6 , 19.88×10^6 espermatozoides por pajilla (0.5ml); en morfología total: 22.20%, 17.95% y 22.45%; en vitalidad: 55.60%, 55.90% y 52.90%; en integridad de membrana plasmática: 69.75%, 64.40% y 56.05% y en integridad de acrosoma: 3.75%, 4.60% y 5.25% respectivamente. Se encontró que de los parámetros espermáticos evaluados microscópicos hubo diferencias significativas ($P < 0.05$) solo en el parámetro de morfología total en el Centro de Colección 2 con un 17.95%, y en relación a los parámetros funcionales solo se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el parámetro de integridad de membrana plasmática en el Centro 2 con un 64.40%. Por lo tanto teniendo en cuenta los parámetros básicos de evaluación comparados con los promedios de todos los Centros de Colección Seminal evaluados en esta investigación, el Centro de Colección Seminal 2 cumple con los estándares y cuenta con mejores muestras de semen crio preservado comercial de origen nacional de bovinos lecheros siendo considerada de entre los tres Centros de Colección Seminal evaluados el de mejor calidad seminal y funcional (33).

Julca, S. (5) Reporta que la implementación de la inseminación artificial (IA) en la selva peruana en pequeñas crianzas porcinas todavía enfrenta ciertos problemas, como la disponibilidad de semen de buenos reproductores, el empleo de dilutores comerciales y la falta de técnicos inseminadores. Con el objetivo de evaluar la respuesta de la conservación de semen porcino en refrigeración (16°C), usando como dilutor el agua decoco (*Cocus nucifera* L), se implementó el presente estudio, en la Universidad Nacional Agraria de la Selva ubicado en el distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco- Perú. Se empleó la mezcla de los eyaculados de tres verracos de diferentes razas, con edades entre 3 a 5 años y con fertilidad comprobada, el semen fue mezclado con BTS (Beltsville Thawing Solutions), solución agua de coco (SAC) o dilutor agua de coco (DAC) en diferentes proporciones. Se utilizó un diseño completamente al azar, con siete tratamientos y tres repeticiones, para la contrastación estadística entre medias se utilizó la prueba de Tukey ($p < 0.05$), en variables paramétricas y la prueba de Kruskal Wallis en variables no paramétricas, procesando los datos con programa INFOSTAT (versión libre). Los resultados muestran que T2 (DAC), tiene un valor aceptable tanto para la motilidad (63.33%) y viabilidad (55%) para la conservación de semen porcino a 16°C hasta por 24 horas, así mismo, se definió que el T3 (DAC 60% + BTS 40%) obtuvo similar motilidad (66%) y de viabilidad (61.67%) al obtenido por el ditutor comercial (BTS). Así mismo los costos de usar el DAC (T1 = agua de coco puro) para la conservación de semen porcino, en refrigeración a 16°C , resulta más económico (S/. 8.50) que los demás dilutores evaluados. Concluyendo que es factible el uso del agua de coco como dilutor de semen porcino hasta por 24 horas de refrigeración a 16°C . Palabras Claves: Conservación, semen, refrigeración, dilutor, agua de coco, *Cocus nucifera* L, motilidad, viabilidad (5).

Urdiales, R (2) Menciona que la utilización de semen porcino criopreservado para la IA comercial podría reportar numerosas

ventajas, tales como el mayor control sanitario, la gran disponibilidad



espacio/temporal, la estabilidad frente a variaciones climáticas o la posibilidad de incorporar a las explotaciones genética de alto valor con un coste más reducido, pero en la práctica su uso se ve muy restringido, principalmente por la sustancial reducción del rendimiento reproductivo que presenta con respecto a las dosis seminales refrigeradas. Por este motivo, y dado que la realización de una crío preservación óptima del semen ha sido considerada como un prerequisite esencial para la utilización de esta técnica de conservación a nivel comercial, los trabajos de investigación han ido dirigidos a intentar perfeccionarla. La amplia variabilidad en los resultados obtenidos con semen de verraco en cuanto a la supervivencia celular frente a procesos de enfriamiento y descongelación, dadas las notables diferencias existentes no sólo entre razas sino también entre individuos, hace que sea necesario realizar una selección de animales basada en la capacidad de crío preservación de su semen, y aunque se ha apuntado una posible influencia genética en esta variabilidad post descongelado, hasta el momento no existen publicaciones que recojan modelos de selección genética basados en la congelabilidad del semen; de hecho, únicamente se ha englobado a los diferentes animales estudiados en categorías de buenos y malos congeladores con base en las características seminales post descongelado, sin haber conseguido extraer buenas relaciones entre éstas y otras que denan a los verracos de forma previa a la congelación/descongelación del semen. Por otro lado, la existencia de variaciones tras la descongelación entre eyaculados de un mismo verraco, hecho que parece responder a cambios de las propiedades bioquímicas de los espermatozoides como consecuencia, entre otras causas, de variaciones en la frecuencia de colección o de la época del año, hace que la determinación de algún indicador de la capacidad de criopreservación de un eyaculado en sus características seminales antes de congelar, resulte tanto o más interesante que la propia selección de animales. En este sentido, el principal objetivo de este trabajo ha sido determinar la eficacia de sencillas pruebas de laboratorio en la predicción de la supervivencia espermática al

proceso de criopreservación, para lo cual fueron desarrollados dos experimentos en un intento de identificar



factores relacionados con la variabilidad post descongelado en 40 eyaculados procedentes de 8 verracos (5 congelaciones por verraco) de dos razas diferentes (Large White [20 congelaciones] y Landrace [20 congelaciones]). En el primero de ellos, se evaluaron pruebas que habitualmente se emplean en las valoraciones seminales que se efectúan en los Centros de IA comerciales sobre el semen fresco, tratando mediante ellas de relacionar la adaptación de las células a determinadas situaciones de estrés (osmótico, por calor, o por frío) con la resistencia que manifiestan al proceso completo de criopreservación. La capacidad de adaptación a un estrés osmótico fue valorada por medio de pruebas de HOST (de 30 y 60 minutos de incubación) y de ORT (de 60 y 120 minutos de incubación) con soluciones hiperosmóticas ajustadas a 100 mOsm/kg, la de adaptación a un estrés por calor, mediante la incubación de las muestras seminales diluidas a 39 °C durante 7 horas, evaluando la integridad de las membranas plasmática y acrosomal, así como el porcentaje de movilidad (con y sin cafeína) a la hora y media (T1,5), a las tres (T3), a las cuatro horas y media (T4,5) y a las siete horas (T7); y finalmente, en la resistencia espermática a un descenso brusco de temperatura, se valoraron esos mismos parámetros tras someter las muestras a temperaturas de 0 °C durante 5 minutos en diferentes momentos: a los 10 minutos de comenzar una incubación a 20 °C (S0), a la hora (S1), a las dos (S2), a las tres (S3) y a las cinco horas (S5). Por su parte, en el segundo experimento se analiza si las características del movimiento de los espermatozoides en semen fresco, en cada uno de esos puntos de referencia establecidos en el estrés por calor (termorresistencia) o por frío (choque por frío), muestran evidencias de la capacidad de criopreservación de los eyaculados; para ello, se efectuó un estudio pormenorizado de la cinética espermática a través del análisis individualizado de los parámetros que nos aporta el sistema ISAS® de PROISER R+D y también de forma conjunta mediante el estudio de subpoblaciones espermáticas, para lo cual utilizamos un procedimiento compuesto por un agrupamiento no jerárquico inicial mediante el método de las K-means, para posteriormente aplicar el

algoritmo de agrupamiento jerárquico aglomerativo de Ciampi et al.
(2007). La aproximación a la



relación existente entre la congelabilidad de los eyaculados y las características que éstos presentan en cada una de las pruebas realizadas, se ha efectuado analizando la respuesta que a ellas han tenido los eyaculados clasificados en función de su capacidad de congelación (buena, media o mala congelabilidad), así como por medio de coeficientes de correlación y análisis de regresión múltiple. Dentro de la batería de pruebas que habitualmente se realizan de forma rutinaria a un eyaculado, la concentración, la normalidad morfológica de las células y la integridad de la membrana plasmática y la de la acrosómica fueron en este estudio las más relacionadas con la capacidad de criopreservación, presentando coeficientes de correlación de hasta $r=0,677$ en el caso de la concentración del eyaculado. La utilización de este tipo de pruebas de rutina resultó muy interesante, ya que consiguió explicar por medio del análisis de regresión múltiple un 55,6 % de la variabilidad post descongelado a partir de las tres primeras variables de las cuatro citadas. En cuanto al estrés osmótico, la respuesta al ORT resultó más determinante que la del HOST, tanto por haber conseguido detectar de una forma más eficiente una respuesta estadísticamente diferente de los grupos de buenos, medios y malos congeladores, como por presentar una mayor relación con los índices post descongelación calculados, mostrando coeficientes de correlación con todos ellos en un rango que oscila de $r=0,412$ a $r=0,557$. Sin embargo, y a pesar de la importancia de adaptación de la célula a las variaciones osmóticas del proceso de criopreservación, en la supervivencia espermática al mismo, no pudimos determinar, a partir de estas pruebas, más de un 21,6 % de la variabilidad mostrada por las muestras seminales descongeladas. Por su parte, la termorresistencia no parece ser una prueba recomendable para tratar de estimar la congelabilidad de los eyaculados, puesto que a medida que avanza el tiempo de permanencia a 39 °C, se ven disminuidos tanto los coeficientes de correlación como el porcentaje de variabilidad que es posible explicar por medio de la regresión múltiple (de un 25,8 % en el T1,5 a un 12,6 % en el T7). En cambio, el sometimiento de las muestras seminales a un descenso brusco de

temperatura experimentó el efecto contrario, pues la incubación a 20 °C, aparte de



conferir a las muestras una mayor resistencia al choque a frigore, permitiéndose pasar de resultados no más importantes que los del resto de pruebas a, posiblemente, los más interesantes, tanto respecto al comportamiento de los grupos establecidos en función de su aptitud frente a la criopreservación, 292 7. Resumen como en cuanto a los coeficientes de correlación obtenidos (llegando a valores de $r=0,803$) o a los resultados recogidos con la regresión múltiple que, con la inclusión de un único parámetro en los modelos establecidos, se incrementaron de un 29,5 % en el S0, a un 58,3 % en el S5. En el segundo experimento se recoge en las muestras descongeladas un incremento con respecto al semen fresco de prácticamente todos los parámetros cinéticos (excepto el WOB), caracterizándose aquellos eyaculados con una mayor capacidad de criopreservación por velocidades (VCL, VSL y VAP) significativamente más elevadas. La capacidad de predicción de la congelabilidad que mostraron los parámetros cinéticos individualizados, tanto en semen fresco como en los diferentes tiempos de incubación de la termoresistencia no fueron esencialmente superiores a los obtenidos en el primer experimento con esas mismas muestras, si bien destaca la inclusión de la BCF en todos los modelos de regresión establecidos, sugiriendo una posible relevancia de este parámetro como indicador de la resistencia al proceso de congelación/descongelación. A partir de las características cinéticas de las células después de sufrir un choque por frío se recogieron coeficientes de correlación de hasta 0,589, probablemente por la similitud existente entre el daño celular provocado por este choque y el ocasionado por la criopreservación, si bien, al contrario que en el primer experimento, a medida que transcurre la incubación todos los indicadores analizados en busca de relaciones con la congelabilidad van disminuyendo de forma considerable, pasando de una explicación máxima de la variabilidad post descongelado del 48,3 % en el S1 a un valor mínimo de 7,9 % tras el S5. La determinación de subpoblaciones se efectuó a partir de los valores de los parámetros cinéticos de las muestras recién recogidas (T0), agrupando a los espermatozoides en tres subpoblaciones (SP1, SP2 y SP3) con

características cinéticas diferenciadas, de modo que en la SP1 se



incluyeron las células que presentaban movimientos progresivos y una altavelocidad lineal, en la SP2 las que describen trayectorias sinuosas y mostraban una velocidad circular elevada, mientras que la SP3 engloba espermatozoides con unos parámetros cinéticos degradados. El porcentaje relativo de estas subpoblaciones varía tanto tras el proceso de crío preservación, incrementándose la SP1 y disminuyendo la SP3, como con la termorresistencia, caracterizándose por un aumento de la SP1 y una disminución de las otras dos, aunque la SP3 sufre un incremento considerable en el T7, así como tras los choques por frío, con los que sufren incremento espectacular la SP2 y un descenso la SP1 y la SP3. No obstante, a partir de la variación de estas subpoblaciones no se obtuvo un mejor predicción de la congelabilidad que con los parámetros cinéticos analizados de forma individual, ni en el T0, ni en la termorresistencia, ni mediante los choques por frío, con explicaciones máximas de la variabilidad post descongelado de un 7,8, un 10,3 y un 24,7 %, respectivamente, si bien se deduce a partir de las correlaciones calculadas, la importancia de un determinado tipo de movimiento espermático, fundamentalmente tras el choque por frío, como se evidencia en las correlaciones positivas con la congelabilidad de la SP2 y las negativas de la SP1. Atendiendo a la importancia mostrada por el choque a frigore en cuanto a una posible predicción de la congelabilidad de un eyaculado, se desarrolló un tercer experimento con el fin de ahondar en algunos aspectos que pueden incidir en la resistencia espermática al enfriamiento, 293 como el estado de maduración espermática, el plasma seminal (PS) y el diluyente comercial empleado en la dilución de las muestras, además de determinar la influencia sobre la supervivencia espermática a la criopreservación del incremento de la resistencia al frío generado al aumentar el tiempo de incubación previo. Para analizar la influencia de la presencia de gotas citoplasmáticas como indicadora de inmadurez, se evaluó a lo largo de tres horas de incubación a 20 °C la variación porcentual, con respecto a los valores del eyaculado, que experimentaban los espermatozoides vivos clasificados como

morfológicamente normales, los que mantenían una gota citoplasmática distal o proximal en su estructura y los de otras



categorías morfológicas, concluyendo que la presencia de una gota citoplasmática en la estructura de células eyaculadas puede ser considerada un indicador de inmadurez, como consecuencia de la menor sensibilidad mostrada por éstas frente al choque por frío, lo cual sería indicativo de que no han sufrido los procesos de maduración epididimaria que incrementan la susceptibilidad al descenso térmico, que tienen lugar en las porciones distales del cuerpo del epidídimo y, por tanto, tampoco los que acontecen en una zona posterior, con las posibles repercusiones negativas que ello tendría sobre la fertilidad. Por otra parte, para analizar la influencia del diluyente comercial empleado así como de la presencia del PS, se dividió la fracción rica de los eyaculados empleados en seis porciones, tres diluidas con BTS y las otras tres con MR-A, y en cada caso a una de las tres se le retiró el PS por centrifugación en un primer momento tras la eyaculación, a la segunda instantes antes de realizar cada choque y la tercera permaneció en contacto con él durante toda la prueba, concluyendo que tanto la composición del diluyente comercial empleado como la presencia del PS en las muestras incluyen de forma determinante en la resistencia celular; así, la utilización de MR-A resultó mucho más adecuada que la de BTS para este caso, posiblemente por el contenido en BSA y cisteína del primero, y también resultó conveniente la presencia de plasma seminal, pues se obtuvieron mayores porcentajes de integridad de las membranas acrosómica y plasmática a partir de la hora de incubación en las muestras que se mantuvieron en contacto con él, pero mostrando una tendencia a empeorar si el PS continuaba durante la realización de los choques a frígore. Por último, al modificar el protocolo de crio preservación aumentando el periodo de estabilización a 15 °C de 3 horas a 6, 12 y 24 horas, se observó un notable incremento en la resistencia de las membranas plasmática y acrosomal, tanto al choque por frío como al proceso completo de congelación/descongelación, a medida que aumentaban las horas de permanencia a la citada temperatura, si bien no sería positivo llegar hasta las 24 horas, a tenor del marcado descenso en la movilidad espermática observado en este punto, tanto tras el choque y tras la crio

preservación, así como por el manifiesto descenso en la calidad de



las muestras seminales por el mero hecho de mantenerlas en refrigeración durante tanto tiempo (2).

2.2.2 Análisis de trabajos de investigación

X. Barriga. et.al (34) El objetivo fue evaluar las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y yema de huevo como crioprotectores no penetrantes en semen de caballo peruano de paso. Se colectaron cuatro machos adultos. Previo a su traslado al laboratorio se prediluyó con dilutor. En el laboratorio la muestra se dividió en dos partes. A la primera se le adicionó LDL y al segundo yema de huevo. Posteriormente, el congelamiento se realizó con vapores de nitrógeno líquido. Se evaluaron los parámetros de calidad seminal: motilidad, concentración, integridad de membrana, funcionabilidad de la membrana (HOST) y morfología espermática. Estos parámetros seminales fueron comparados con ANOVA. Los resultados indican que la calidad seminal en las muestras criopreservadas con LDLs son superiores ($p < 0,05$) a las criopreservadas con yema de huevo. La motilidad progresiva post-descongelado fue 48,9% y 27,5%, a los 20 minutos de incubación fue 38,2% y 19,3%; para LDL y yema de huevo, respectivamente. La conclusión, la calidad del semen criopreservado con LDL fue superior al semen criopreservado con yema de huevo (34).

N.den Daas (35) Dice que la posibilidad de una penetración exitosa del ovocito y el desarrollo subsecuente del cigoto en una gestación depende de las contribuciones del lado materno y paterno, así como, en los animales de granja, variables como la gestión de la granja, el técnico y la temporada, etc. Para estudiar la verdadera relación entre las características del semen y la fertilidad del padre, es decir, la contribución paterna a una gestación exitosa, estas variables deben ser consideradas. Antes de la penetración de los ovocitos, la contribución paterna depende de la calidad de la población de espermatozoides dentro del aparato reproductor femenino; calidad de espermatozoides extrínsecos. Las características del semen que pueden estar

relacionadas con la calidad intrínseca del esperma son la motilidad, la integridad de la membrana, la integridad del acrosoma y la capacidad de



unirse a la zona pelúcida. Después de la penetración de los ovocitos, la contribución paterna al potencial de desarrollo del embrión depende enteramente de la calidad del espermatozoide que penetra; calidad intrínseca del esperma. Las características de los espermatozoides relacionadas con esta cualidad intrínseca, como el grado de condensación del ADN, son relativamente nuevas y su valor predictivo para la probabilidad de una gestación exitosa aún no se comprende completamente (35).

M. L. W. J. Broekhuijse (36) Menciona que la calidad del esperma a menudo se evalúa a través del análisis de semen asistido por computadora (CASA) y es un indicador de la fertilidad del verraco. El objetivo de esta investigación fue estudiar la relación entre los parámetros de motilidad CASA y los resultados de fertilidad en cerdos. Se utilizaron registros de inseminación y parámetros de semen de un total de 45,532 eyaculados recolectados durante un período de 3 años. El modelo estadístico para el análisis de los datos de fertilidad de estas inseminaciones incluyó factores relacionados con la productividad de las cerdas. La varianza relacionada con el semen y el verraco (efecto directo del verraco) se corrigió por los efectos del verraco individual, la línea genética del verraco, la edad del verraco, los días entre eyaculaciones, el número de espermatozoides en un eyaculado, el número de espermatozoides en una dosis de inseminación y una estación de IA. La varianza restante se analizó si los parámetros de motilidad del semen tenían un efecto significativo. ($P < 0.05$) efectos de la motilidad progresiva, la velocidad curvilínea y la frecuencia cruzada del latido sobre la tasa de partos (FR). La motilidad total, la trayectoria promedio de velocidad, la velocidad en línea recta y la amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza afectaron ($P < 0.05$) el número total de lechones nacidos (TNB). Los parámetros relacionados con el semen y el verraco explicaron el 5,3% de la variación en FR y el 5,9% de la variación en TNB. Los parámetros de motilidad, medidos por CASA, explicaron el 9% de la variación relacionada con el semen y el verraco en FR y el 10% de la variación

relacionada con el semen y el verraco en el TNB. El verraco



individual y la línea genética del verraco afectaron ($P < 0.0001$) la variación en FR y TNB. Sin diferencias ($P > 0.05$) entre los efectos de las estaciones de IA sobre el resultado de la fertilidad, lo que subraya la objetividad del sistema CASA utilizado. Los parámetros de motilidad se pueden medir con CASA para evaluar la motilidad de los espermatozoides de manera objetiva. Sobre la base del patrón de motilidad, CASA permite discriminar entre la capacidad fertilizante de los eyaculados, aunque esto depende de la línea genética del verraco utilizado en las estaciones de IA (36).





CAPITULO III
MATERIAL Y
MÉTODOS



3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Materiales

3.1.1 Localización del trabajo

3.1.1.1 Espacial

Se desarrolló con reproductores de la empresa Pig Perú, ubicado en el departamento y región de Arequipa, el trabajo de laboratorio y evaluación seminal en la misma región y departamento en laboratorios de Los 10 Chanchitos en el departamento y región de Arequipa, geográficamente ubicado en el departamento de Arequipa está ubicado en el sur del país, con las siguientes coordenadas geográficas: 70°48'15" a 70°05'52" de latitud oeste y 14°36'06" a 17°17'54" de latitud sur, a una altitud de 2466 m.s.n.m a una altitud de 2466 m.s.n.m (37).

El clima de Arequipa es templado, desértico y con amplitud térmica moderada por su ubicación, topografía variada y diferentes altitudes, su clima es variado, en la sierra el clima es seco y varía según la altitud desde cálido templado hasta frío intenso, con una temperatura promedio de 14°C y con precipitaciones pluviales estacionales que vande 100 a 700 mm al año, entre los meses de octubre a marzo (37).

3.1.1.2 Temporal

La evaluación de la calidad espermática mediante CASA a diferentes temperaturas de preservación se realizó en el laboratorio de la empresa comercializadora de semen Los 10 Chanchitos durante los meses de septiembre a noviembre del presente. La tabulación análisis y evaluación de las matrices de datos se realizó en el Laboratorio de biotecnología animal perteneciente al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Católica de Santa María.

3.1.2 Materiales biológicos

- Semen preservado de porcino



3.1.3 Materiales de laboratorio

- Guantes de látex o vinilo sin talco.
- Micro pipeta.
- Termómetro láser.
- Termostato.

3.1.4 Materiales de campo

- Cámara fotográfica.
- Portátil de Escritorio

3.1.5 Equipos y maquinarias

- CASA Computer-Assisted Sperm Analysis.
- Porta objetos.
- Microscopio Óptico.

3.2 Métodos

3.2.1 Muestreo

3.2.1.1 Universo:

Se consideró como universo el total de sachets de semen logrados a partir de 5 colectas de semen durante el período de estudio para cada uno de los genotipos bajo estudio, totalizando 200 sachets producidos en la etapa de evaluación

3.2.1.2 Tamaño de muestra:

Se analizaron 5 colectas de semen, de cada uno de los 2 genotipos de verracos a evaluar, del total de sachets diluidos se muestrearon 3 sachets por cada colecta y genotipo, haciendo un total de 30 repeticiones o unidades experimentales de semen fresco preservado a evaluar.

3.2.1.3 Procedimiento de muestreo

Una vez diluido el semen colectado y envasado para su preservación aleatoriamente se seleccionó un sachet por colecta para cada uno de los

tratamientos y según genotipo para la correspondiente evaluación de resistencia.

3.2.2 Métodos de evaluación

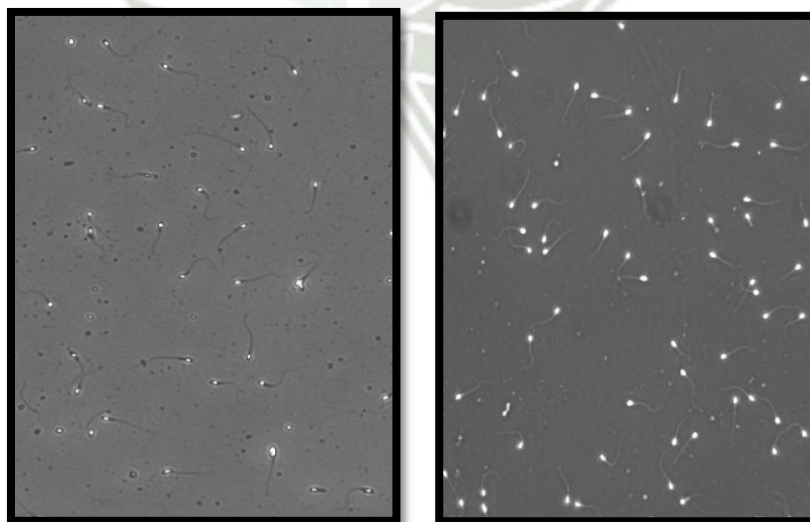
Características genéricas del sistema computarizado (CASA).

Los sistemas automatizados actuales sustituyen el sistema perceptivo y de análisis de un observador por un sistema electrónico de captura de imágenes y un software específico para el análisis computacional de la información, cabe pues hacer algunas consideraciones a ambos aspectos, los referentes al hardware y al software (38).

El equipo CASA es muy sensible al correcto ajuste del microscopio (alineado de los anillos de fases, condensador, etc.), por lo que la revisión continuada del estado del microscopio es fundamental para obtener imágenes útiles para analizar. Es necesario disponer de objetivos con una adecuada apertura numérica, profundidad de campo y límite de resolución (39).

Figura N° 3

Diferencias entre las imágenes obtenidas con contraste de fases positivo (izquierda) y negativo (derecha).



Fuente CASA, análisis de semen automatizado:

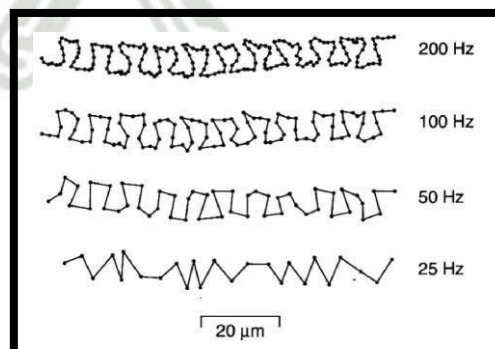
aplicabilidad ytendencias de futuro

(38).

El siguiente componente es la cámara. Al respecto son dos los parámetros básicos a tener en cuenta, la resolución y la frecuencia de captura. Ello hace que no sirva cualquier cámara y que sea preciso disponer de una que no solo tenga buena resolución, sino que asegure una frecuencia de captura constante y de alta velocidad. En cuanto a la resolución lo recomendable es que no sea inferior a 768x576 píxeles. Por lo que se refiere a la frecuencia de captura, cabe señalar que es un parámetro que va a modificar sensiblemente alguno de los parámetros cinéticos que se van a calcular para la determinación de la velocidad del movimiento espermático. En particular uno de dichos parámetros, la velocidad curvilínea (VCL, ver más adelante) se incrementa sensiblemente con el incremento de la frecuencia de captura, acercándose cada vez más a su valor real (figura 3). Por ello es recomendable no usar frecuencias de captura inferiores a 50 imágenes por segundo, analizando no menos de un segundo por análisis (38).

Figura N°4

Trayectoria curvilínea de un espermatozoide a diferentes frecuencias de captura.



Fuente CASA, análisis de semen automatizado:

aplicabilidad ytendencias de futuro

(39).

El último componente de hardware a considerar es la computadora, que debe disponer de un procesador de última generación y un mínimo de 4 GB de



memoria RAM, dependiendo del equipo CASA, para permitir la necesaria potencia y velocidad de cálculo en el proceso analítico. Algunos de los equipos disponibles en el mercado pueden operar con distintos sistemas operativos además de Windows (Macintosh, Linux) (39).

Otra herramienta interesante es la conexión a internet, pues alguno de estos sistemas es capaz de trabajar en red, utilizando imágenes que están siendo capturadas en otra ubicación diferente de aquella donde se realiza el análisis. Centrémonos por último en el software. Como es lógico este es el componente principal y donde mayores variaciones pueden encontrarse entre diferentes sistemas, ya que cada uno parte de una aproximación diferente en el diseño de la programación necesaria para el análisis. Los aspectos a valorar son, básicamente, la movilidad, la concentración y la morfología. Seguidamente los trataremos por separado, para poder comprender cómo se valoran y cuáles son sus límites (39).

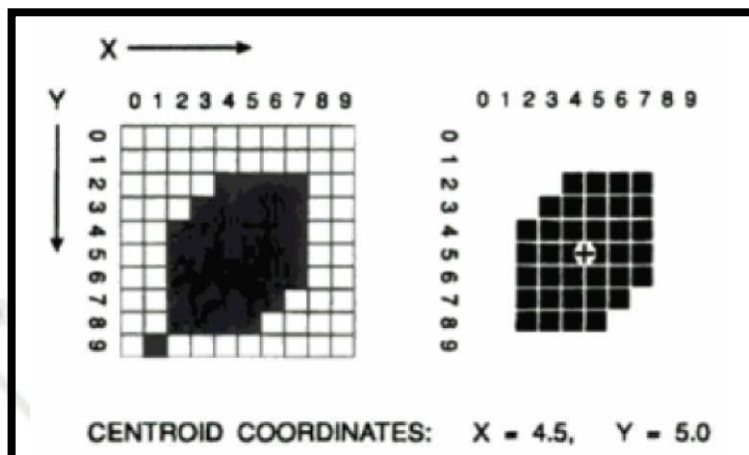
Fundamentos de cálculo de parámetros (movilidad/concentración).

Movilidad: Para el análisis de movilidad se captura una secuencia de imágenes (correspondientes a un campo microscópico), a una velocidad de captura y durante un periodo de tiempo definidos por el usuario del equipo. Se repite el proceso en una serie de campos microscópicos distintos (39).

Tras la segmentación automática de las imágenes y una vez identificados los puntos centrales de las cabezas de los espermatozoides (centroides, figura 14), en cada una de las imágenes que constituyen una secuencia de video, por diferentes algoritmos de cálculo se procede al análisis matemático de la trayectoria descrita por los espermatozoides, en las diferentes imágenes (39).

Figura N° 5

Identificación del centroides de la cabeza del espermatozoide

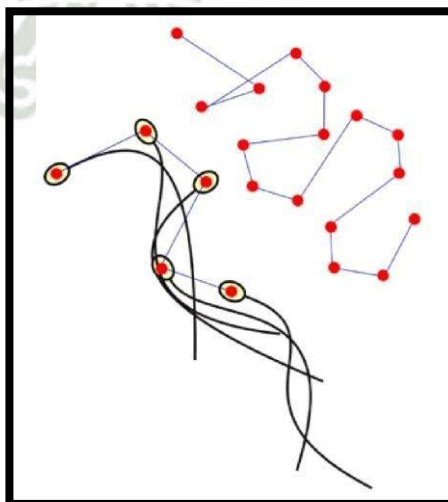


Fuente CASA, análisis de semen automatizado: aplicabilidad y tendencias de futuro (38).

La trayectoria de un espermatozoide se define por la unión de los puntos correspondientes al centroides de la cabeza en cada una de las imágenes de la secuencia de video (38).

Figura N° 6

Reconstrucción de una trayectoria a partir de los centroides de la cabeza de un espermatozoide móvil en la secuencia de imágenes de video.



Fuente CASA, análisis de semen automatizado: aplicabilidad y tendencias de futuro (38).

Concentración: La valoración de la concentración puede realizarse conjuntamente con el análisis de movilidad, si bien, como indica la OMS para el análisis seminal humano resulta más conveniente hacerlo mediante cámaras de recuento de 100 micrómetros de espesor, en lugar de 10 o 20 μ m de altura como suele ser lo habitual para el análisis de movilidad. La razón básica se debe al volumen de semen evaluado, pues si se hace con las cámaras de movilidad se realiza un rastreo de entre cinco y diez veces menos células. La forma de subsanar este efecto es contar más campos aun usando cámaras de menor espesor. Por otra parte, cabe tener presente que, puesto que las células son identificadas por su luminosidad y que, especialmente con el uso del contraste de fase negativo, toda partícula resulta luminiscente, es muy difícil diferenciar los espermatozoides de otras partículas. Esto se realiza básicamente mediante filtros de tamaño y forma, a pesar de ello el nivel de error puede ser alto si se confunden partículas de fondo como espermatozoides. Por todo ello, una forma de discriminar realmente los espermatozoides de otro tipo de partículas es mediante el uso de tinciones fluorescentes específicas, pudiéndose combinar con la evaluación de la vitalidad espermática. El inconveniente es que se precisa disponer de un microscopio de fluorescencia con el coste y la complejidad de uso que ello significa (38).

3.2.2.1 Metodología de la experimentación

En granja: la extracción del semen se realizó en un potro ubicado en la sala de recolección. La sala de recolección asegura las condiciones de higiene y de seguridad tanto para el animal como para el trabajador durante la recolección. Por la “seguridad del verraco” entendemos toda la actuación y/o elemento que evite las caídas y resbalones del animal, así como su exposición a la presencia del otro verraco. Todo el material que vaya a recibir y estar en contacto con el semen debe guardar condiciones indispensables (40).

- Estar aprobado como no espermicida.
- Estar limpio y esterilizado.

- Estar previamente atemperado a 37°C (40).



El eyaculado se recoge directamente en una bolsa de plástico situada dentro de un termo de colección para mantener la temperatura cercana a los 37°C. A la vez sobre el recipiente se colocó un filtro para que durante la recolección se impida la mezcla de la fracción espermática del eyaculado con el gel o tapioca u otras partículas extrañas. Actualmente, en el mercado están disponibles bolsas de recogida de plástico que llevan el filtro incorporado. La técnica empleada para la extracción es la de “doble guante”, donde el segundo guante, o guante externo, mantiene limpio el primero o interior hasta el momento inmediatamente anterior al inicio de la sujeción del pene para comenzar la recogida (40).

Cuando el animal estuvo sobre el potro, se realizó un vaciado de la bolsa prepucial, presionando la misma para eliminar los restos de orina y líquidos prepucial que hubiere. Con cierta frecuencia se aprovecha este momento del salto para el corte de pelo presente en la apertura del prepucio. Se limpia la zona con toallitas desinfectantes que a continuación se desechan junto al primer guante de los dos que protegen la mano del operario (40).

Al exteriorizar el glande, el operario sujetó el pene del verraco sin ejercer una gran presión y de tal forma que sus dedos queden al borde de la espiral del glande o “tirabuzón”. Esto permite mediante suavestirones, a extender del todo el pene y colocarlo en posición horizontal, posición que ha de mantenerse a lo largo del tiempo de eyaculación. Con eyaculados que tengan problemas de aglutinaciones conveniente realizar la recolección sobre 100 CC. de diluyente MR-A® a 37°C. Al terminar la recogida, se desechan el filtro y el segundo guante. De inmediato, se transportó el eyaculado para su dilución a laboratorio (40).

Las ventajas de la recolección de semen sobre 100 cc de diluyente atemperado son:



- El semen cae sobre un medio adecuado.
- El diluyente empieza a “trabajar” inmediatamente.
- El líquido tiene menor variación de temperatura que un objeto de plástico u otro material inerte (termo, bolsa o vaso de recogida).
- Permite alargar el tiempo entre recogida y dilución del eyaculado. Sin diluyente, este tiempo no debe ser mayor de 15 min.
- Disminuye la aglutinación de los eyaculados (40).

En laboratorio: se realiza una evaluación seminal para poder identificar la cantidad de dosis producidas con el eyaculado obtenido en la granja Pig Peru (40).

Antes de mezclar semen y diluyente, se debe comprobar que no exista diferencia de temperatura entre ambos; lo cual se facilita si durante todo el procedimiento de contrastación se mantienen atemperados tanto semen como el diluyente. Añadir suavemente el eyaculado sobre el diluyente, permitiendo su mezcla homogénea. Una vez realizada la dilución, comprobar la motilidad de la mezcla. Finalmente se envasan las dosis de semen diluido en las botellas de inseminación, tubos o blíster identificadas con una etiqueta (40).

De los sachet logrados en cada colecta según genotipo se selecciona al azar tres sachets para someterlos a los diferentes tratamientos de termoresistencia:

- Tratamiento 1: Temperatura menor a 16 °C
- Tratamiento 2: Temperatura óptima de conservación de semen 16 a 18°C
- Tratamiento 3: Temperatura mayor a 18 °C

Luego cada sachet fue contrastado por el sistema CASA a 0, 24, 48 y 72 horas para obtener valores de motilidad, morfología normal, gota citoplasmática proximal y distal, cola plegada y progresividad.

3.2.2.2 Recopilación de la información

- a. **En el campo:** mediante las matrices de toma de datos de colectas, y registros de los animales en estudio
- b. **En el laboratorio:** Elaboración de matriz de resultados del análisis de evaluación de las muestras seminales preservadas mediante CASA, en el laboratorio de la empresa comercializadora de semen Los Dies Chanchitos según genotipo. Tabulación, cálculo y análisis de contrastación seminal, así como la evaluación estadística de los resultados
- c. **En la biblioteca:** revisión de fuentes bibliográficas concernientes al tema de estudio
- d. **En otros ambientes generadores de la información científica:** Páginas Web, consultas con expertos y otros medios de información.

3.3 Variables de respuesta

3.3.1 Variables independientes

- Tiempo de conservación.
- Genotipo.
- Temperatura de conservación.

3.3.2 Variables dependientes

- Contrastación Seminal

CUADRO N° 01

Cuadro de operalización de variables

VARIABLES		INDICADORES
INDEPENDIENTES	Tiempo de conservación	Días
	Genotipo	Landrace Large White
	Temperatura de Conservación	Menor <16°C)
	Temperatura de Conservación Contrastación Seminal	Óptima 16 - 18°C
		Mayor (>18°C)
	Movilidad	
DEPENDIENTES	Contrastación Seminal	Morfología y Normal
		Gota citoplasmática proximal
		Cola Plegada
		Progresividad

3.4 Evaluación estadística

3.4.1 Diseño Experimental

3.4.1.1 Unidades experimentales

Cada muestra de semen preservado, fue evaluada como una repetición, observación, o unidad experimental.

3.4.1.2 Análisis estadístico

Los datos paramétricos resultantes fueron analizados mediante estadística descriptiva usando medidas de tendencia central y dispersión o variabilidad.

Datos no paramétricos fueron evaluados mediante distribución de frecuencias, reportando frecuencia observada, relativa y porcentual.

3.4.1.3 Análisis de varianza

El análisis de varianza aplicado para el estudio de la variabilidad de los datos numéricos obtenidos en el estudio fue el de un Diseño Bloque Completamente al Azar con arreglo factorial.

3.4.1.4 Análisis de significancia

De hallarse valores de probabilidad menores a 0,05 se aplicó la prueba de TUKEY a un $\alpha = 0,05$.





CAPITULO IV
RESULTADOS Y
DISCUSIÓN



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Motilidad Seminal

Mostramos en la Cuadro Nro. 02 los resultados obtenidos para motilidad según genotipo y su contratación por temperatura y tiempo de conservación.

CUADRO N° 02

Resultados de Motilidad del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación

<i>MOTILIDAD %</i>													
<i>Tratamiento</i>		<i>T1 <16</i>				<i>T0 16 -18</i>				<i>T2 >18</i>			
<i>Horas</i>		<i>0</i>	<i>24</i>	<i>48</i>	<i>72</i>	<i>0</i>	<i>24</i>	<i>48</i>	<i>72</i>	<i>0</i>	<i>24</i>	<i>48</i>	<i>72</i>
LANDRACE	C1	76.10	69.90	6.70	1.50	76.10	68.20	48.70	20.30	76.10	69.90	47.90	37.10
	C2	90.40	47.90	47.30	31.40	90.40	90.30	81.20	82.80	90.40	92.20	88.00	62.70
	C3	82.90	7.50	2.10	1.00	82.90	66.40	69.80	39.30	82.90	96.40	87.70	63.50
	C4	82.90	1.80	2.10	2.60	82.90	73.00	57.10	42.00	82.90	48.90	74.40	90.80
	C5	99.10	54.30	12.60	2.50	99.10	87.10	84.00	54.30	99.10	87.70	66.20	78.10
	Prom.	86.28	36.28	14.16	7.80	86.28	77.00	68.16	47.74	86.28	79.02	72.84	66.44
	DE	8.77	30.03	19.02	13.21	8.77	11.01	15.20	23.07	8.77	19.63	16.73	20.08
LARGE WHITE	C1	98.7	32.70	5.30	1.50	98.7	91.40	52.90	94.80	98.7	91.40	49.50	37.40
	C2	94.90	35.90	34.00	30.70	94.90	92.90	71.00	48.80	94.90	91.80	95.80	84.20
	C3	97.10	74.80	38.60	30.60	97.10	86.80	84.30	84.40	97.10	64.20	69.80	77.70
	C4	83.00	23.40	9.50	10.40	83.00	86.00	86.80	82.80	83.00	89.00	85.50	74.20
	C5	95.10	15.30	7.80	2.20	95.10	39.80	83.10	59.90	95.10	91.60	61.80	51.70

Prom.	93.76	36.42	19.04	15.08	93.76	79.38	75.62	74.14	93.76	85.6	72.48	65.04
DE	6.21	22.93	15.91	14.64	6.21	22.32	14.09	19.05	6.21	12.02	18.46	19.71



Podemos observar en el cuadro N°2 que para la temperatura de semen preservado 16°C (T1) el promedio de motilidad desciende de $86,28 \pm 8,77\%$ a la hora 0 hasta $7,80 \pm 13,21$. En la temperatura óptima de preservación el descenso de la motilidad fue de: $86,28 \pm 8,77$ hora 0; $77,00 \pm 11,01$ hora 24; $68,16 \pm 15,20$ hora 48; $47,74 \pm 23,07$ hora

72. Así mismo observamos que para la temperatura de preservación mayor a 18°C la motilidad a la hora 0 fue de: $86,28 \pm 8,77$ en tanto a la hora 72 la motilidad fue de $66,44 \pm 20,08$.

Para el genotipo Large White los valores observados de motilidad a la hora 0 fueron $93,76 \pm 6,21$ en los tres tratamientos observándose que a la hora 72 la motilidad descendía a $15,08 \pm 14,64$ para el T1; $74,14 \pm 19,05$ para el T0; $65,04 \pm 19,71$ en el T3.

Se observa mayor disminución de la motilidad a la disminución de la T1 la que puede deberse a la baja de temperatura del refrigerador de conservación, que por la manipulación disminuye o aumenta la temperatura interna de conservación

CUADRO N° 03

Evaluación de la movilidad del semen preservado según genotipo y colecta en distintas temperaturas y tiempo de conservación

Movilidad	Linaje		Temperatura		Tiempo de conservación		Temperatura * Tiempo de Conservación	
	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.
Colecta 1	1.51	0.24	5.44	0.02	11.18	0.00	1.22	0.36
Colecta 2	0.37	0.55	30.44	0.00	14.60	0.00	4.16	0.02
Colecta 3	5.89	0.03	10.35	0.00	5.28	0.01	1.30	0.33

Colecta 4	6.96	0.02	43.73	0.00	9.51	0.00	5.44	0.01
Colecta 5	4.41	0.06	30.24	0.00	23.28	0.00	4.96	0.01

Según el análisis de la varianza (Cuadro N° 03), la movilidad del semen se ve influenciada por la temperatura, también se observa que la movilidad del semen preservado se ve influenciado por el tiempo de conservación de la colecta 1 a la 5, mientras que solo se halló influencia en la movilidad por la interacción de la



temperatura y el tiempo de conservación en las colectas 2,4 y 5; en las colectas 1 y 3 la movilidad no se vio influenciada por dicha interacción.

Barriga M. (31). Dice que teniendo como objetivo la evaluación de la calidad de semen de Caballo Peruano de Paso crio preservado con LDL y yema de huevo de gallina, como crioprotectores no penetrantes específicos, se realizó la colección de semen de 4 caballos Peruanos de Paso. Los parámetros macroscópicos observados obtuvieron como resultado, volumen promedio 41,5 ml; color y aspecto blanco lechoso; y pH 7,46 promedio, estos valores no mostraron diferencia estadística ($p > 0,05$) entre garañones. Se observó mejor calidad seminal en pajillas criopreservadas con lipoproteínas de baja densidad (LDL) frente a semen criopreservado con yema de huevo de gallina, existiendo diferencia estadística ($p < 0,05$) (31).

Urdiales .G. (2). Al comparar los valores de movilidad en las dos razas presentes en el estudio (Figura 4.3) se evidencia una tendencia similar a la observada con el total de los datos, encontrándonos valores inferiores ($p < 0,001$) en el método subjetivo a los mostrados con el sistema computarizado, tanto para la raza Landrace (81,8% frente al 92,1 %) como para la raza Large White (82,5% frente al 90,6 %). Al igual que en la valoración general, no se observan diferencias entre la prueba con estimulación química de la motilidad y la realizada sin ésta, salvo en la raza Large White, en la que se aprecia un ligero incremento ($p < 0,05$) en el porcentaje total de espermatozoides móviles. Como refleja la tabla 4.23, no resultan diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios obtenidos para los diferentes verracos en la motilidad subjetiva

y en la motilidad analizada con el sistema CASA tras la incubación con cafeína. En cambio, en aquellas muestras que no fueron incubadas con el estimulante de la motilidad, sí se reflejan algunas diferencias ($p < 0,05$) entre unos verracos y otros, siendo el G2552 el que presenta un valor medio más bajo (85,5 %) frente al T475 o al L437 (93,4 y 93,7 %, respectivamente) (2).



CUADRO N°. 04

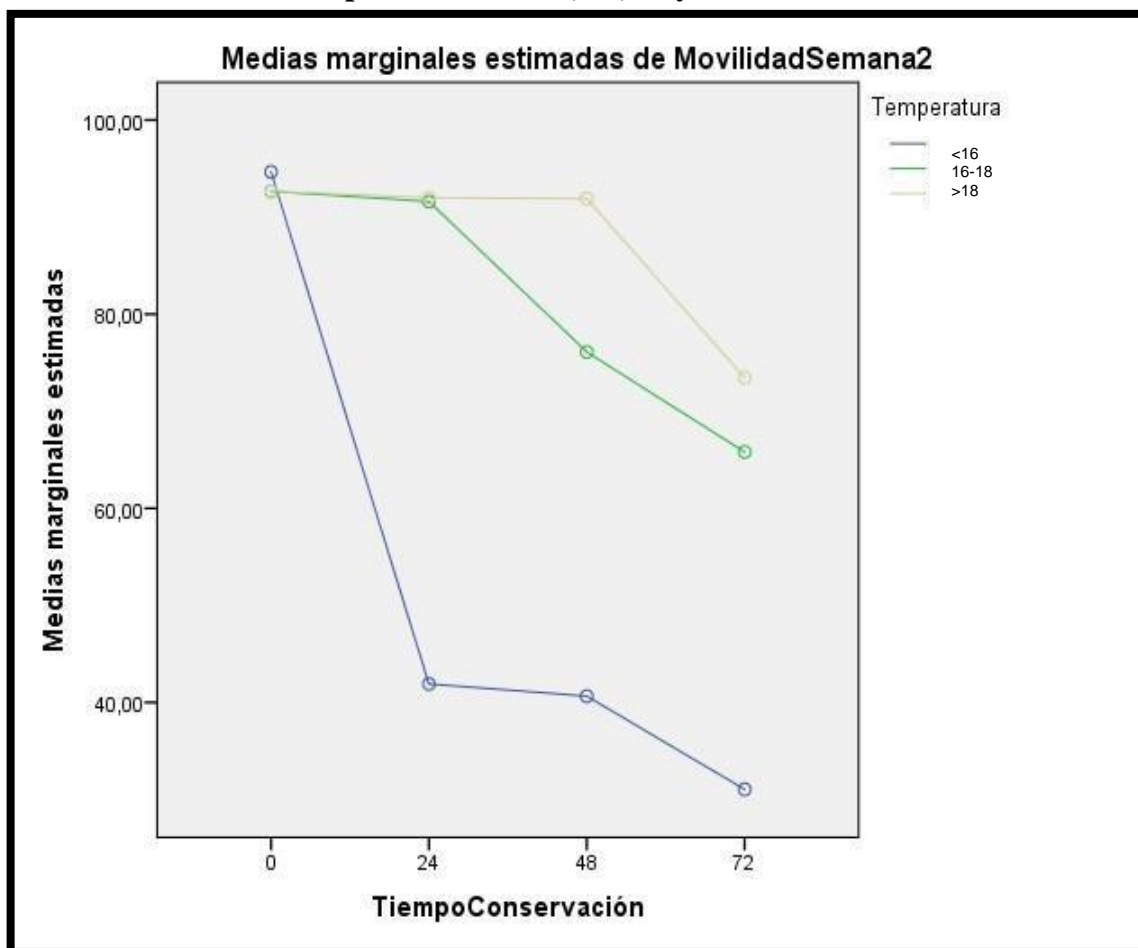
Comparaciones múltiples por genotipo, temperatura y tiempo de conservación

Temperatura	Colecta 1	Colecta2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
<16	36.47 ^a	52.06 ^a	41.82 ^a	26.96 ^a	36.11 ^a
>18	64.07 ^b	81.53 ^b	76.35 ^b	74.20 ^b	75.30 ^b
16-18	63.50 ^b	87.50 ^b	79.91 ^b	78.58 ^b	78.91 ^b
F=	5.44	30.44	10.35	43.73	30.24
Sig.	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
Tiempo de conservación	Colecta 1	Colecta 2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
72	32.10 ^a	56.76 ^a	49.41 ^a	50.46 ^a	41.45 ^a
48	35.16 ^a	69.55 ^a	58.71 ^a	52.56 ^a	52.58 ^b
24	64.16 ^b	75.16 ^b	65.98 ^a	53.68 ^a	62.63 ^b
0	87.29 ^b	93.31 ^c	90.00 ^b	82.95 ^b	97.10 ^c
F=	11.17	14.60	5.28	9.51	23.28
Sig.	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00

Letras iguales ttos iguales, letras diferentes ttos. diferentes a un $\alpha=0,05$.

Según la prueba de Tukey se muestra que la movilidad del semen preservado según genotipo en temperatura óptima y mayor a la óptima presenta mayor diferencia en el resultado con respecto a la movilidad del semen en temperatura menor a la óptima. Asimismo, se obtuvo que la movilidad del semen preservado según genotipo presentómayor diferencia a las 0 horas de conservación en las Colectas 2 y 5 con respecto a las demás horas de conservación (24,48 y 72).

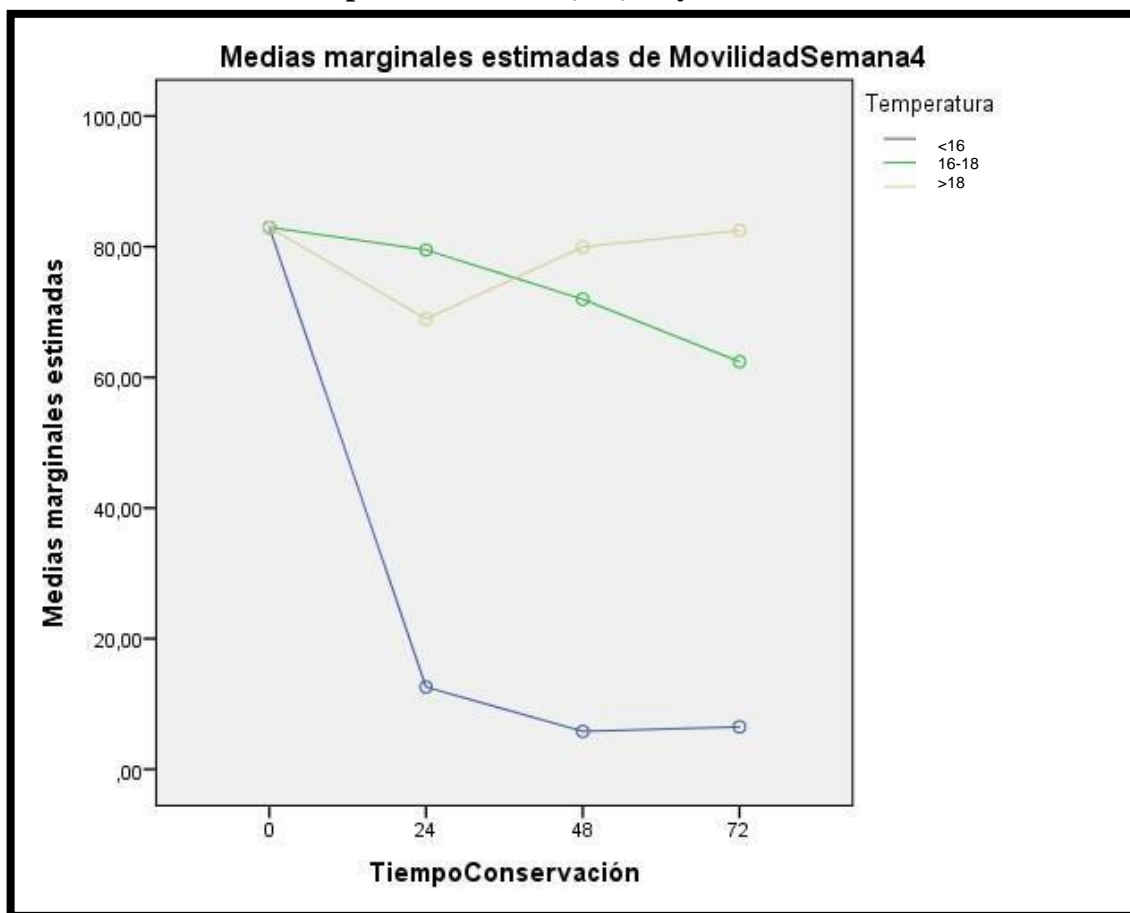
GRÁFICO N°. 1
Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo
conservación del semenpreservado según genotipo en
distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la



segunda Colecta

La grafica N°. 1 muestra que en cuanto a la movilidad del semen en la segunda colectaa una temperatura menor a la óptima y a las 0 horas se obtuvo el mayor valor, mientrasque el menor valor se presentó a las 72 horas con una temperatura menor a la óptima.

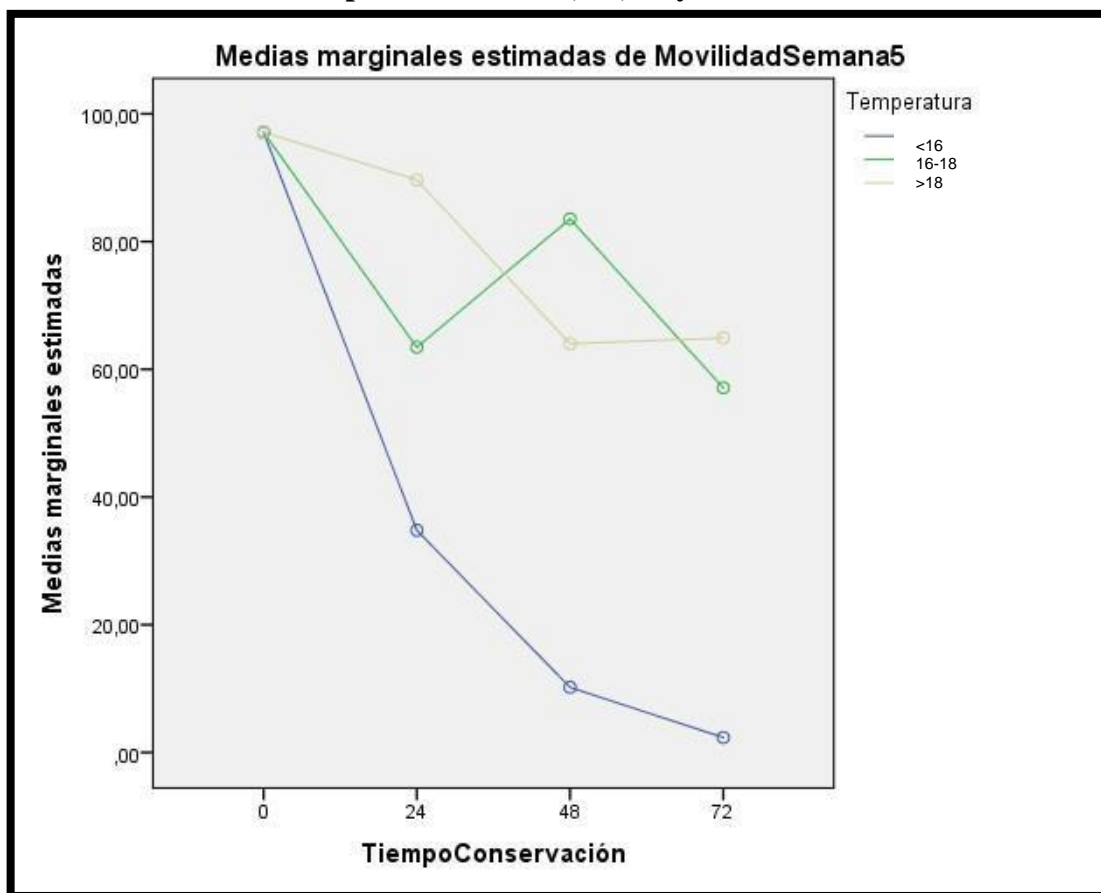
GRÁFICO N°. 2
Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo
conservación del semenpreservado según genotipo en
distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la



cuarta Colecta

La grafica N°. 2 muestra que en cuanto a la movilidad del semen en la cuarta Colecta a una temperatura óptima y mayor a la óptima a las 0 horas se obtuvo el mayor valor, mientras que el menor valor se presentó a las 72 horas con una temperatura menor a la óptima.

GRÁFICO N.º 3
Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo
conservación del semenpreservado según genotipo en
distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la



quinta Colecta

La grafica N.º. 3 muestra que en cuanto a la movilidad del semen en la quinta Colecta a una temperatura óptima y mayor a la óptima a las 0 horas se obtuvo el mayor valor, mientras que el menor valor se presentó a las 72 horas con una temperatura menor a la óptima.

4.1.2 Morfología Seminal

Mostramos en la Cuadro N°. 05 los resultados obtenidos para morfología según genotipo y su contratación por temperatura y tiempo de conservación.

CUADRO N°. 05

Resultados de Morfología Normal del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación

Morfología Normal%													
Tratamiento		T1 <16				T0 16 -18				T2 >18			
Horas		0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72
LANDRACE	C1	82.30	81.00	63.60	50.70	82.30	74.90	63.60	73.00	82.30	81.00	70.10	67.00
	C2	74.90	71.50	66.80	74.00	74.90	83.00	81.90	81.20	74.90	78.20	82.30	80.40
	C3	83.50	64.10	76.00	80.80	83.50	75.90	77.30	79.80	83.50	75.40	81.70	80.50
	C4	83.50	78.80	78.50	77.40	83.50	82.50	77.90	80.20	83.50	77.10	77.00	82.40
	C5	80.50	57.10	80.40	69.90	80.50	75.40	76.30	81.10	80.50	75.70	77.00	80.10
	Prom	80.94	70.50	73.06	70.56	80.94	78.34	75.40	79.06	80.94	77.48	77.62	78.08
	D.E	3.59	10.01	7.43	11.81	3.59	4.05	6.93	3.44	3.59	2.27	4.90	6.26
LARGE WHITE	C1	90.9	83.70	71.70	69.60	90.9	85.70	89.80	88.90	90.9	85.70	81.60	82.50
	C2	79.90	90.00	82.50	72.30	79.90	91.40	90.80	75.00	79.90	81.90	82.50	84.70
	C3	80.70	70.80	77.60	72.00	80.70	72.90	81.70	71.90	80.70	78.70	81.30	78.80
	C4	79.60	68.50	69.50	65.80	79.60	71.50	81.10	85.10	79.60	79.70	81.10	88.00
	C5	85.10	56.30	65.60	73.70	85.10	82.10	77.00	68.80	85.10	79.00	70.30	70.80

Prom	83.24	73.86	73.38	70.68	83.24	80.72	84.08	77.94	83.24	81	79.36	80.96
D.E	4.82	13.26	6.70	3.10	4.82	8.47	5.97	8.66	4.82	2.91	5.09	6.59



Podemos observar en el cuadro N°5 que para la temperatura de semen preservado $16(t_1)$ el promedio de morfología normal desciende de $80,94 \pm 3,59\%$ a la hora 0 hasta $70,56 \pm 11,81$. En la temperatura optima de preservación el descenso fue de: $80,94 \pm 3,59$ hora 0; $78,24 \pm 4,05$ hora 24; $75,40 \pm 6,93$ hora 48; $79,06 \pm 3,44$ hora 72. Así mismo observamos que para la temperatura de preservación mayor a 18°C la Morfología Normal a la hora 0 fue de: $80,94 \pm 3,59$ en tanto a la hora 72 la morfología normal fue de $78,08 \pm 6,26$.

Para el genotipo Large White los valores observados de motilidad a la hora 0 fueron $83,24 \pm 4,82$ en los tres tratamientos observándose que a la hora 72 la morfología normal descendía a $70,68 \pm 3,10$ para el T1; $77,94 \pm 8,66$ para el T0; $80,96 \pm 6,59$ en el T3.

Se observa mayor disminución de la morfología normal a la disminución de la T1 la que puede deberse a la baja de temperatura del refrigerador de conservación, que por la manipulación disminuye o aumenta la temperatura interna de conservación.

CUADRO N° 06

Evaluación de la morfología del semen preservado según genotipo y colecta endistintas temperaturas y tiempo de conservación

Morfología normal	Linaje		Temperatura		Tiempo de conservación		Temperatura * Tiempo Conservación	
	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.
Colecta 1	38.54	0.00	5.32	0.02	13.83	0.00	2.67	0.07
Colecta 2	7.72	0.01	2.97	0.09	1.57	0.25	1.10	0.42
Colecta 3	0.78	0.39	3.58	0.06	8.23	0.00	0.93	0.51

Colecta 4	2.08	0.17	3.60	0.06	1.47	0.27	0.84	0.56
Colecta 5	0.36	0.56	4.37	0.04	5.52	0.01	2.35	0.10

El Cuadro N°. 3 según el análisis de la varianza muestra que la morfología normal del semen solo se ve influenciada por la temperatura en la Colecta 1 y 5, también se



observa que la morfología nominal del semen preservado se ve influenciado por el tiempo de conservación en las Colectas 1,3 y 5, mientras que no se halló influencia en la morfología nominal por la interacción de la temperatura y el tiempo de conservación.

Rodríguez A (32).obtuvo los siguientes resultados a partir del semen del eyaculado completo: Motilidad a las 0 horas con glicerol 3,8 y con dimetilformamida 2,52 según la escala³⁸; Motilidad a las 2 horas con glicerol 1,8 y con dimetilformamida 0,68 según la escala³⁸, Viabilidad 45,22% y 33,70%; Integridad membrana plasmática 43,30% y 32,76%; Anormalidades de cabeza 5,04% y 7,56%; Anormalidades de los siguientes resultados a partir del semen del eyaculado completo: Motilidad a las 0 horas con glicerol 3,8 y con dimetilformamida 2,52 según la escala³⁸; Motilidad a las 2 horas con glicerol 1,8 y con dimetilformamida 0,68 según la escala³⁸, Viabilidad 45,22% y 33,70%; Integridad membrana plasmática 43,30% y 32,76%; Anormalidades de cabeza 5,04% y 7,56% (32).

CUADRO N° 07

Comparaciones múltiples por grupo

Temperatura	Colecta 1	Colecta 2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
<16	74.18 ^a	76.48	75.68	75.20	71.07 ^a
>18	80.13 ^b	80.51	80.07	81.05	77.31 ^b
16-18	81.13 ^b	82.26	77.96	80.17	78.28 ^b
F=	5.32	2.97	3.58	3.60	4.37
Sig.	0.02	0.09	0.06	0.06	0.04

Tiempo de conservación	Colecta 1	Colecta 2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
72	86.00 ^a	77.40	82.10 ^a	81.55	82.80 ^a
48	73.40 ^a	81.13	79.26 ^b	77.51	74.43 ^a
24	82.00 ^b	82.55	72.96 ^a	76.35	70.93 ^a
0	86.60 ^b	77.40	82.10 ^b	81.55	82.80 ^b
F=	13.83	1.57	8.23	1.47	5.52
Sig.	0.00	0.25	0.00	0.27	0.01

Letras iguales ttos iguales, letras diferentes ttos. diferentes a un $\alpha=0,05$.

Según la prueba de tukey B se muestra que la morfología nominal del semen preservado según genotipo en temperatura óptima y mayor a la óptima presenta mayor diferencia en el resultado con respecto a la morfología nominal del semen en temperatura menor a la óptima en las Colectas 1 y 5.

Por otro lado, se obtuvo que la morfología nominal del semen preservado según genotipo presentó mayor diferencia a las 0 horas de conservación en las Colectas 1, 3 y 5 con respecto a las demás horas de conservación (24,48 y 72).

CUADRO N° 08

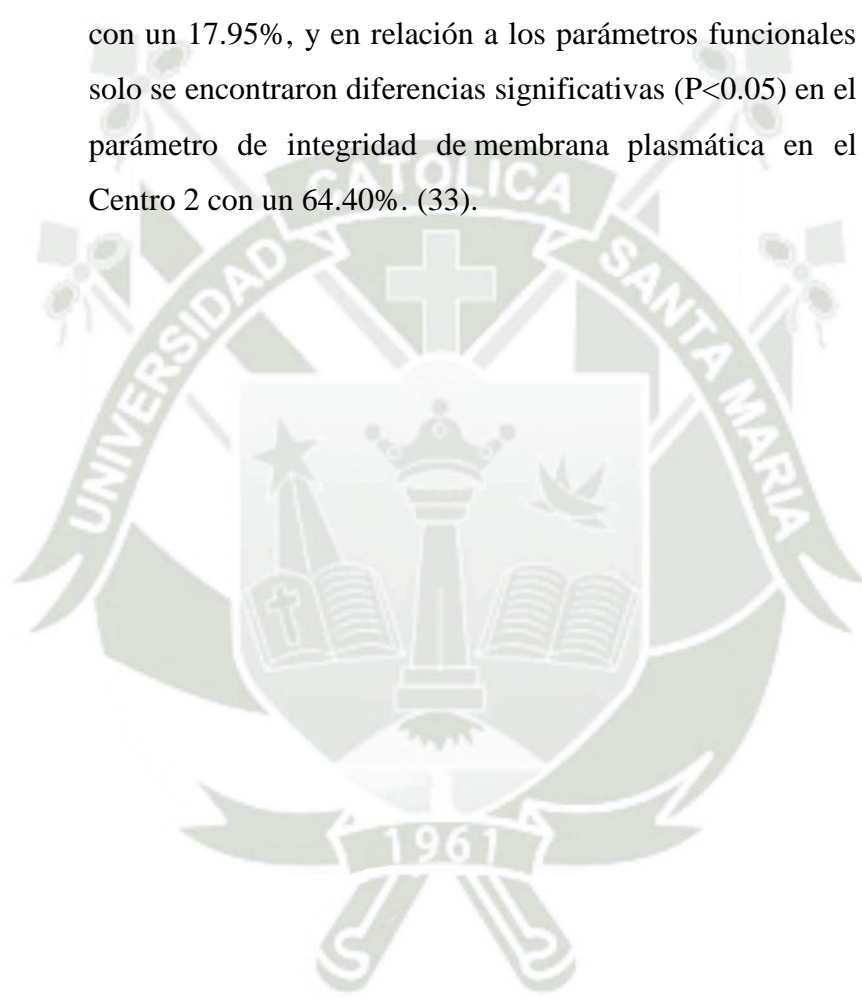
**Evaluación de la movilidad del semen preservado según
genotipo en distintas temperaturas y tiempo de
conservación**

Gota	Genotipo		Temperatura		Tiempo de conservación		Temperatura * Tiempo Conservación	
	proximal F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.
Colecta 1	0.75	0.40	4.97	0.03	5.54	0.01	1.15	0.39
Colecta 2	8.18	0.01	44.08	0.00	11.82	0.00	6.90	0.00
Colecta 3	0.00	0.96	9.25	0.00	2.98	0.07	1.58	0.24
Colecta 4	0.62	0.44	9.62	0.00	9.64	0.00	3.86	0.02
Colecta 5	0.63	0.44	41.99	0.00	33.66	0.00	10.48	0.00

Según el análisis de la varianza (Cuadro N° 08) muestra que la gota proximal del semen se ve influenciada por la temperatura, también se observa que se ve influenciado por el tiempo de conservación excepto en la tercera Colecta, mientras que solo se halló influencia en la gota proximal por la interacción de la temperatura y el tiempo de conservación en las Colectas 2, 4 y 5; en las Colectas 1 y 3 la gota proximal no se vio influenciada por dicha interacción.

Quispe P. (33) en una investigación similar concluyó que para el Centro 1, Centro 2 y Centro 3 después de la descongelación fueron en motilidad progresiva: 41%, 49% y 46%; en concentración: 22.25 x10⁶, 27.25 x10⁶, 19.88 x10⁶ espermatozoides por pajilla (0.5ml); en morfología total: 22.20%, 17.95% y 22.45%; en

vitalidad: 55.60%,
55.90% y 52.90%; en integridad de membrana plasmática:
69.75%, 64.40% y 56.05% y en integridad de acrosoma:
3.75%, 4.60% y 5.25% respectivamente. Se encontró que los
parámetros espermáticos evaluados microscópicamente
hubieron diferencias significativas ($P < 0.05$) solo en el
parámetro de morfología total en el Centro de Colección 2
con un 17.95%, y en relación a los parámetros funcionales
solo se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el
parámetro de integridad de membrana plasmática en el
Centro 2 con un 64.40%. (33).



CUADRO N° 09

Comparaciones múltiples por grupo

Temperatura	Colecta 1	Colecta 2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
<16	5.33 ^a	4.80 ^b	5.01 ^b	7.25 ^b	3.97 ^b
>18	2.70 ^b	1.43 ^a	1.98 ^a	3.73 ^a	1.55 ^a
16-18	3.12 ^b	1.81 ^a	2.98 ^a	3.88 ^a	1.73 ^a
F=	4.97	44.08	9.25	9.62	41.99
Sig.	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00

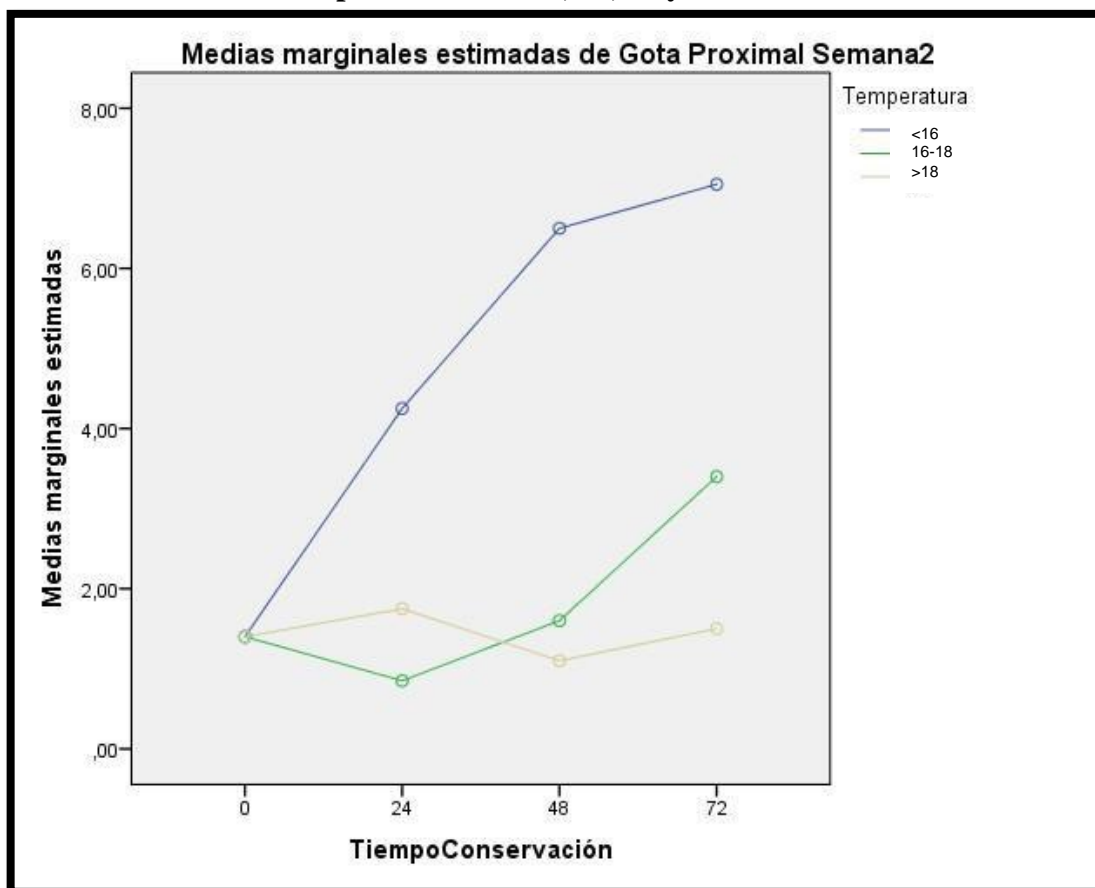
Tiempo de conservación	Colecta 1	Colecta 2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
72	4.66 ^b	3.98 ^c	4.26	5.80 ^c	2.41 ^b
48	5.11 ^b	3.06 ^c	3.46	2.76 ^a	2.76 ^b
24	3.95 ^b	2.28 ^b	3.68	3.46 ^a	3.76 ^c
0	1.15 ^a	1.40 ^a	1.90	7.80 ^c	0.50 ^a
F=	5.54	11.82	2.98	9.64	10.48
Sig.	0.01	0.00	0.07	0.00	0.00

Letras iguales ttos iguales, letras diferentes ttos. diferentes a un $\alpha=0,05$.

Según la prueba de tukey B se muestra que en la primera Colecta la gota proximal del semen preservado según genotipo en temperatura óptima y mayor a la óptima presenta mayor diferencia en el resultado con respecto a la movilidad del semen en temperaturamenor a la óptima, mientras que en las Colectas 2, 3,4 y 5 la gota proximal expuesta a temperatura menor a la óptima presenta mayor diferencia en comparación a las expuestas a temperatura óptima y mayor a la óptima.

Por otro lado, se obtuvo que la gota proximal del semen preservado según genotipo presentó mayor diferencia a las 72 horas de conservación en las Colectas 2 y 4 con respecto a las demás horas de conservación (0, 24 y 48).

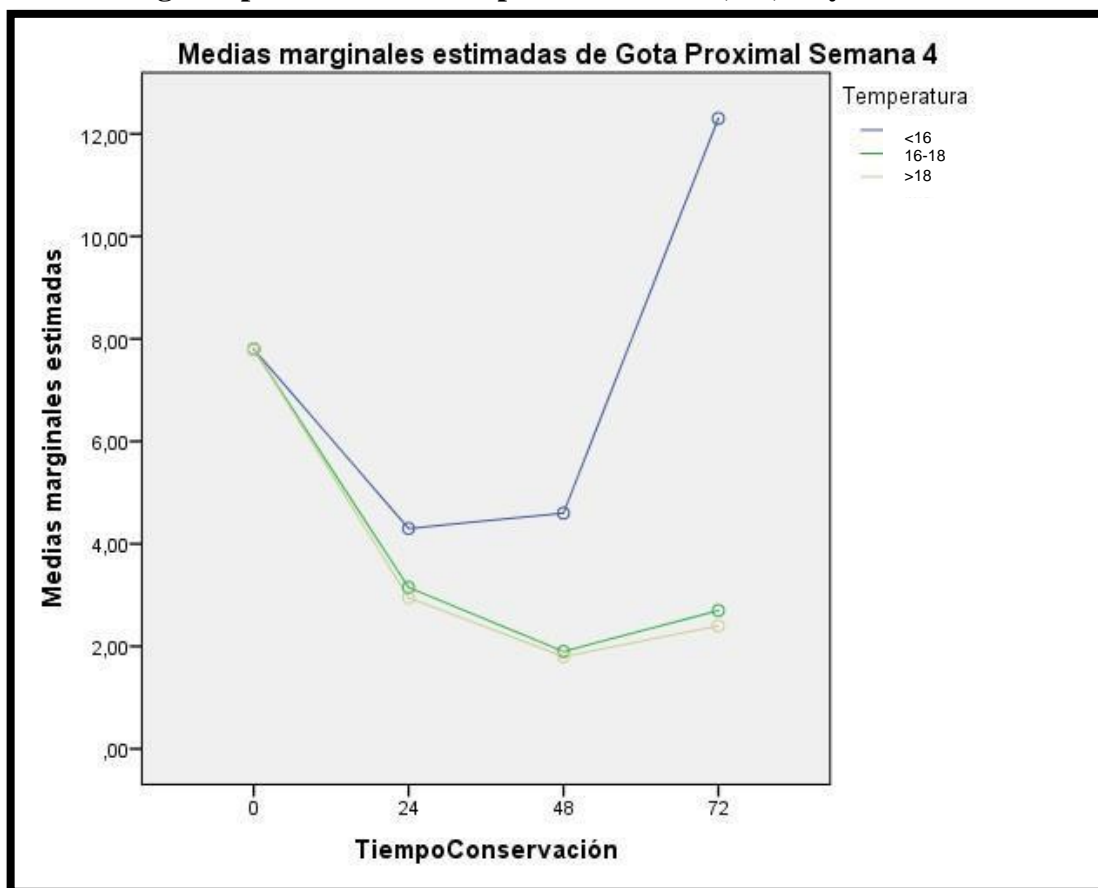
GRÁFICO N°. 4
Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo
conservación del semenpreservado según genotipo en
distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la



segunda Colecta

La grafica N°. 4 muestra que en cuanto a la gota proximal del semen en la segunda Colecta a una temperatura menor a la óptima y a las 72 horas se obtuvo el mayor valor, mientras que el menor valor se presentó a las 0 horas con una temperatura mayor a la óptima.

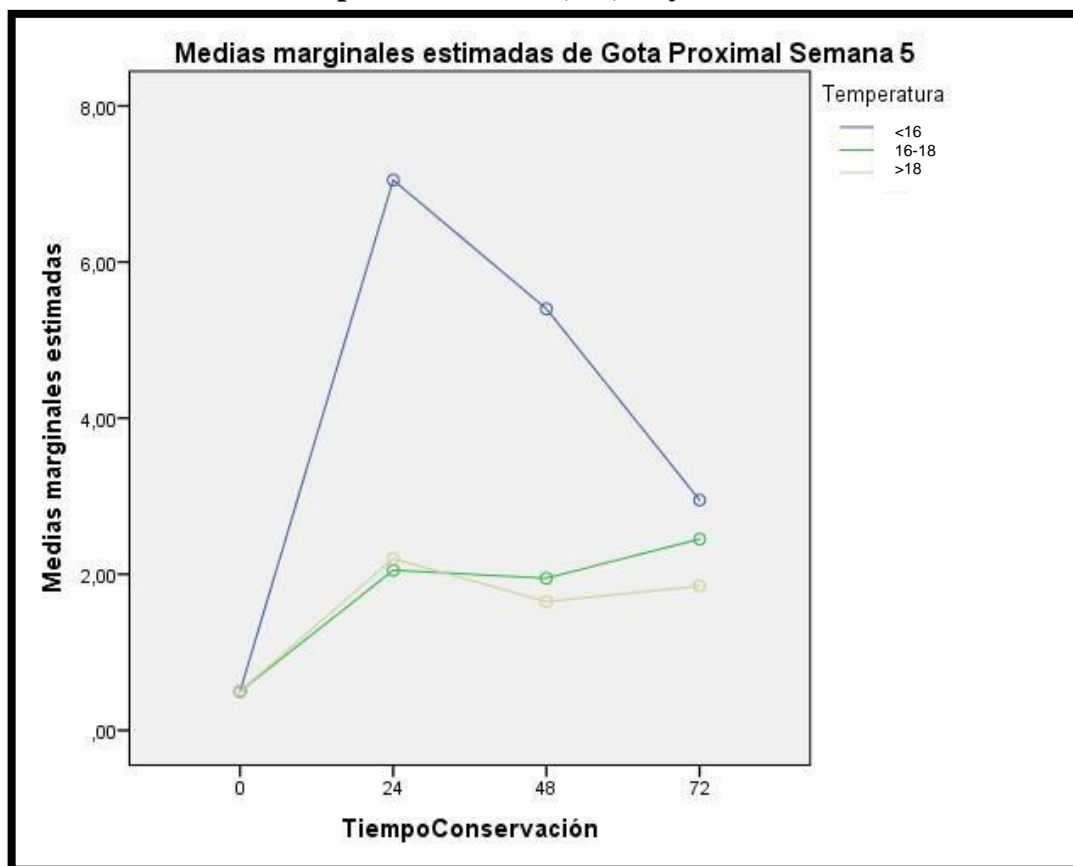
GRÁFICO N° 5
Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semenpreservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72



horas en la cuarta Colecta

La grafica N°. 5 muestra que en cuanto a la gota proximal del semen en la cuarta Colecta a una temperatura menor a la óptima y a las 72 horas se obtuvo el mayor valor, mientras que el menor valor se presentó a las 48 horas con una temperatura mayor a la óptima.

GRÁFICO N°. 6
Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo
conservación del semenpreservado según genotipo en
distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la



quinta Colecta

La grafica N°. 6 muestra que en cuanto a la gota proximal del semen en la cuarta Colecta a una temperatura menor a la óptima y a las 24 horas se obtuvo el mayor valor, mientras que el menor valor se presentó a las 0 horas con una temperatura mayor a la óptima.

4.1.3 Gota Citoplasmática Distal

Mostramos en la Cuadro N.º. 10 los resultados obtenidos para Gota Citoplasmática Distal según genotipo y su contratación portemperatura y tiempo de conservación.

CUADRO N.º. 10

Resultados de Gota Citoplasmática Distal del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación

Gota Citoplasmática Distal													
Tratamiento		T1 <16				T0 16 -18				T2 >18			
Horas		0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72
LANDRACE	C1	16.20	14.70	29.90	41.20	16.20	21.50	29.90	21.40	16.20	14.70	26.70	25.90
	C2	24.00	25.60	26.60	19.40	24.00	16.00	16.20	17.00	24.00	20.50	17.00	16.90
	C3	15.60	29.20	16.50	13.40	15.60	19.00	20.30	16.00	15.60	23.10	17.10	16.10
	C4	73.30	18.90	18.60	8.60	73.30	13.90	19.60	16.80	73.30	19.00	20.40	16.60
	C5	12.20	36.50	14.00	25.80	12.20	22.10	21.40	14.30	12.20	21.30	20.40	17.30
	Prom	28.26	24.98	21.12	21.68	28.26	18.50	21.48	17.10	28.26	19.72	20.32	18.56
	D.E	25.55	8.57	6.81	12.68	25.55	3.52	5.09	2.63	25.55	3.17	3.94	4.13
LARGE WHITE	C1	8.3	7.30	17.30	25.20	8.3	13.20	6.20	6.90	8.3	13.20	16.00	13.20
	C2	18.50	4.40	11.10	19.70	18.50	7.90	7.60	20.00	18.50	15.90	16.00	12.90
	C3	16.30	25.90	16.70	20.70	16.30	24.30	16.80	25.10	16.30	18.30	17.30	19.10
	C4	20.10	25.20	23.70	23.50	20.10	25.60	17.60	12.50	20.10	17.90	17.90	8.20
	C5	14.10	35.60	29.60	23.60	14.10	16.20	21.40	28.50	14.10	19.20	27.90	27.10
	Prom	15.46	19.68	19.68	22.54	15.46	17.44	13.92	18.60	15.46	16.90	19.02	16.10

	D.E	4.60	13.32	7.12	2.27	4.60	7.49	6.66	8.89	4.60	2.39	5.03	7.26
--	------------	------	-------	------	------	------	------	------	------	------	------	------	------



Podemos observar en Cuadro N°10 que para la temperatura de semen preservado 16°C el promedio de gota distal desciende de $28,26\pm 25,55\%$ a la hora 0 hasta $21,68\pm 12,68$. En la temperatura óptima de preservación el descenso fue de: $28,26\pm 25,55$ hora 0; $18,50\pm 3,52$ hora 24; $21,48\pm 5,09$ hora 48; $17,10\pm 2,63$ hora 72.

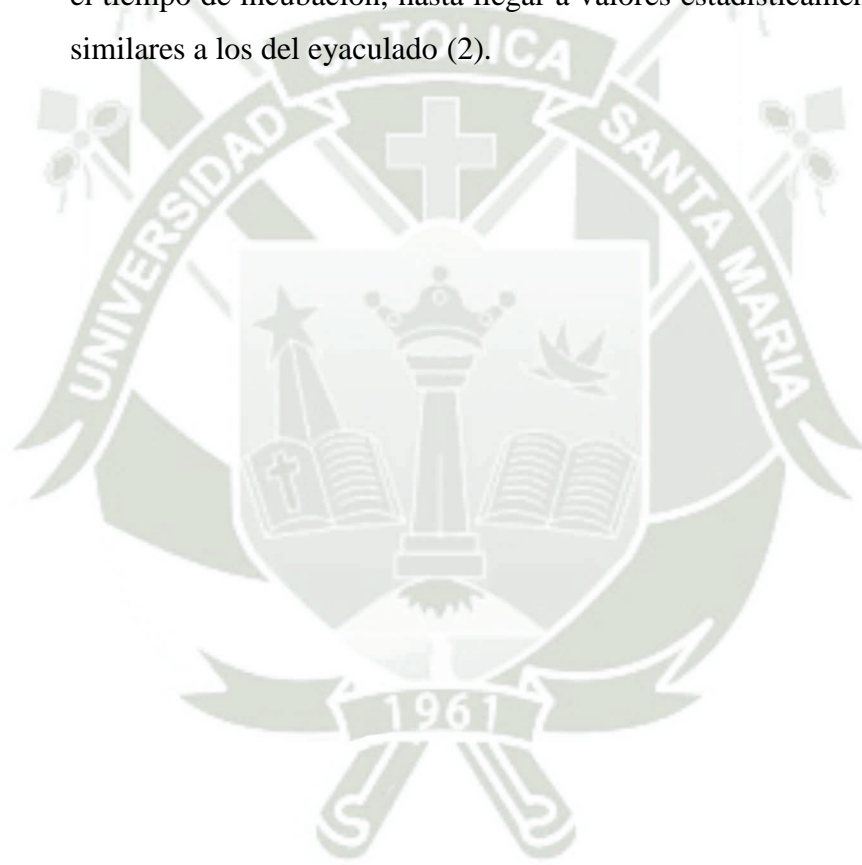
Así mismo observamos que para la temperatura de preservación mayor a 18°C la gota distal a la hora 0 fue de: $28,26\pm 25,55$ en tanto a la hora 72 la gota distal fue de $18,56\pm 4,13$.

Para el genotipo Large White los valores observados de gota distal a la hora 0 fueron $15,46\pm 4,60$ en los tres tratamientos observándose que a la hora 72 la gota distal $22,54\pm 2,27$ para el T1; $18,60\pm 8,89$ para el T0; $10,16\pm 7,26$ en el T2.

Se observa mayor diferencia de la gota distal de la T1, la que puede deberse a la baja de temperatura del refrigerador de conservación, que por la manipulación disminuye o aumenta la temperatura interna de conservación.

Urdiales G. (2). Las mayores diferencias se producen después del choque inicial (S0), con el que todas las categorías cambian de forma notable, especialmente el grupo _COLA+GOTA_, que engloba a aquellos espermatozoides que presentan una torsión a nivel de la cola y, además, la presencia de una gota citoplasmática distal (GCD), que experimenta un sorprendente aumento en su porcentaje medio, pasando de un $2,79\%$ a un $22,0\%$. Como este incremento puede ser debido a que muchos de los espermatozoides integrados en el grupo GD (formado por los espermatozoides cuya única diferencia morfológica con los normales es la presencia de una gota distal), hayan experimentado, como consecuencia del descenso brusco de temperatura, una torsión de la cola alrededor de la gota citoplasmática, a partir de este momento aquellos

espermatozoides que originariamente pertenecían al grupo _COLA+GOTA_ serán incluidos para el análisis de los resultados en el grupo GD, considerando como la característica únicamente la presencia de la GCD. Una vez realizada esta corrección, los datos se recogen en la tabla 4.85, en la que se comprueba la drástica reducción del porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales experimentada tras el S0, que pasa de un 76,9_11,2% a un 28,6_17,6 %, porcentaje que va después ascendiendo a medida que transcurre el tiempo de incubación, hasta llegar a valores estadísticamente similares a los del eyaculado (2).



CUADRO N°. 11

Evaluación de la gota distal del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempo de conservación

Gota distal	Genotipo		Temperatura		Tiempo de conservación		Temperatura * Tiempo de Conservación	
	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.
Colecta 1	45.88	0.00	2.82	0.10	9.53	0.00	3.94	0.02
Colecta 2	9.95	0.01	0.29	0.75	1.28	0.32	0.67	0.67
Colecta 3	1.11	0.31	0.55	0.59	6.65	0.00	1.15	0.39
Colecta 4	2.42	0.14	0.03	0.96	3.79	0.04	0.00	1.00
Colecta 5	1.45	0.25	1.11	0.36	7.79	0.00	2.01	0.15

El Cuadro N°. 11 según el análisis de la varianza muestra que la gota distal del semenno se ve influenciada por la temperatura, también se observa que la gota distal se ve influenciada por el tiempo de conservación excepto en la segunda Colecta, mientras que solo se halló influencia en la gota distal por la interacción de la temperatura y el tiempo de conservación en las Colecta 1.

Julca, S. (3) Reporta que la implementación de la inseminación artificial (IA) en la selva peruana en pequeñas crianzas porcinas todavía enfrenta ciertos problemas, como la disponibilidad de semen de buenos reproductores, el empleo de dilutores comerciales y la falta de técnicos inseminadores. Se utilizó un diseño completamente al azar, con siete tratamientos y tres repeticiones, para la contrastación estadística entre medias se utilizó la prueba de Tukey ($p < 0.05$), en variables paramétricas y la prueba de Kruskal Wallis en variables no paramétricas, procesando los datos con programa INFOSTAT (versión libre). Los resultados muestran que T2 (DAC), tiene un valor aceptable tanto para la motilidad (63.33%) y viabilidad (55%) para la conservación desemen porcino a 16°C hasta por 24 horas, así mismo, se definió que el T3 (DAC 60% + BTS 40%) obtuvo similar motilidad (66%) y de viabilidad (61.67%) al obtenido porel dilutor comercial (BTS). Así mismo

los costos de usar el DAC (T1 =agua de coco puro) para la conservación de semen porcino, en refrigeración a 16°C, resulta más económico (S/. 8.50) que los demás dilutores evaluados.



CUADRO N° 12

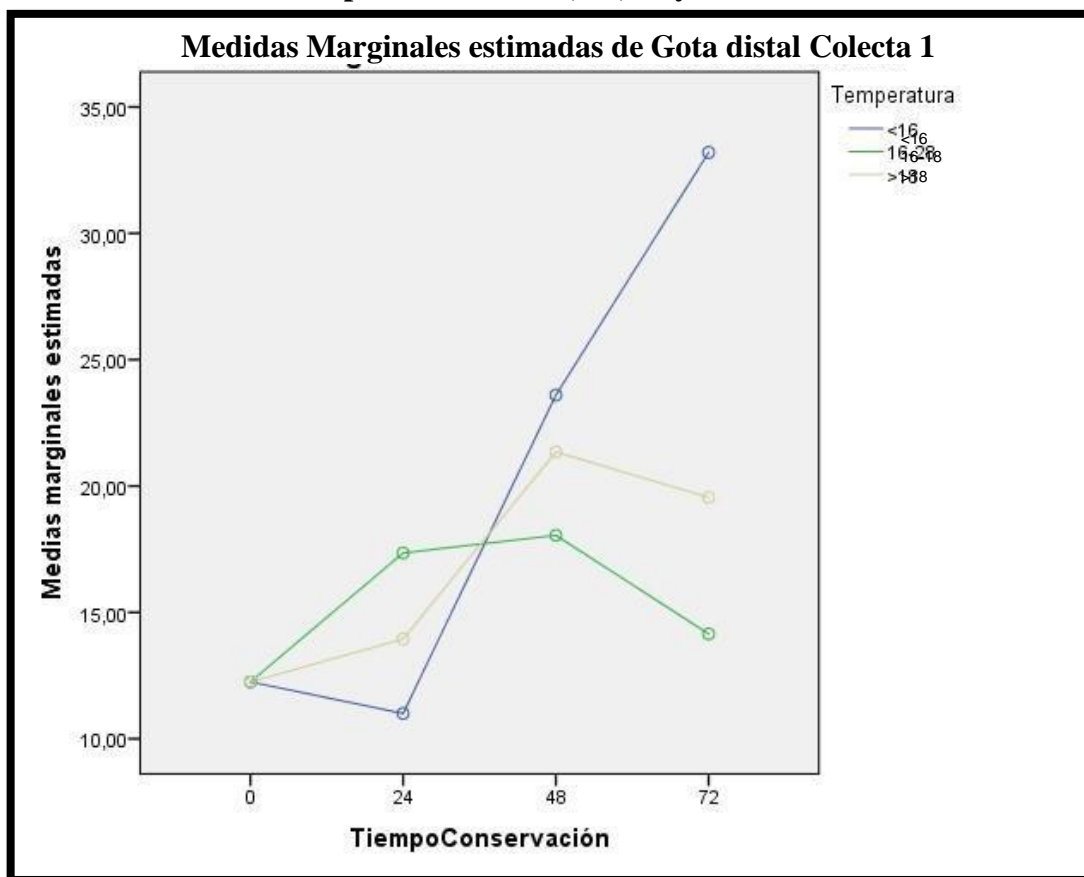
Comparaciones múltiples por grupo

Tiempo de conservación	Colecta 1	Colecta 2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
72	22.30 ^b	18.56	18.40 ^a	14.36 ^a	22.76 ^b
48	21.00 ^b	17.95	17.45 ^b	19.63 ^a	22.45 ^b
24	14.10 ^a	15.05	23.30 ^a	20.08 ^a	25.15 ^b
0	12.25 ^a	20.23	15.95 ^a	46.70 ^b	11.48 ^a
F=	9.53	1.28	6.65	3.79	7.79
Sig.	0.00	0.32	0.00	0.04	0.00

Letras iguales ttos iguales, letras diferentes ttos. diferentes a un $\alpha=0,05$.

Según la prueba de tukey B se muestra que la gota distal del semen preservado según genotipo en la primera Colecta presentó mayor diferencia a las 72 y 48 horas de conservación con respecto a las demás horas de conservación (0 y 24), en la tercera Colecta se encontró mayor diferencia a las 48 horas, mientras que en la cuarta Colecta la diferencia se encontró a las 0 horas.

GRÁFICO N° 7
Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo
conservación del semenpreservado según genotipo en
distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la



primera Colecta

La grafica N°. 7 muestra que en cuanto a la gota proximal del semen en la cuarta Colecta a una temperatura menor a la óptima y a las 24 horas se obtuvo el mayor valor, mientras que el menor valor se presentó a las 0 horas con una temperatura mayor a la óptima.

4.1.4 Cola Plegada

Mostramos en la Cuadro N.º. 13 los resultados obtenidos para Cola Plegada según genotipo y su contratación por temperatura y tiempo de conservación.

CUADRO N° 13

Resultados de Cola Plegada del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación

Colas Plegadas													
Tratamiento		T1 <16				T0 16 -18				T2 >18			
Horas		0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72
Landrace	C1	0.00	0.00	0.30	2.70	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.00	0.20	1.80
	C2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00	2.10
	C3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.30	0.00
	C4	2.20	0.00	0.00	0.00	2.20	0.00	0.00	0.00	2.20	0.40	0.00	0.00
	C5	0.00	0.00	0.00	0.90	0.00	0.00	0.00	1.80	0.00	0.00	1.00	0.40
	Prom	0.44	0.00	0.06	0.72	0.44	0.00	0.12	0.36	0.44	0.08	0.30	0.86
	D.E	0.98	0.00	0.13	1.17	0.98	0.00	0.16	0.80	0.98	0.18	0.41	1.01
Large White	C1	0	0.00	0.70	0.00	0	0.00	1.70	0.70	0	0.00	0.00	1.30
	C2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	C3	0.00	0.30	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	C4	0.30	0.00	0.50	0.00	0.30	0.20	0.00	0.00	0.30	0.00	0.00	0.00
	C5	0.00	0.40	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.70	0.00	0.30	0.00	0.60
	Prom	0.06	0.14	0.28	0	0.06	0.04	0.36	0.28	0.06	0.06	0	0.38
	D.E	0.13	0.19	0.31	0.00	0.13	0.09	0.75	0.38	0.13	0.13	0.00	0.58

Podemos observar en el cuadro N°13 que para la temperatura de semen preservado

<16 (t1) el promedio de cola plagada aumenta de $0,44\pm 0,98$ % a la hora 0 hasta $0,72\pm 1,17$. En la temperatura óptima de preservación la variación de cola plegada fue de: $0,44\pm 0,98$ hora 0; $0,00\pm 0,00$ hora 24; $0,12\pm 0,16$ hora 48; $0,36\pm 0,80$ hora 72. Así mismo observamos que para la temperatura de preservación mayor a 18°C la cola plegada la hora 0 fue de: $0,44\pm 0,98$ en tanto a la hora 72 la gota distal fue de $0,86\pm 1,01$.

Para el genotipo Large White los valores observados de gota distal a la hora 0 fueron $0,06\pm 0,13$ en los tres tratamientos observándose que a la hora 72 la gota distal $0,00\pm 0,00$ para el T1, $0,28\pm 0,38$ para el T0; $0,38\pm 0,58$ en el T2.

Se observa mayor diferencia de la cola plegada de la T1, la que puede deberse a la bajada de temperatura del refrigerador de conservación, que por la manipulación disminuye o aumenta la temperatura interna de conservación.

Urdiales G. (2) En cambio, el porcentaje de espermatozoides que presentan una gota citoplasmática, ya sea distal o proximal, se incrementa de forma significativa ($p < 0,05$) respecto a los valores del semen fresco, en todas las valoraciones efectuadas tras los choques, alcanzando máximas de un $54,4\text{--}9,3\%$ en el grupo GD tras el S0 y de un $22,0\text{--}22,3\%$ en el grupo GP tras el S1. Por su parte, las otras dos categorías, que encuadran a los espermatozoides con alteraciones a nivel de la cabeza o de la cola, parten ya de un porcentaje muy bajo, que se reduce ($p < 0,05$) aún más tras los choques, llegando incluso a ser cero en muchos casos (2).

CUADRO N°. 14

Evaluación de las colas plegadas del semen preservado según genotipo endistintas temperaturas y tiempos de conservación

Colas plegadas	Genotipo		Temperatura		Tiempo de conservación		Temperatura * Tiempo de Conservación	
	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.
Colecta 1	0.07	0.79	0.07	0.93	3.49	0.06	0.87	0.54
Colecta 2	1.31	0.27	0.88	0.44	0.93	0.45	1.07	0.43
Colecta 3	0.72	0.41	0.84	0.45	0.97	0.43	0.98	0.48
Colecta 4	3.02	0.11	0.01	0.99	5.29	0.02	0.05	0.99
Colecta 5	1.08	0.32	0.25	0.78	4.55	0.03	1.27	0.34

La Tabla N°. 9 según el análisis de la varianza muestra que la cola plegada del semen no se ve influenciada por la temperatura, también se observa en las Colectas 4 y 5 las evaluaciones de las colas plegadas se vieron influenciadas por el tiempo de conservación, mientras que no se halló influencia en las colas plegadas por la interacción de la temperatura y el tiempo de conservación.

Urdiales, R (33) La capacidad de adaptación a un estrés osmótico fue valorada por medio de pruebas de HOST (de 30 y 60 minutos de incubación) y de ORT (de 60 y 120 minutos de incubación) con soluciones hiperosmóticas ajustadas a 100 mOsm/kg, la de adaptación a un estrés por calor, mediante la incubación de las muestras seminales diluidas a 39 °C durante 7 horas, evaluando la integridad de las membranas plasmática y acrosomal, así como el porcentaje de movilidad (con y sin cafeína) a la hora y media (T1,5), a las tres (T3), a las cuatro horas y media (T4,5) y a las siete horas (T7); y finalmente, en la resistencia espermática a un descenso brusco de temperatura, se valoraron esos mismos parámetros tras someter las muestras

a temperaturas 291 de0 °C durante 5 minutos en diferentes momentos: a los 10 minutos de comenzar una incubación a 20 °C (S0), a la hora (S1), a las dos (S2), a las tres (S3) y a las cinco horas(S5).



CUADRO N°. 15

Comparaciones múltiples por grupo

Tiempo de conservación	Colecta 1	Colecta 2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
72	1.08	0.35	0.00	0.00 ^a	0.73 ^b
48	0.53	0.05	0.51	0.08 ^a	0.20 ^a
24	0.00	0.00	0.05	0.10 ^a	0.11 ^a
0	0.0.	0.00	0.00	1.25 ^b	0.00 ^a
F=	3.49	0.93	0.97	5.29	4.55
Sig.	0.06	0.45	0.43	0.02	0.03

Letras iguales ttos iguales, letras diferentes ttos. diferentes a un $\alpha=0,05$.

Según la prueba de tukey B se muestra que la cola plegada en la cuarta Colecta presentómayor diferencia a las 0 horas de conservación con respecto a las demás horasde conservación (24,48 y 72), mientras que en la quinta Colecta la diferencia se encontróa las 72 horas.

CUADRO N°. 16

Evaluación de las colas plegadas del semen preservado según genotipo endistintas temperaturas y tiempos de conservación

Móvil y normal	Genotipo		Temperatur a		Tiempo de conservación		Temperatura * Tiem Conservación	
	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.
Colecta 1	1.79	0.20	4.16	0.04	20.39	0.00	0.52	0.78
Colecta 2	0.05	0.81	30.00	0.00	8.56	0.00	3.78	0.03
Colecta 3	5.81	0.03	13.33	0.00	7.52	0.01	1.65	0.22
Colecta 4	12.99	0.00	13.20	0.00	0.44	0.72	1.62	0.22
Colecta 5	1.98	0.18	67.59	0.00	52.37	0.00	8.39	0.00

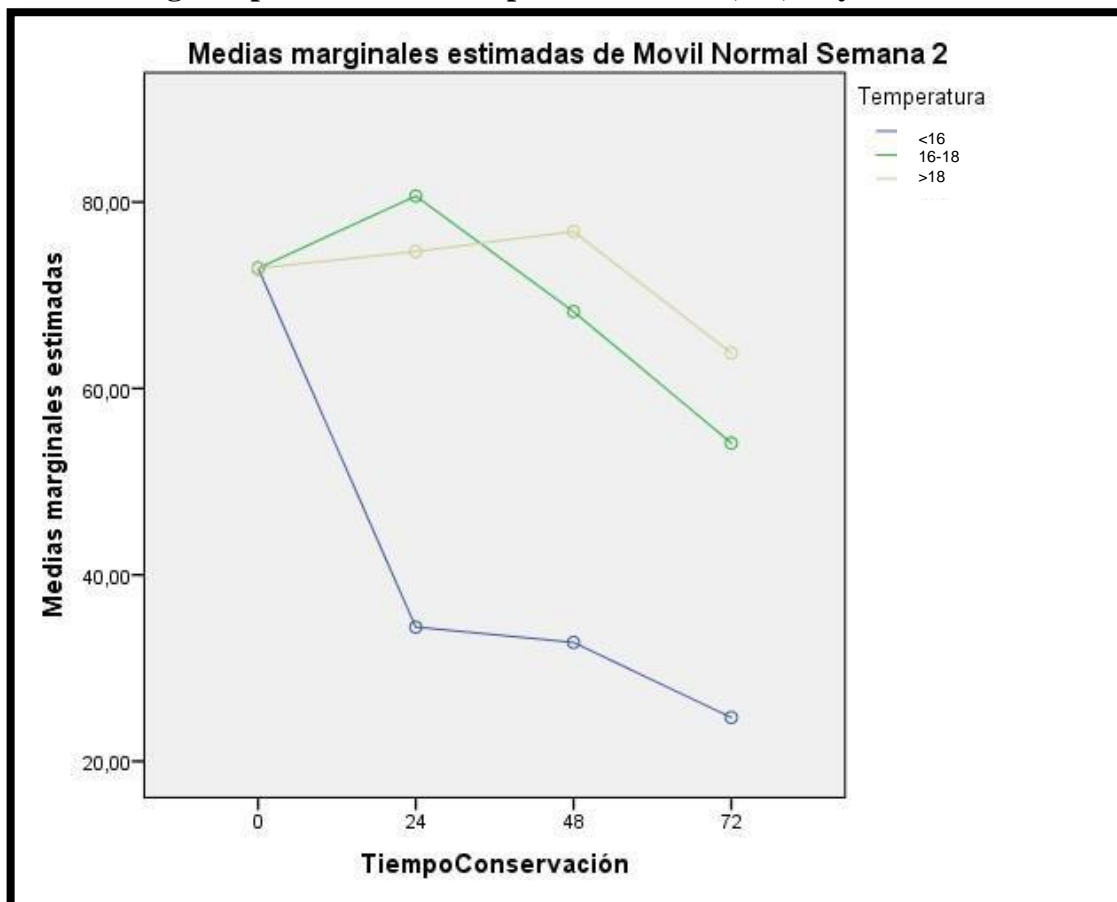
CUADRO N°. 17

Comparaciones múltiples por grupo

Temperatura	Colecta 1	Colecta 2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
<16	35.68 ^a	41.18 ^a	33.46 ^a	13.26 ^a	27.27 ^a
>18	54.30 ^b	72.06 ^b	64.77 ^b	56.01 ^b	62.58 ^b
16-18	52.02 ^b	68.98 ^b	60.48 ^b	51.33 ^b	64.86 ^b
F=	4.16	30.00	13.33	13.20	67.59
Sig.	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
Tiempo de conservación	Colecta 1	Colecta 2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
72	18.23 ^a	47.55 ^a	39.48 ^a	42.86	31.45 ^a
48	34.51 ^a	59.28 ^b	48.53 ^a	42.76	39.78 ^a
24	60.20 ^b	63.25 ^b	49.71 ^a	42.43	54.81 ^b
0	76.40 ^b	7.90 ^b	73.90 ^b	32.75	80.25 ^c
F=	20.39	8.56	7.52	0.44	52.37
Sig.	0.00	0.00	0.01	0.72	0.00

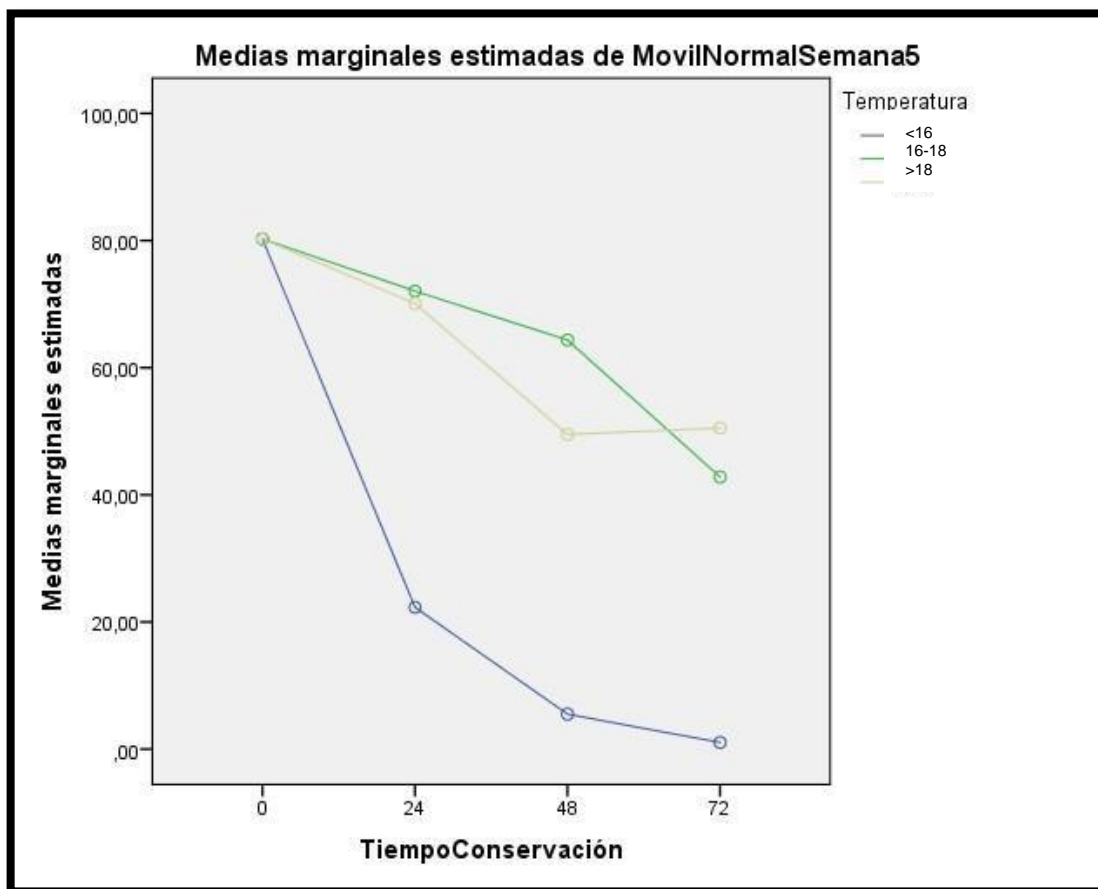
Letras iguales ttos iguales, letras diferentes ttos. diferentes a un $\alpha=0,05$.

GRÁFICO N° 8
Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo conservación del semenpreservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72



horas en la segunda Colecta

GRÁFICO N°. 9
Gráfico de interacción entre la temperatura y el
tiempo conservación del semenpreservado según
genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72
horas en la quinta Colecta



4.1.5 Gota Citoplasmática Distal

Mostramos en la Cuadro N.º. 18 los resultados obtenidos para Progresividad según genotipo y su contratación por temperatura y tiempo de conservación.

CUADRO N°18

Resultados de progresividad del semen preservado según genotipo en distintas temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas

Progresividad													
Tratamiento		T1 <16				T0 16 -18				T2 >18			
Horas		0	24	48	72	0	24	48	72	0	24	48	72
Landrace	C1	71.40	65.20	41.80	0.80	71.40	64.20	41.80	16.90	71.40	65.20	40.40	34.00
	C2	85.30	29.20	28.80	28.70	85.30	70.00	75.50	67.80	85.30	82.80	77.60	57.20
	C3	73.30	6.30	2.10	1.00	73.30	57.90	64.30	25.70	73.30	91.40	81.70	45.40
	C4	15.60	1.10	0.00	1.70	15.60	69.10	51.90	38.70	15.60	43.30	60.10	73.70
	C5	99.40	52.20	11.30	1.20	99.40	85.00	77.70	41.70	99.40	83.50	54.00	56.60
	Prom	69.00	30.80	16.80	6.68	69.00	69.24	62.24	38.16	69.00	73.24	62.76	53.38
	D.E	31.88	27.96	18.01	12.31	31.88	10.04	15.36	19.36	31.88	19.28	17.05	14.81
Large White	C1	94.7	32.70	3.70	1.50	94.7	87.40	48.90	33.60	94.7	87.40	43.90	34.90
	C2	86.80	30.60	31.90	29.80	86.80	88.40	61.00	46.60	86.80	82.30	79.50	76.20
	C3	94.10	59.20	37.10	28.70	94.10	68.70	66.40	73.90	94.10	54.90	49.80	61.30
	C4	70.70	22.10	9.00	5.90	70.70	75.00	74.70	75.40	70.70	83.70	78.20	62.80
	C5	89.90	13.50	1.30	0.70	89.90	91.40	66.00	41.20	89.90	87.40	38.60	34.70
	Prom	87.24	31.62	16.60	13.32	87.24	82.18	63.40	54.14	87.24	79.14	58.00	53.98
	D.E	9.79	17.19	16.68	14.68	9.79	9.80	9.48	19.29	9.79	13.74	19.45	18.44

Podemos observar en el cuadro N°18 que para la temperatura de semen preservado

<16 (t1) el promedio de progresividad disminuye de $69,00 \pm 31,88$ % a la hora 0 hasta $6,68 \pm 12,31$. En la temperatura óptima de preservación la disminución de progresividad fue de: $69,00 \pm 31,88$ hora 0; $69,24 \pm 10,04$ hora 24; $62,24 \pm 15,36$ hora 48; $38,16 \pm 19,36$ hora 72. Así mismo observamos que para la temperatura de preservación mayor a 18°C la progresividad a la hora 0 fue de: $69,00 \pm 31,88$ en tanto a la hora 72 la progresividad fue de $53,38 \pm 14,81$.

Para el genotipo Large White los valores observados de progresividad a la hora 0 fueron $87,24 \pm 9,79$ en los tres tratamientos observándose que a la hora 72 la progresividad $13,32 \pm 14,68$ para el T1 $54,14 \pm 19,29$ para el T0; $53,98 \pm 18,44$ en el T2.

Se observa mayor diferencia de la progresividad de la T1, la que puede deberse a la baja de temperatura del refrigerador de conservación, que por la manipulación disminuye o aumenta la temperatura interna de conservación.

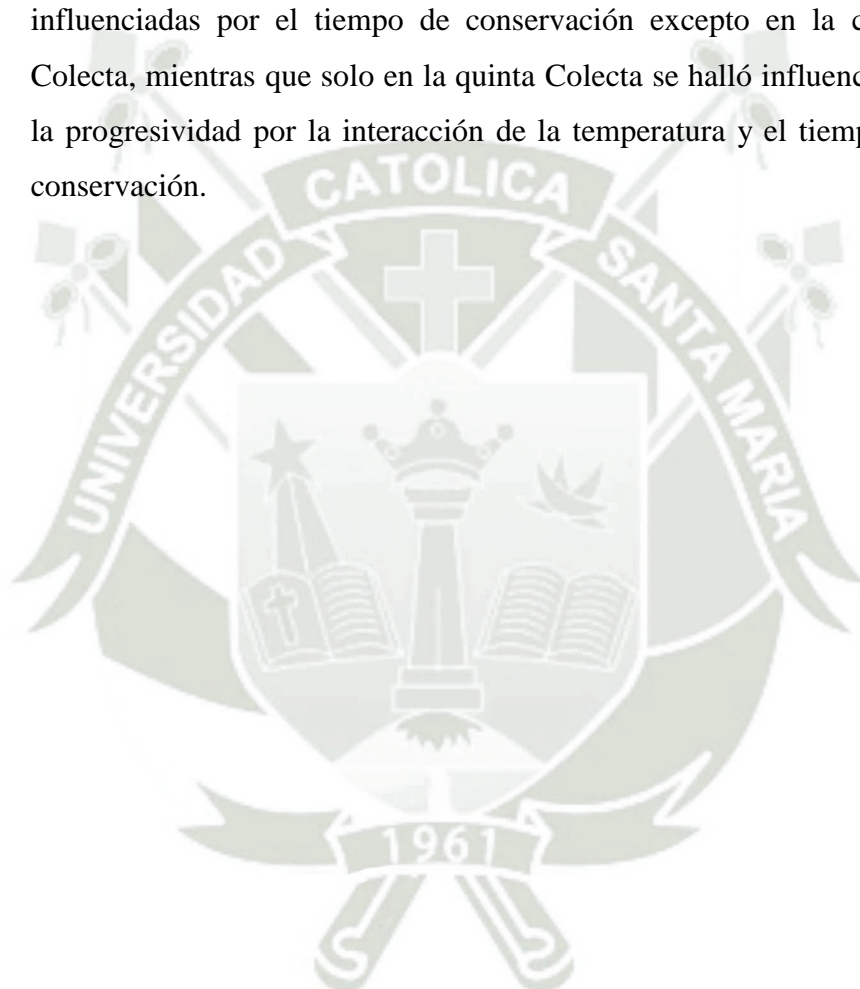
CUADRO N°. 19

Evaluación de la progresividad semen preservado según genotipo en distintas temperaturas y tiempos de conservación

Progresividad	Genotipo		Temperatura		Tiempo de conservación		Temperatura * Tiempo o Conservación	
	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.	F	Sig.
Colecta 1	0.85	0.37	4.17	0.04	21.28	0.00	0.54	0.76
Colecta 2	0.16	0.69	46.62	0.00	22.40	0.00	5.87	0.02

Colecta 3	3.87	0.07	6.28	0.02	5.72	0.01	0.75	0.62
Colecta 4	15.91	0.00	20.96	0.00	0.19	0.89	2.48	0.09
Colecta 5	7.63	0.02	50.84	0.00	68.49	0.00	6.96	0.00

Según el análisis de la varianza (cuadro N° 19) muestra que la progresividad del semense ve influenciada por la temperatura, también se observa que las evaluaciones de la progresividad se vieron influenciadas por el tiempo de conservación excepto en la cuarta Colecta, mientras que solo en la quinta Colecta se halló influencia en la progresividad por la interacción de la temperatura y el tiempo de conservación.



X. Barriga. et.al (34) en su estudio Los resultados indican que la calidad seminal en las muestras crio preservadas con LDLs son superiores ($p < 0.05$) a las criopreservadas con yema de huevo. La motilidad progresiva post-descongelado fue 48,9% y 27,5%, a los 20 minutos de incubación fue 38,2% y 19,3%; para LDL y yema de huevo, respectivamente. La conclusión, la calidad del semen criopreservado con LDL fue superior al semen criopreservado con yema de huevo (34).

CUADRO N°. 20
Comparaciones múltiples por grupo

Temperatura	Colecta 1	Colecta 2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
<16	38.97 ^a	43.88 ^a	37.72 ^a	15.76 ^a	33.68 ^a
>18	58.98 ^b	78.46 ^b	68.98 ^b	61.01 ^b	68.01 ^b
16-18	56.73 ^b	73.17 ^b	65.53 ^b	59.26 ^b	74.03 ^b
F=	4.17	46.62	6.28	20.96	50.84
Sig.	0.04	0.00	0.02	0.00	0.00
Tiempo de conservación	Colecta 1	Colecta 2	Colecta 3	Colecta 4	Colecta 5
72	20.28 ^a	51.05 ^a	39.33 ^a	43.03	29.35 ^a
48	35.91 ^a	59.71 ^b	50.23 ^a	46.15	41.48 ^a
24	67.01 ^b	63.88 ^b	56.40 ^a	49.05	68.83 ^b
0	83.05 ^b	86.05 ^c	83.70 ^b	43.15	94.65 ^c
F=	21.28	22.40	5.72	0.19	68.49
Sig.	0.00	0.00	0.01	0.89	0.00

Letras iguales ttos iguales, letras diferentes ttos. diferentes a un $\alpha = 0,05$.

Según la prueba de tukey B se muestra que la progresividad del semen preservado según genotipo en temperatura óptima y mayor a la óptima presenta mayor diferencia en el resultado con respecto a la movilidad del semen en temperatura menor a la óptima.

Por otro lado, se obtuvo que la progresividad del semen preservado según genotipo presentó mayor diferencia a las 0 horas de conservación

con respecto a las demás horas de conservación (24, 48 y 72).



GRÁFICO N° 10
Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo
conservación del semen preservado según genotipo en distintas
temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la segunda Colecta.

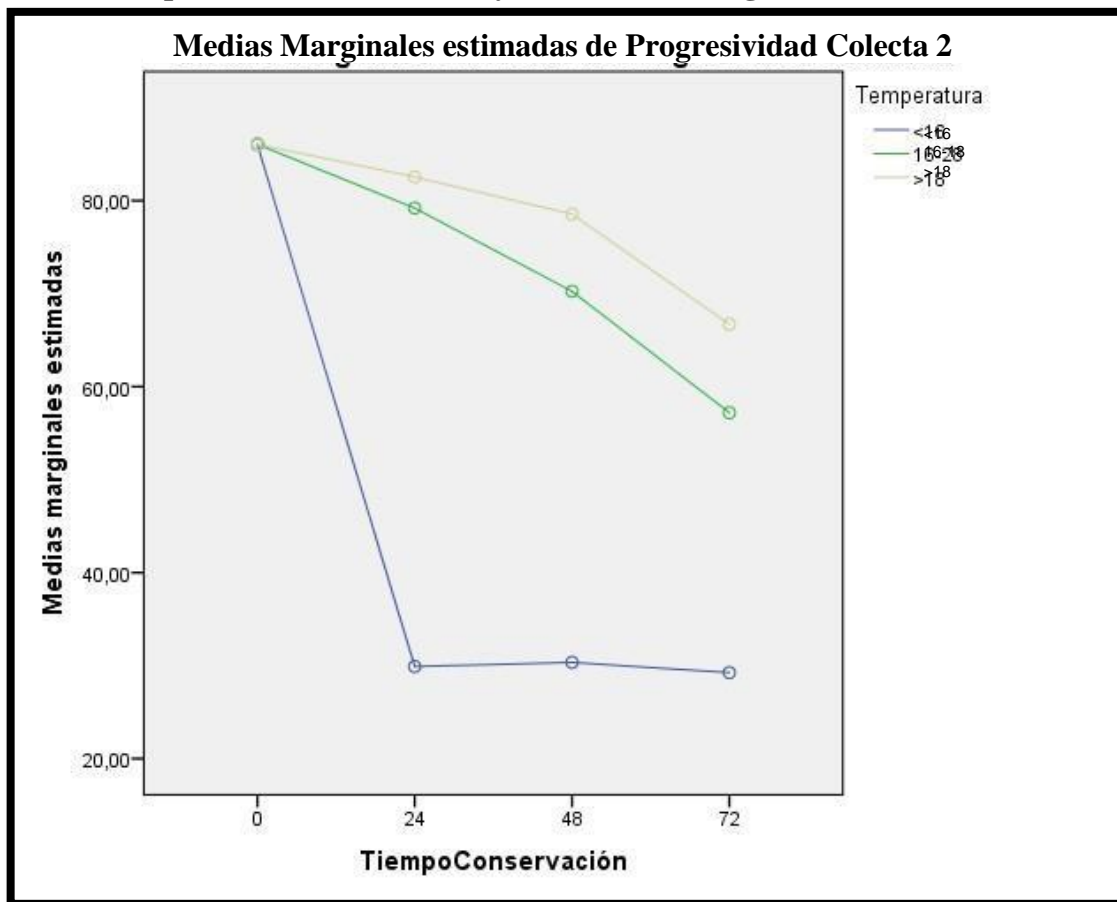
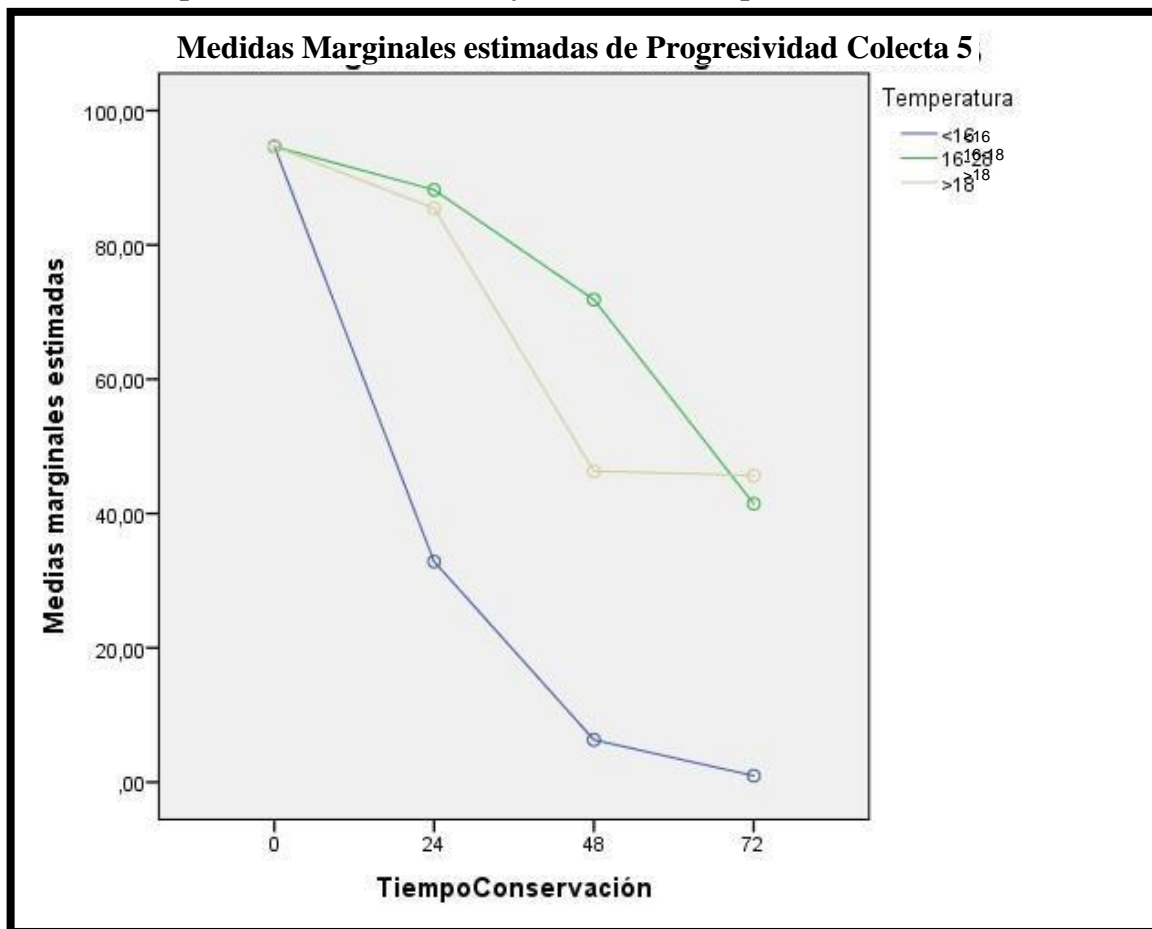


GRÁFICO N° 11
Gráfico de interacción entre la temperatura y el tiempo
conservación del semen preservado según genotipo en distintas
temperaturas a las 0, 24, 48 y 72 horas en la quinta Colecta





**CAPIT
ULO V
CONC
LUSIO
NES**



5. CONCLUSIONES

PRIMERA: No se observó diferencia estadística significativa ($p > 0,05$) en las características seminales del semen crio preservado a la evaluación de la termorresistencia mediante análisis espermático asistido por computadora (CASA) según genotipo.

SEGUNDA: Las características seminales de movilidad, morfología normal, gota citoplasmática proximal, cola plegada, y progresividad del semen se ven influenciadas significativamente ($p < 0,05$) por la temperatura menor a la óptima ($T < 16^{\circ}\text{C}$). movilidad, morfología normal, gota citoplasmática proximal, cola plegada, y progresividad del semen no se ven influenciada significativamente ($p > 0,05$) a temperatura óptima ($T 16 - 18^{\circ}\text{C}$). movilidad, morfología normal, gota citoplasmática proximal, cola plegada, y progresividad del semen se ven influenciada a temperatura mayor a la óptima.

TERCERA: Gota citoplasmática proximal de semen preservado según genotipo presentó mayor diferencia a las 0 y 72 horas de conservación.

CUARTA: La interacción de temperatura y tiempo de conservación de semen conservado afecta negativamente ($p < 0,05$) en las características seminales evaluadas mediante análisis espermático asistido por computadora.







6. RECOMENDACIONES

1. La temperatura ideal de conservación para mantener las características seminales óptimas debe ser de 16 a 18 C°.
2. No conservar la dosis para IA en un refrigerador de uso doméstico, a 4 C° por el shock térmico por la baja temperatura.
3. Las dosis seminales al salir del laboratorio, no se deben mantener conservadas más de 48 horas, o deben ser utilizadas dentro de las mismas.
4. La temperatura de almacenamiento para semen preservado en refrigeración debe ser de no menor a 12C°.
5. No se debe someter al semen preservado de porcino al shock térmico de alta y baja temperatura.

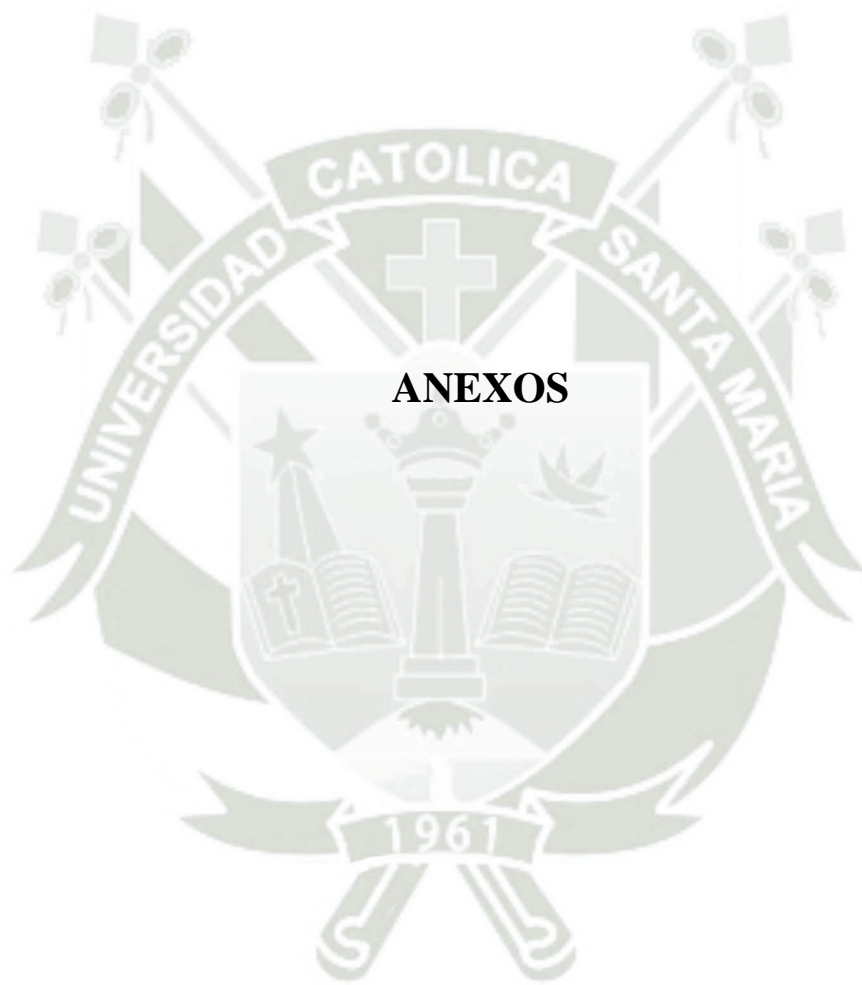


7. REFERENCIAS

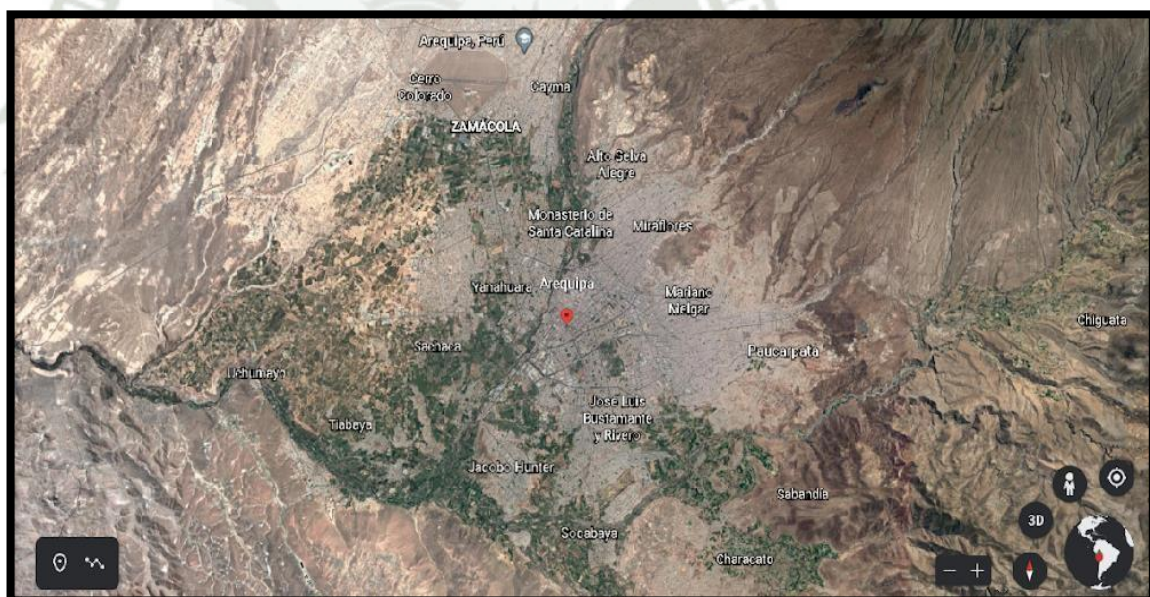
1. Flores C VLMeG. Metabolismo espermático.. Gaceta de Ciencias Veterinarias. 2015 Jul; 23(2).
2. URDIALES RG. VALORACIÓN DE LA CAPACIDAD DE CRIOPRESERVACIÓN ESPERMÁTICA DEL SEMEN PORCINO MEDIANTE TÉCNICAS DE CHOQUE FRIGORE Y TERMORESISTENCIA. TESIS. LEON, ESPAÑA: UNIVERSIDAD DE LEÓN, LEON ; 2010.
3. Valdés Cano M. Evaluación de la viabilidad de semen porcino tratado con estreptolisina O (SLO). [Tesis de Maestría en Ciencia Animal] ed. Veracruz - Mexico: Universidad Veracruzana; 2015.
4. Yáñez Quintana WF. Estudio de la selección espermática en el tracto genital de la hembra basado en la morfometría del espermatozoide porcino. [Tesis para Título Profesional] ed. Riobamba - Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2015.
5. Julca Salvador AE. Conservación de semen porcino en refrigeración, usando el dilutor con agua de coco (Cocus nucifera L.), en Tingo María. [Tesis para Título Profesional] ed. Tingo María - Perú: Universidad Nacional Agraria de la Selva; 2014.
6. Gadea J. Factores espermáticos relacionados con la fertilidad porcina in vitro e in vivo. Teriogenología. 2005 Enero; 63(2).
7. Madrid Bury N. Relación entre los métodos de valoración seminal in vitro y la fertilidad in vivo del semen descongelado de toros frisones. [Tesis Doctoral] ed. Madrid - España: Universidad Complutense de Madrid; 2003.
8. Mestre C, Sánchez J, Salgado S. Morfología del esperma: espermatozoides normales y anormales. [Online].; 2018 [cited 2020 Diciembre 21. Available from: <https://www.reproduccionasistida.org/analisis-de-la-morfologia-de-los-espermatozoides/>.
9. Roseto A, Repetto H, Exeni R. Las membranas celulares. Los canales iónicos y nefrología molecular. Medicina molecular. 2003; 101(4).
10. González D. Evaluación de los parámetros morfométricos de los espermatozoides como herramienta para determinar la calidad seminal de machos porcinos. Facultad de Ciencias Veterinarias ed.: Universidad del Zulia ; 2008.
11. Johnson L, Weitze KF, Fiser P, Maxwell WMC. Almacenamiento de semen de jabalí. Anim Reprod Ciencia. 2000 Agosto; 62(1-3).
12. Erenpreiss J, Spano M, Erenpreisa J, Bungum M, Giwercman A. Estructura de la cromatina espermática y fertilidad masculina: aspectos biológicos y clínicos. Asiático j androl. 2006 Enero; 8(1).
13. Irvine DS, Twigg JP, Gordon EL, Fulton N, Milne PA, Aitken RJ. Integridad del ADN en espermatozoides humanos: relaciones con la calidad del semen. J Androl. 2000 Enero-Febrero; 21(1).
14. Álvarez Lleó C. Análisis integrado de morfología y movilidad espermática humana con el uso del sperm class analyzer. [Tesis Doctoral] ed. Valencia - España: Universidad de Valencia; 2003.

15. Januskauskas A, Johannisson A, Söderquist L, Rodríguez Martínez H. Evaluación de las características de los espermatozoides después de la descongelación y la respuesta al ionóforo de calcio en relación con la fertilidad en toros lecheros con IA. *Teriogenología*. 2000 Marzo; 53(4).
16. Rodríguez Martínez H. Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencia Animal. [Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencia Animal] ed. Uppsala - Suecia: Universidad Sueca de Ciencias Agrícolas.
17. Rodríguez Martínez H. Evaluación del Semen Congelado: Métodos Tradicionales y de Actualidad Chenoweth PJ, editor.: Servicio Internacional de Información Veterinaria; 2000.
18. Almaguer Pérez Y, Font Puente H, Rosell Pardo R, Quirino C, Montes Torres I. Evaluación de la calidad seminal en sementales porcinos en un Centro de Inseminación Artificial. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*. 2015; 16(5).
19. Torrentes R, Torrez K, López J, Guevara L. Manual de Inseminación Artificial Porcina Managua - Nicaragua: Universidad Nacional Agraria.
20. Mejía Gutiérrez JE. Evaluación pre y post congelación del semen obtenido con vagina artificial y electroeyaculador en el ganado criollo. [Tesis de Maestría en Reproducción Animal] ed. Cuenca - Ecuador: Universidad de Cuenca; 2017.
21. Velásquez Vergara C. Factores que influyen en la calidad y principales características seminales del verraco Huacho - Perú: Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión [Repositorio Digital].
22. acromax & Razas Porcinas. Factores que influyen sobre la producción espermática de los verracos. [Online]. [cited 2020 Diciembre 21. Available from: <https://razasporcinas.com/factores-que-influyen-sobre-la-produccion-espermatca-de-los-verracos/>].
23. Hafez BHyESE. Reproduccion e inseminacion artificial en animales USA; 2000.
24. Pruneda A, Yeung CH, Bonet S, Pinart E, Cooper T. Concentraciones de carnitina, glutamato y mioinositol en líquido epididimario y espermatozoides de verracos. *Anim Reprod Ciencia*. 2007 Febrero; 97(3-4).
25. Anchatuña Quinga CA. Efecto de distintos tiempos de equilibrio sobre la calidad espermatica pre y post-congelación de semen bovino de toros reproductores Holtein Friesian. [Tesis para Título Profesional] ed. Quito - Ecuador: Universidad Central del Ecuador; 2017.
26. Barragán Barragán IF. Evaluación del efecto crioprotector de diferentes fuentes de antioxidantes en el semen bovino. [Tesis para Título Profesional] ed. Riobamba – Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2017.
27. Valverde A, Madrigal M. Sistemas de análisis computadorizado de semen en la reproducción animal. *Agron. Mesoam*. 2018 Mayo-Agosto; 29(2).
28. Cuadrado F, Cubero M, Gómez C. ¿Qué es el sistema CASA? [Online].; 2012 [cited 2020 Diciembre 27. Available from: <https://invitrosperm.blogspot.com/2012/01/que-es-el-sistema-casa.html>].

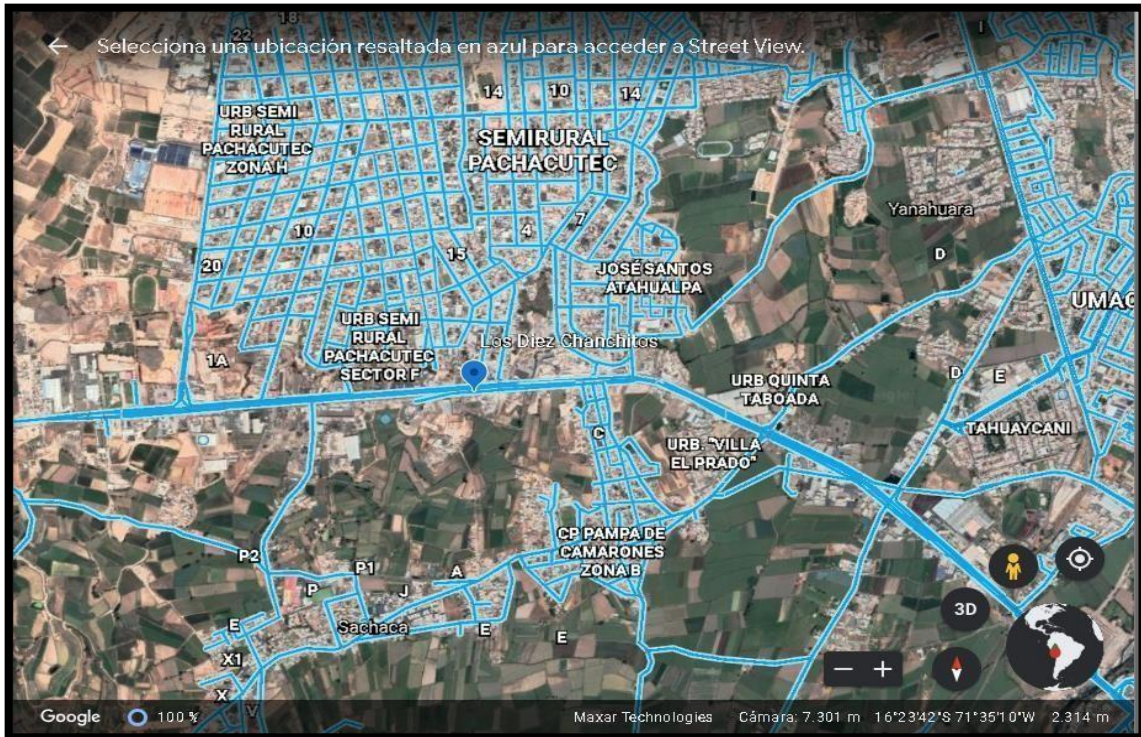
29. MariaIwanina SKKG. Impacto de la concentración de espermatozoides en la morfología de los espermatozoides de grandes verracos blancos y autóctonos. *Livestock Science*. 2020 Noviembre; 241(104214).
30. AACP. Asociación Argentina Cabañeros de Porcinos. SITIO ARGENTINO DE PRODUCCION ANIMAL. 2007.
31. Barriga Marcapura XJ. Evaluación de Crioprotectores no Penetrantes: Proteínas de. 2018..
32. Arturo RAJ. COMPARACIÓN DEL EFECTO DE DOS CRIOPRESERVANTES PENETRANTES. 2018..
33. Quispe Pari GN. EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CALIDAD SEMINAL Y. 2018..
34. X. Barriga1 JRSH2VP2FF2JR2. EVALUACION DE LIPOPROTEINAS DE BAJA DENSIDAD Y YEMA DE HUEVO COMO CRIOPROTECTORES NO PENETRANTES EN SEMEN DE CABALLO PERUANO DE PASO. SPERMOVA. 2019.
35. N. den Daas. Laboratory assessment of semen characteristics. *Animal Reproduction Science*. 1992 july; Volume 28, Issues 1–4.
36. M. L. W. J. Broekhuijse EŠHFBMG. Application of computer-assisted semen analysis to explain variations in pig fertility. *Journal of Animal Science*. 2012 March; Volume 90(Issue 3).
37. Google. Google earth. [Online].; 2021 [cited 2021 Abril 27. Available from: <https://www.google.com/intl/es-419/earth/>.
38. Vallvè. JdM. CASA, análisis de semen automatizado: aplicabilidad. Artículo. Valencia: Sociedad Española de Medicina de Laboratorio, Valencia; 2016-2017.
39. Vallvè JdM. CASA, análisis de semen automatizado: aplicabilidad. 2017; 32.
40. jinzhaoperu. BCRP. [Online]. Available from: <https://www.bcrp.gob.pe/docs/Sucursales/Arequipa/Arequipa-Characterizacion.pdf>.
41. Velarde A, Madrigal-Valverde M. Sistemas de análisis computadorizado de semen en la reproducción animal. <http://www.revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso>. 2018 Mayo-agosto,; 29(469-484).
42. Domingo P. Preservación espermática en la especie cunícola. Estudio de nuevas tecnologías. ZARAGOZA: Universidad de Zaragoza , ESPAÑA; 2019.
43. Wilfredo Huanca LCS,DBG. Efecto de la Manipulación de la Temperatura Escrotal sobre las. *Rev Inv Vet Perú*. 2015 Apr; 26(604613).



A
n
e
x
o
1
U
b
i
c
a
c
i
ó
n



Fuente: (37)google earth



Fuente: (37)google earth



An
exo 2
Secuenci
a
fotográfic
a



Foto N° 01:
Recepción del
semen en el
laboratorio



Foto N° 02: Dilución del
semen en viales para
evaluación en el sistema
CASA



Foto N° 03:
Microscopio del
sistema de
análisis
espermático
asistido por
computadora
CASA

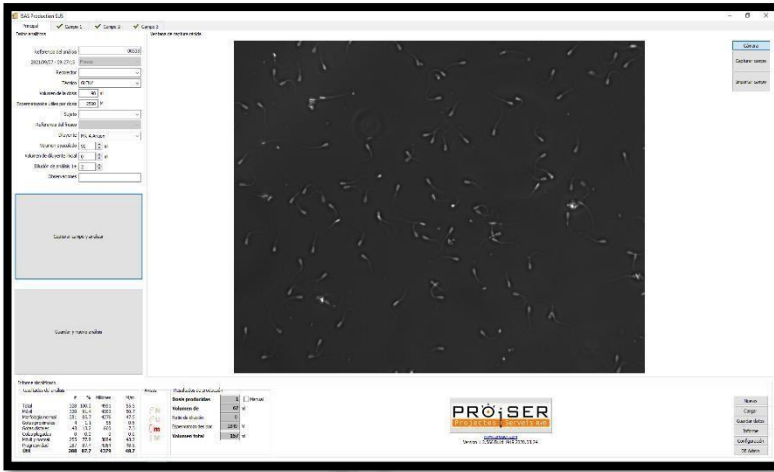


Foto N° 04:
Análisis del
sistemaCASA

Foto N° 05:
Identificación de
espermatozoides por el
sistema CASA

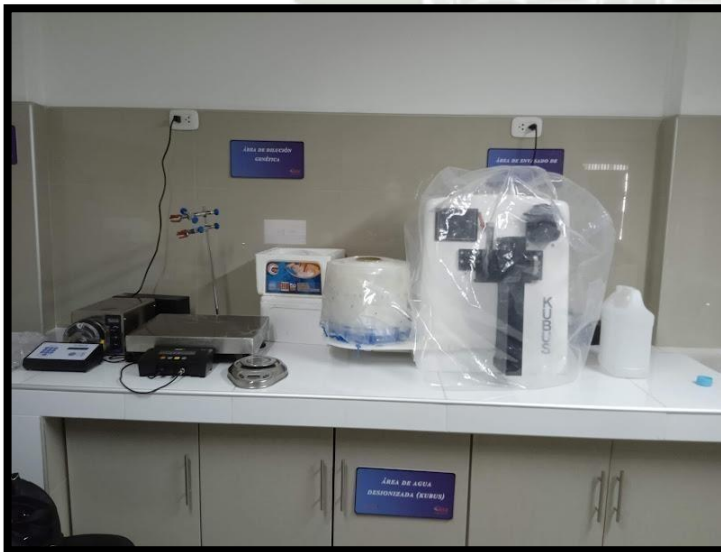
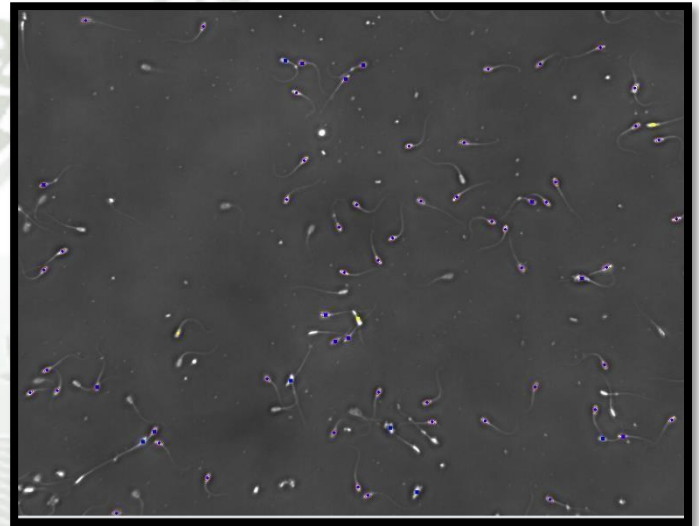


Foto N° 06:
Preparación de
losSachets

Foto N° 07: Conservación de sachets a diferentes temperaturas $T > 18^{\circ}\text{C}$



Foto N° 08: Conservación de sachets a diferentes temperaturas T 16-18C°



Foto N° 09: Conservación de sachets a diferentes temperaturas $T < 16^{\circ}\text{C}$



Anexo 3

Informe de resultado de análisis espermático

Informe por defecto para ISAS pSus

Datos generales

Referencia	00364	Fecha	2021/11/08 -
Operador	GLENY	Estado	09:44:35
Colector	LUCERO	Ref. Fresco	Fresh
Sujeto	LL-225		
Diluyente	MR-A Antiox		

Datos análisis

Volumen eyaculado	230
Vol. diluyente inicial	100
Dilución de análisis 1+	4

Resultado análisis

	#	%	Millones	M/ml
Total	346	100,00	48338,00	146,48
Móvil	287	82,90	40070,00	121,43
Normal	289	83,57	40393,00	122,41
Móvil y normal	240	69,25	33473,00	101,43
Progresividad	254	73,38	35472,00	107,49
Útil	285	82,20	39734,00	120,41
Gotas proximales	2	0,82	397,00	1,20
Gotas distales	54	15,61	7546,00	22,87
Colas plegadas	0	0,00	0,00	0,00

Producción

Volumen de la dosis	90	Volumen diluyente	1100
Dosis producidas	23	Esper. Por dosis	3041
Dilución 1+	3	Esper. Útiles por dosis	2500

