



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA ZOOTECNIA**

**“VALORACIÓN ESPERMÁTICA DE SEMEN BOVINO  
CRIOPRESERVADO CON TRES CURVAS DE TEMPERATURA  
EN LA HACIENDA LA VICTORIA DEL CANTÓN BUCAY”**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentando para optar al grado académico de:

**INGENIERO ZOOTECNISTA**

**AUTOR:**

**WALTER CRISTHIAN CASTRO CARRASCO**

Riobamba-Ecuador

2022



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA ZOOTECNIA**

**“VALORACIÓN ESPERMÁTICA DE SEMEN BOVINO  
CRIOPRESERVADO CON TRES CURVAS DE TEMPERATURA  
EN LA HACIENDA LA VICTORIA DEL CANTÓN BUCAY”**

**Trabajo de Titulación**

**Tipo:** Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERO ZOOTECNISTA**

**AUTOR:** WALTER CRISTHIAN CASTRO CARRASCO

**DIRECTOR:** Ing. EDGAR WASHINGTON HERNÁNDEZ CEVALLOS MGs.

Riobamba – Ecuador

2022

© 2022, **Walter Cristhian Castro Carrasco**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, WALTER CRISTHIAN CASTRO CARRASCO, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos y originales. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad académica y legal de los contenidos de este Trabajo de Titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 12 de Mayo del 2022

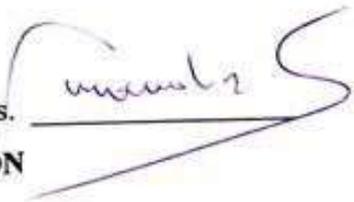


**Walter Cristhian Castro Carrasco**

140087028-1

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA ZOOTECNIA**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación: Tipo: Trabajo Experimental, **“VALORACIÓN ESPERMÁTICA DE SEMEN BOVINO CRIOPRESERVADO CON TRES CURVAS DE TEMPERATURA EN LA HACIENDA LA VICTORIA DEL CANTÓN BUCAY”**, realizado por el señor: **WALTER CRISTHIAN CASTRO CARRASCO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Pablo Rigoberto Andino Nájera MGs. <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2022-05-12
Ing. Edgar Washington Hernández Cevallos MGs. <b>DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN</b>		2022-05-12
Ing. Carlos Andrés Mancheno Herrera MSc. <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>		2022-05-12

## **DEDICATORIA**

El presente trabajo se lo dedico a mis padres Gonzalo Castro y Anita Carrasco, a mis abuelitos, a mis hermanas Diana, Alba, Brigitte, Paola y Erika, a mis sobrino/as Milagros, Aitana y Eithan a mi tía y primos, por ser el apoyo incondicional a lo largo de este camino en mi vida académica que gracias a ellos he logrado este escalón importante en mi vida para llegar a ser una gran profesional. A mi persona especial Lesly Zambrano por ser mi compañera, mi confidente y consejera en cada decisión tomada, por estar presente en cada paso durante todo este tiempo, su amor y su lealtad para poder culminar esta etapa de mi vida.

*Cristhian*

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, por permitirme levantarme cada día de mi vida y guiarme por un buen camino, por la salud y sabiduría que ha puesto en mí para no cesar en mis acciones. A toda mi familia en especial a mis padres Gonzalo y Anita que me brindaron sus consejos, amor y visión para poder cumplir esta meta importante en mi vida, sin dejar en tela de duda mis capacidades y conocimientos. A los profesionales que me ayudaron a concretar este trabajo de investigación al Ing. Edgar Hernández e Ing. Andrés Mancheno. Al señor Lorens Olsen Pons por abrirme las puertas de su hacienda donde pude realizar mi trabajo de investigación. Gracias Dios, familia y amigos.

*Cristhian*

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xii
RESUMEN .....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN .....	1

### CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL .....	4
1.1. Raza bovina cebú.....	4
1.1.1. <i>Características del ganado cebú</i> .....	4
1.1.2. <i>Manejo de sementales bovinos</i> .....	5
1.2. Sistema reproductivo masculino del toro.....	5
1.2.1. <i>Testículos</i> .....	5
1.2.2. <i>Escroto</i> .....	6
1.2.3. <i>Epidídimo</i> .....	6
1.2.4. <i>Conducto deferente</i> .....	7
1.2.5. <i>Uretra</i> .....	7
1.2.6. <i>Pene</i> .....	7
1.2.7. <i>Glándulas accesorias</i> .....	7
1.3. Espermatogénesis .....	8
1.3.1. <i>Espermatocitogenesis</i> .....	8
1.3.2. <i>Meiosis</i> .....	9
1.3.3. <i>Espermiogenesis</i> .....	9
1.4. Morfología del espermatozoide .....	10
1.5. Métodos de recolección de semen.....	11
1.5.1. <i>Vagina artificial</i> .....	11
1.5.2. <i>Electroeyaculación</i> .....	12
1.6. Criopreservación del semen.....	12
1.7. Curvas de temperatura .....	13
1.8. Diluyente de semen bovino .....	14

<b>1.9.</b>	<b>Proceso de evaluación del eyaculado bovino .....</b>	<b>15</b>
<b>1.9.1.</b>	<b><i>Pruebas macroscópicas .....</i></b>	<b>15</b>
<b>1.9.1.1.</b>	<i>Volumen .....</i>	15
<b>1.9.1.2.</b>	<i>Color .....</i>	16
<b>1.9.1.3.</b>	<i>pH.....</i>	16
<b>1.9.1.4.</b>	<i>Olor.....</i>	16
<b>1.9.2.</b>	<b><i>Pruebas microscópicas .....</i></b>	<b>16</b>
<b>1.9.2.1.</b>	<i>Motilidad masal .....</i>	17
<b>1.9.2.2.</b>	<i>Motilidad individual progresiva .....</i>	17
<b>1.9.2.3.</b>	<i>Viabilidad espermática.....</i>	18
<b>1.9.2.4.</b>	<i>Concentración espermática.....</i>	18
<b>1.9.2.5.</b>	<i>Morfología espermática .....</i>	18
<b>1.10.</b>	<b>Trastornos reproductivos en toros .....</b>	<b>19</b>
<b>1.10.1.</b>	<i>Diarrea viral bovina (DVB).....</i>	19
<b>1.10.2.</b>	<i>Leptospirosis .....</i>	20
<b>1.10.3.</b>	<i>Tricomoniasis bovina .....</i>	20
<b>1.10.4.</b>	<i>Rinotraqueitis infecciosa Bovina (IBR).....</i>	20

## CAPÍTULO II

<b>2.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>21</b>
<b>2.1.</b>	<b>Localización y duración del experimento .....</b>	<b>21</b>
<b>2.2.</b>	<b>Unidades experimentales .....</b>	<b>21</b>
<b>2.3.</b>	<b>Materiales, Equipos e Insumos.....</b>	<b>21</b>
<b>2.3.1.</b>	<i>Equipos .....</i>	21
<b>2.3.2.</b>	<i>Materiales de campo.....</i>	22
<b>2.3.3.</b>	<i>Materiales de laboratorio .....</i>	22
<b>2.3.4.</b>	<i>Insumos .....</i>	22
<b>2.4.</b>	<b>Tratamientos y diseño experimental .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5.</b>	<b>Mediciones experimentales .....</b>	<b>23</b>
<b>2.5.1.</b>	<i>Evaluación macroscópica pre congelación.....</i>	23
<b>2.5.2.</b>	<i>Evaluación microscópica post congelación .....</i>	23
<b>2.6.</b>	<b>Análisis estadístico y pruebas de significancia .....</b>	<b>24</b>
<b>2.7.</b>	<b>Procedimiento experimental .....</b>	<b>24</b>
<b>2.7.1.</b>	<i>Selección, preparación y colecta del semen .....</i>	24
<b>2.8.</b>	<b>Metodología de evaluación.....</b>	<b>24</b>

2.8.1.	Evaluación macroscópica pre congelación.....	24
2.8.2.	Evaluación microscópica post congelación .....	25
2.8.2.1.	Concentración espermática .....	25
2.8.2.2.	Motilidad masal.....	25
2.8.2.3.	Motilidad individual progresiva .....	26
2.8.2.4.	Viabilidad espermática .....	27
2.8.2.5.	Daño en el paquete de ADN del espermatozoide (cromatina) .....	27
2.8.2.6.	Morfoanomalías.....	27

### CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
3.1.	Valoración espermática de semen bovino pre congelación de los toros de la Hacienda La Victoria del cantón Bucay .....	29
3.1.1.	<i>Volumen (ml)</i> .....	29
3.1.2.	<i>Color</i> .....	30
3.1.3.	<i>Olor</i> .....	30
3.1.4.	<i>pH</i> .....	31
3.1.5.	<i>Morfoanomalías (%)</i> .....	32
3.2.	Valoración espermática de semen bovino criopreservado con tres curvas de temperatura en la hacienda la victoria del cantón Bucay .....	32
3.2.1.	<i>Motilidad individual progresiva (%)</i> .....	32
3.2.2.	<i>Viabilidad espermática (%)</i> .....	34
3.2.3.	<i>Daño en el paquete de ADN del espermatozoide (cromatina) (%)</i> .....	36
3.2.4.	<i>Morfoanomalías (%)</i> .....	37
3.2.5.	<i>Motilidad masal (%)</i> .....	39
3.2.6.	<i>Concentración espermática, (spz/ml)</i> .....	41
3.3.	Análisis económico .....	42

CONCLUSIÓN .....	44
------------------	----

RECOMENDACIONES.....	45
----------------------	----

### BIBLIOGRAFÍA

### ANEXOS

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Grado de movilidad masal .....	17
<b>Tabla 1-2:</b>	Condiciones climáticas de la zona en la hacienda La Victoria .....	21
<b>Tabla 2-2:</b>	Esquema del experimento .....	23
<b>Tabla 3-2:</b>	Esquema del ADEVA.....	24
<b>Tabla 4-2:</b>	Escala para evaluar la concentración espermática.....	25
<b>Tabla 5-2:</b>	Valoración de la Motilidad Individual Progresiva según la Sociedad Americana de Therigenología.....	26
<b>Tabla 1-3:</b>	Valoración espermática de semen bovino pre congelación de los toros de la Hacienda La Victoria del cantón Bucay.....	29
<b>Tabla 2-3:</b>	Valoración espermática de semen bovino crio preservado con tres curvas de temperatura en la hacienda la Victoria del cantón Bucay.....	33
<b>Tabla 3-3:</b>	Costos de criopreservación del semen bovino.....	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Diagrama de la espermatogénesis .....	10
--	----

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-3:</b> Comportamiento de la Motilidad individual progresiva del semen criopreservado .....	33
<b>Gráfico 2-3:</b> Comportamiento de la viabilidad espermática del semen bovino criopreservado .....	35
<b>Gráfico 3-3:</b> Comportamiento del daño en el paquete de ADN del espermatozoide (cromatina) .....	36
<b>Gráfico 4-3:</b> Comportamiento del porcentaje de morfoanomalías del espermatozoide.....	38
<b>Gráfico 5-3:</b> Comportamiento del porcentaje de motilidad masal del espermatozoide .....	39
<b>Gráfico 6-3:</b> Comportamiento de la concentración espermática .....	41

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

**ANEXO A:** MOTILIDAD INDIVIDUAL PROGRESIVA

**ANEXO B:** VIABILIDAD ESPERMÁTICA

**ANEXO C:** DAÑO EN EL PAQUETE DE ADN DEL ESPERMATOZOIDE (CROMATINA)  
POST CONGELACIÓN

**ANEXO D:** MORFOANOMALIAS DEL SEMEN POST CONGELACIÓN

**ANEXO E:** MOTILIDAD MASAL DEL SEMEN POST CONGELACIÓN

**ANEXO F:** CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA DEL SEMEN POST CONGELACIÓN

**ANEXO G:** ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL VOLUMEN DEL EYACULADO

**ANEXO H:** ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL PH DEL EYACULADO

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo, valorar la calidad espermática de semen bovino criopreservado con tres curvas de temperatura en la Hacienda La Victoria del cantón Bucay, se aplicó un diseño completamente al azar con tres tratamientos correspondientes a las curvas de congelación y 5 repeticiones por cada tratamiento, se obtuvo un total de 15 pajuelas evaluadas, para el trabajo de campo se realizó la colecta de semen con ayuda de un electroeyaculador, para medir variables precongelación espermática como son: edad y peso del toro, volumen, color, olor y pH del eyaculado y las morfoanomalías y medir las variables postcongelación que son: motilidad masal, motilidad individual progresiva, concentración espermática, viabilidad espermática y la integridad de la cromatina del espermatozoides. Para las variables como volumen de eyaculado y pH del eyaculado se utilizó la estadística descriptiva (media y desviación estándar). Para el resto de las variables se realizó un análisis de la varianza de ADEVA separación de medias a través de la prueba de Tukey con un nivel de significancia de  $p < 0.01$ . Los resultados obtenidos determinaron que la viabilidad espermática, como la motilidad individual progresiva se obtienen al utilizar una curva de temperatura en el agua de criopreservación de  $3,8^{\circ}\text{C}$ , mientras que la mayor motilidad masal y a menor cantidad de espermatozoides con morfoanomalías se obtuvo al aplicar una temperatura más elevada de  $4,2^{\circ}\text{C}$ . En cuanto al costo de la tecnología aplicada se observó que la inversión total del experimento fue de 147,63 USD. Se concluye que la evaluación de la calidad del semen bovino permite identificar y eliminar aquellos animales que puedan presentar problemas de infertilidad y seleccionar los mejores bovinos para los programas reproductivos, por lo tanto, se recomienda realizar futuras investigaciones, sobre criopreservación.

**Palabras clave:** <CALIDAD ESPERMÁTICA>, <CRIOPRESERVACIÓN >, <PAJILLAS>, <ELECTROEYACULADOR>, <PRECONGELACIÓN ESPERMÁTICA>, <MORFOANOMALÍAS>, <POSTCONGELACIÓN>.

#1221-UPT-DBRA-2022

 **D.B.R.A.**  
*Ing. Cristóbal Castillo*



## ABSTRACT

The present research aimed to evaluate the sperm quality of cryopreserved bovine semen with three temperature curves in La Victoria Farm of Bucay Canton. A completely random design was applied with three treatments corresponding to the freezing curves and 5 repetitions for each treatment, obtaining a total of 15 straws evaluated. For the field work, semen collection was carried out with the help of an electroejaculator, to measure sperm pre-freezing variables such as: age and weight of the bull, volume, color, odor and pH of the ejaculate and morphoanomalies and measure the post freezing variables that are: masal motility, progressive individual motility, sperm concentration, sperm viability and the integrity of the sperm chromatin. For variables such as ejaculate volume and ejaculate pH, descriptive statistics (mean and standard deviation) were used. For the rest of the variables, an analysis of the variance of ADEVA Separation of means was performed through the Tukey test with a significance level of  $p < 0.01$ . The results obtained determined that sperm viability, such as progressive individual motility are obtained by using a temperature curve in cryopreservation water of  $3.8^{\circ}\text{C}$  while the higher masal motility and the lowest number of spermatozoa with morphoanomalies are obtained by applying a higher temperature of  $4.2^{\circ}\text{C}$ . As for the economic analysis, it was observed that the total cost of the experiment was 147.63 USD. It is concluded that the evaluation of the quality of bovine semen allows to identify and eliminate those animals that may present infertility problems and to select the best cattle for reproductive programs. It is recommended to carry out future research on cryopreservation.

**KEYWORDS:** <SPERMATIC QUALITY>, <CRYOPRESERVATION >, <PAJILLAS>, <ELECTROEJACULATOR>, <PRE FREEZING SPERMATIC>, <MORPHOANOMALIES>, <BOVINE SEMEN >, <POST FREEZING>

  
Deysi Lucía Domínguez Tixi  
060296022-1

## INTRODUCCIÓN

Comprender el estado reproductivo de los sementales de cada ganadería es el punto básico de la fertilidad para el hato. Para entender con qué frecuencia se debe hacer un diagnóstico en cada lote, en general, el problema genético que enfrenta el criador o productor comercial es: seleccionar toros que al ser apareados con sus vientres produzcan progenies superiores a aquellas corrientemente producidas (Acevedo, 2020, p.10).

La definición de "superior" constituye la dirección de su programa genético. La selección, es decir la elección de padres, es la principal herramienta que poseen los criadores y productores comerciales para conseguir mejoras dentro de sus rodeos. Consecuentemente, la evaluación objetiva de los reproductores y la posterior selección de los mismos es uno de los pilares básicos para lograr los objetivos de cualquier programa genético (Gómez, 2019, p.14).

El conocimiento de la fertilidad o también de la capacidad fecundante de cada uno de los bovinos es el principal objetivo en la producción de semen, un requisito indispensable para el desarrollo de la inseminación artificial se considera que es el conocimiento de la calidad del semen que se está utilizando, especialmente que mantenga su capacidad de fertilidad después de haber sido criopreservado, entre las biotecnologías aplicadas a la reproducción la inseminación artificial ha mostrado ser la herramienta que más éxito ha tenido para la mejora genética de los bovinos como de animales de importancia zootécnica, de una cuidadosa valoración de la fertilidad dependerá la utilización futura del material seminal y el grado que tenga de aprovechamiento de los eyaculados (Ballina, 2020, p.12).

La criopreservación se refiere al mantenimiento de la vida en función a conservar la calidad genética de semen en bajas temperatura, la criobiología describe a comprender los efectos de las bajas temperaturas en las líneas celulares, ya que el tiempo biológico es el resultado de ciertas reacciones bioquímicas y el frío prolonga el tiempo del conocimiento al retrasar estas reacciones, además involucra suspensión del semen en diluyentes con crioprotectores, ésta técnica permite su almacenamiento de manera indefinida en nitrógeno líquido permitiendo la creación de un banco de genes, para posterior tener una mejor facilidad en el manejo (Acevedo, 2020, p.17).

Ninguna prueba de espermatozoides in vitro está fuertemente correlacionada con la fertilidad, por lo que se debe desarrollar un procedimiento de control de calidad para estudiar tantas características de espermatozoides como sea posible, con la finalidad de conocer defectos compensables y no compensables. Las técnicas de rutina que se han empleado en la actualidad han mejorado con la incorporación

de programas de Asistencia Computarizada de Análisis de Semen que por sus siglas en inglés se denomina CASA (Fischman, 2019, p.5).

La criopreservación mata los espermatozoides y provoca cambios fisiológicos que perjudican la fertilidad, por lo que esta técnica debe aplicarse de diversas formas para mejorar los protocolos para mantener la integridad de los espermatozoides. Actualmente la criopreservación es uno de los métodos más eficientes que se tiene para almacenar el material genético de la mayoría de las especies, como también para obtener de esta manera una seguridad sanitaria y minimizar el riesgo de brotes de enfermedades que afectan de manera negativa sobre la calidad del espermatozoide (Barrios, 2020, p.20).

Sin embargo, es necesario comprender todos los aspectos relacionados a esta técnica reproductiva y los efectos que se producen durante la vida en la congelación, del semen puesto que depende mucho de sus características la posibilidad de que se congele sin pérdida de la viabilidad espermática por lo tanto es necesario conocer todas las técnicas que surgen para poder mantener la fertilidad de los espermatozoides sobre todo los mecanismos de crio preservación, que mantengan al espermatozoide completo y con su motilidad muy activa (Stornelli, 2020, p.21).

Esta investigación tiene por objetivo evaluar la calidad espermática de semen bovino crio preservado con tres curvas de temperatura en la Hacienda La Victoria, la importancia de esta indagación es conservar la genética de un reproductor de alta aptitud genotípica para mejorar y almacenar sus espermatozoides por un largo tiempo, guardando así su descendencia por varios años, en la presente averiguación se tomara en cuenta las curvas de congelación a la que se conserve el semen, de acuerdo a las condiciones meteorológicas en donde se encuentra el hato ganadero, consiguiendo así tener una eficiencia del semen en el momento de realizar una inseminación artificial (Barth, 2019, p.10).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo General**

- Valorar la calidad espermática de semen bovino crio preservado con tres curvas de temperatura en la Hacienda La Victoria del cantón Bucay.

### **Objetivos Específicos**

- Determinar la calidad espermática pre y post congelación de semen bovino de un reproductor de la hacienda la Victoria.
- Evaluar la eficiencia de las tres curvas de congelación para criopreservar semen bovino.
- Establecer los costos de la tecnología aplicada en la crio preservación de semen bovino para la Hacienda la Victoria.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1. Raza bovina cebú

A partir de 1848, el ganado cebú comenzó a introducirse en los Estados Unidos, primero de la India, luego de Brasil y algunos de Sudáfrica. Se importaron Nelore, Guzerá, Gyr y varias otras razas. Todas estas razas se combinaron con el nombre común Brahmán, que luego fue adoptado oficialmente por el Ministerio de Agricultura. Los registros abiertos también permiten el ingreso de animales de sangre británica, atendidos permanentemente por toros importados, y de al menos 15/16 líneas de cebú, inicialmente prevaleció la línea Guzerá, pero luego la línea Nelore se hizo más grande (Espinoza, 2020, p.1).

Los registros genealógicos en los Estados Unidos están siempre abiertos y constantemente se agregan nuevos linajes, incluidos Gyr e Indubrasil. Esto explica que en Estados Unidos solo existe la raza Brahmán, y Brahmán y Cebú son sinónimos, aunque hay chozas que anuncian sus linajes Guzerá o Gyr o Indubrasil. Es decir, el nombre de Brahmán se aplica en los Estados Unidos. aparentemente hay más de 30 variedades híbridas de cebú y se han criado en un cierto tipo (Bavera, 2019, p.44).

##### *1.1.1. Características del ganado cebú*

De acuerdo a Bavera (2019, p.45), menciona las siguientes características innatas del ganado cebú:

- Tiene un gran desarrollo muscular, especialmente en las patas traseras.
- Las orejas, como ocurre con la mayoría de las especies de cebú, son grandes y tambaleantes.
- Los cuernos son cortos, gruesos y puntiagudos, inclinados hacia afuera y hacia atrás en las hembras.
- El prepucio está más retraído.
- El pelaje viene en tonos de blanco, rojo, gris y casi negro.
- La piel es oscura, muy pigmentada alrededor de los ojos y en el hocico.
- Los terneros al nacer son más pesados.
- Es muy resistente, se adapta bien a las zonas tropicales, pero prospera sin dificultad cuando las condiciones no son demasiado duras.

### ***1.1.2. Manejo de sementales bovinos***

El manejo de los animales se aborda en una edad temprana, con su establecimiento en unas agradables, extensas e higiénicas infraestructuras que admitan a los animales el desarrollo general y la expresión de sus caracteres instintivos sexuales. La alimentación tiene aportes proteicos y energéticos suficientes para la construcción orgánica y subsistencia vital. De igual forma, deberá estar equilibrado la composición vitamínico-mineral de la dieta, y con gran vigilancia de la composición en vitaminas liposolubles y minerales como el calcio, magnesio, fósforo y, principalmente zinc, entre otros (Flores, 2019, p.10).

Las instalaciones deberán asegurar el control de la temperatura ambiente, huyendo de la exposición al frío y calor extremos, así como de la humedad excesiva, situaciones contraproducentes para la producción de espermatozoides. Los sementales constituyen al menos el 50 % de la genética del hato y se colocan en el segundo orden respecto a los requerimientos mínimos de manejo (Ballina, 2020, p.10).

Entre las recomendaciones significativas nos señala:

- Realizar un examen anual para brucelosis.
- Prescindir su uso más de dos años.
- Mantenerlo no más de 20 a 25 vacas.
- Disponer al inicio con las vaquillas o vaconas.
- Practicarle pruebas andrológicas una vez al año.
- Identificar que no herede defectos físicos o genéticos.
- Aislar del resto del hato por un período para evitar la consanguinidad con las vacas.

## **1.2. Sistema reproductivo masculino del toro**

EL sistema reproductivo masculino del toro está conformado por los siguientes elementos que se está detallando a continuación (Lozano, 2019, p.12).

### ***1.2.1. Testículos***

Son órganos primarios, se encuentran de a pares, ubicados fuera de la cavidad abdominal, en posición ventral, en la cavidad escrotal, además es una glándula par que posee doble función, la primera función exocrina encargada de la producción de espermatozoides, y la segunda función

endocrina procuradora de la producción de hormonas sexuales masculinas llamados andrógenos (Pascual, 2020, p.2).

### **1.2.2. Escroto**

Es la piel protectora de los que tiene muchas glándulas sebáceas y sudoríparas; por lo general, hay poco tejido graso debajo. La túnica de Dartos se encuentra justo debajo de la piel y está formada por fibras musculares lisas que responden a los cambios en la temperatura ambiente, acercando los testículos a la cavidad abdominal durante las épocas de frío, esta capa de tejido se divide el escroto en dos compartimentos al cruzarlo por el medio, cada uno de los cuales contiene un testículo (Hernandez, 2018, p.10).

Los túbulos seminíferos están rodeados por una capa fibrosa llamada túnica albugínea, a partir de la cual las estructuras forman una red de soporte. Dentro de este tejido conectivo se encuentran las células de Leydig responsables de la producción de la hormona testosterona. En la periferia del tubo seminífero se encuentra el epitelio germinal, donde se encuentran los gametos masculinos primordiales, que maduran y abandonan el semicotiledón y se convierten en espermatozoides. Estos tubos se originan en un extremo ciego y continúan en un patrón de contorno para drenar en la cápsula testicular roja. A partir de esta red, los conductos deferentes salen de los testículos por su parte superior y forman gradualmente el epidídimo (Stornelli, 2020, p.5).

Al respecto Boggio (2017, p.8), indica que la función del escroto no es solo proteger, también es parte de un mecanismo termorregulador. Cualquier tipo de trauma puede afectar la termorregulación de diferentes formas, provocando diferentes cambios en los testículos y por tanto en la espermatogénesis.

### **1.2.3. Epidídimo**

Según Boggio (2017, p.11), es el órgano de almacenamiento y maduración de los espermatozoides y lo describe en tres partes:

- La cabeza está ubicada en el polo superior del testículo yendo de anterior a superior a medio y posterior.

- El cuerpo se extiende ventralmente a lo largo de las superficies medial y posterior del testículo, terminando en la parte caudal, unida al polo inferior del testículo por un ligamento ubicada posterior y medialmente.
- La cola se conecta a los conductos deferentes que corren a lo largo de las superficies dorsal y medial del testículo.

#### ***1.2.4. Conducto deferente***

El conducto deferente se trata de un par de tubos musculares rodeados de músculo liso y partiendo de la cola del epidídimo, los conductos deferentes atraviesan la superficie medial del epidídimo, donde el cordón espermático se une a los vasos sanguíneos y linfáticos del testículo (Lozano, 2019, p.20).

#### ***1.2.5. Uretra***

La uretra es un canal que va desde la vejiga hacia el exterior, atraviesa el interior del pene. Su función es común a los sistemas urinario y reproductor, permitiendo el paso de la orina y el semen al exterior (Hernandez, 2018, p.29).

#### ***1.2.6. Pene***

El pene es un órgano copulador y urinario, se caracteriza por su capacidad sigmoidea, está formado por dos corpúsculos, la uretra, el cuerpo cavernoso del glande, y está rodeado por la túnica albugínea, el interior del pene está formado por tejidos cavernosos que ayudan a almacenar suficiente sangre para producir una erección. A lo largo del pene va desde la uretra hasta el glande o glande, la uretra secreta orina y cuando la cápsula y el pene están erectos, se eyacula el semen o semen (Bastidas, 2021, p. 44).

#### ***1.2.7. Glándulas accesorias***

La función de estas glándulas es producir el semen que liberan durante la eyaculación y se encarga de diluir y nutrir los espermatozoides, conformada por: vesícula seminal, próstata y las glándulas bulbouretrales o de Cowper (Pérez, 2019, p.14).

- Vesícula seminal: Estos son órganos pareados ubicados en la cavidad pélvica, tienen una forma lobulada alargada y se forman a partir de lobulillos grandes y palpables del recto. La secreción de estas glándulas representa aproximadamente la mitad de todas las eyaculaciones.

- Próstata: El cuerpo de la próstata es una pequeña protuberancia horizontal en forma de anillo que rodea la parte superior de la uretra
- Glándulas bulbouretrales o de Cowper: se ubican en dorsal del extremo caudal de la porción pelviana de la uretra y están totalmente cubiertas por el músculo bulbocavernoso, además, las glándulas bulbouretrales proporcionan un fluido viscoso que lubrica y limpia la uretra antes de la eyaculación. Lubrica y neutraliza la acidez de la uretra antes del paso del semen durante la eyaculación.

### **1.3. Espermatogénesis**

La espermatogénesis incluye una amplia gama de fenómenos, donde las espermatogonias se convierten en espermatozoides, se halla bajo control endócrino. Las principales glándulas implicadas son la pituitaria y los testículos, también pueden intervenir las glándulas adrenales y posiblemente la glándula tiroidea, aunque en papeles secundarios. Es un proceso muy organizado, ocurre en los túbulos seminíferos, durante esta formación altamente especializada se produce daño diferencial a las células, se marcan y envían señales que detengan la progresión del ciclo celular para permitir el tiempo de reparación celular con la apoptosis como potencial opción (Stornelli, 2020, p.41).

Según Lozano (2019, p.42), indica que la espermatogénesis compone de todos los hechos realizados en el estroma del testículo en los túbulos seminíferos, y comienza con la pubertad en los toros, lo que conduce para producir esperma a partir de células primordiales, basado en un Control endocrino, paracrino y autocrino. Los hechos que suceden durante la espermatogénesis son la espermatocitogenesis, meiosis la espermiogenesis.

#### ***1.3.1. Espermatocitogenesis***

Este proceso implica la producción de espermatoцитos a partir de los túbulos seminíferos, así como la renovación de los espermatoцитos. Las espermatogonias siguen la vía del espermatogénesis por la vía de diferenciación. La diferenciación y renovación de las células mitóticas ocurre por división. La motilidad de los espermatozoides es esencial para asegurar un número adecuado de células germinales y para mantener una producción suficiente de espermatozoides durante el período reproductivo (Bastidas, 2021, p.4).

### ***1.3.2. Meiosis***

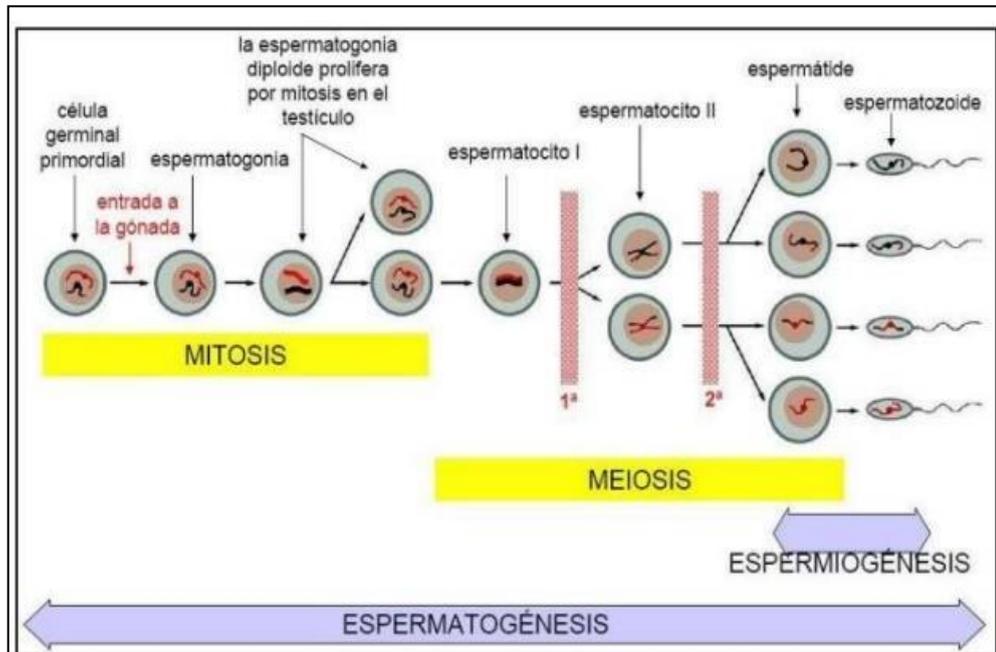
De acuerdo a Lozano (2019, p.21), indica que la meiosis tiene como intención disminuir el número de cromosomas del gameto alcanzando una fase haploide. Por su lado Vendrell (2021), al respecto menciona que los espermatocitos primarios ( $2n$ ) se transforman en espermátidas esféricas ( $n$ ), por división celular meiótica.

### ***1.3.3. Espermiogenesis***

La espermatogénesis es el proceso biológico de la transformación gradual de las células germinales en espermatozoides en los túbulos seminíferos de los testículos, este proceso involucra la proliferación celular por divisiones mitóticas, duplicación de cromosomas, recombinación genética, reducción y división meiótica, hasta producir espermátides haploides y la diferenciación terminal de las espermátides en espermatozoides. Durante esta etapa, el espermatozoide sufre un proceso de transformación hasta convertirse en un espermatozoide, pasando por etapas: la fase de Golgi, la fase capuchón, la fase acrosómica y la fase de maduración.

- Durante la fase de Golgi, este orgánulo se acerca al núcleo y se transforma para convertirse en el saco amortiguador de los espermatozoides, es decir en el toro la fase de Golgi es el lapso que se extiende desde la formación de la espermátida redonda hasta el gránulo acrosómico esférico asociado con la membrana nuclear.
- En la siguiente etapa llamada del casquete el núcleo se compacta y la vesícula acrosómica cubre el núcleo en forma de casquete, además, la transcripción y la transcripción se detienen porque las histonas son reemplazadas por protaminas.
- En la tercera fase, las mitocondrias se agrupan cerca del núcleo y forman la sección media y se determina la morfología del esperma.
- Durante las etapas finales de maduración, la cabeza del esperma adquiere una forma específica de la especie y finalmente se libera en el lumen del túbulo seminífero. a etapa final del desarrollo, involucra la expulsión de espermatozoides hacia la luz de los túbulos seminíferos. Cuando se completa la espermatogénesis, los espermatozoides, a través de sus colas, emergen del estroma de los túbulos semiconíferos hacia el vértice de las células de Sertoli y la luz. Durante la migración de los testículos al epidídimo y la eyaculación, los espermatozoides pierden su gota citoplasmática; sin embargo, no todas las gotas que se encuentran en la eyaculación son normales (Flores, 2019, p.18).
- Una vez finalizado el proceso de espermiogénesis, los espermatozoides son liberados hacia el lumen de los túbulos seminíferos en un proceso llamado: Espermiación y son transportados

hacia el epidídimo, donde alcanzan la maduración necesaria para adquirir la capacidad de fertilizar al ovocito, en la figura 1-1, se ilustra el proceso de espermatogénesis del toro (Barragan, 2017, p.29).



**Figura 1-1.** Diagrama de la espermatogénesis

Fuente: (Barragan, 2017).

#### 1.4. Morfología del espermatozoide

El espermatozoide es una célula alargada especial cuya única función es fertilizar un óvulo. En los bovinos, mide aproximadamente 75 micrones de largo y tiene una carga cromosómica haploide. Se compone de tres elementos principales: cabeza, cuello y cola (Barrios, 2020, p.20).

- La cabeza del espermatozoide contiene material genético y mide 8-10 micrones de largo, 4-5 micrones de ancho y 0,5 micrones de grosor. Se encuentran el núcleo celular y el acrosoma. El núcleo es ovalado, aplanado, cromatínico compacto y está formado por ADN unido a histonas en los espermatozoides. Los acrosomas contienen una serie de enzimas hidrolíticas que participan activamente en el proceso de fertilización.
- El cuello de los espermatozoides es una estructura corta ubicada entre la cabeza y la sección media. Tiene un centro mediano rodeado por 9 fibras periféricas orientadas longitudinalmente, que se extiende con los filamentos externos del fragmento medial. La cola de los túbulos seminíferos se divide en tres partes distintas: la parte media, la parte principal y la parte terminal. Con todos sus componentes, tiene 45-50 micrones de largo.

## **1.5. Métodos de recolección de semen**

la recolección de semen es la primera y también considerada la operación más importante en el programa de inseminación artificial. En el desarrollo abarca una serie de componentes, destrezas, instrucciones y habilidades que, en conjunto, proporcionarán como deducción la mejor utilización del toro y, por ende, una excelente calidad del eyaculado. Además, también mencionó que para desarrollar este método se utilizarán dos tipos de dispositivos bien conocidos, con excelentes resultados en la recolección de semen (Guerrero, 2019, p.17).

- Vagina artificial
- El electro eyaculador

### ***1.5.1. Vagina artificial***

La vagina artificial está formada por un tubo de plástico cilíndrico que debe ser resistente. Sus medidas son de unos 7 cm de diámetro y de 34 a 40 cm de largo. El interior del tubo está encerrado internamente por una funda de goma que se dobla en los extremos del cilindro, formando un compartimento lleno de agua caliente a 45- 46 ° C y aire, para proporcionar una estimulación adecuada. presión sobre los genitales masculinos, logrando así la capacidad de eyacular, el producto resultante no se contaminará y es claramente representativo de la eyaculación en condiciones normales. El modelo vaginal artificial requiere la presencia de una vaca en celo o un animal ficticio (muñeco) para la estimulación. Esto proporciona a los hombres condiciones naturales (Heritier, 2019, p.18).

Para la extracción puede ser una vaca en celo o un maniquí. Antes de recolectar el semen, es importante tener en cuenta dos aspectos muy importantes: por un lado, la higiene, y, por otro lado, la estimulación sexual del semental. En este sentido, debe estar respaldado por el método más eficaz para estimular los aumentos de precios. Uno de ellos es el método ecuestre simulado, que consiste en permitir que el semental se suba al señuelo y desvíe el pene agarrándolo con la palma de la mano sin introducirlo en la vagina; Un aspecto muy importante es no tocar nunca la mucosa del pene con las manos ya que esto provocaría contaminación (Hidalgo, 2019, p.15).

Durante el montaje posterior, la punta del pene se colocará en la entrada de la vagina artificial; Inmediatamente, el toro es lanzado hacia adelante en una estocada final, también conocida como espalda, que irá acompañada de una eyaculación. Se ha demostrado que la adhesión falsa en el ganado bovino aumenta la calidad del esperma en términos de volumen, concentración y

motilidad del espermatozoide. La principal desventaja del método de la vagina artificial es el uso de animales obedientes y entrenados (Román, 2019, p.14).

### **1.5.2. Electroeyaculación**

El método de electroeyaculación permite obtener semen de toros sanos que no aceptan el uso de una vagina artificial como método de recolección, pues para ello es necesario adiestrar con anticipación a los sementales. Y los que no pueden lograr el apareamiento se deben principalmente a trauma. Por ejemplo, pueden darse casos de animales que padecen poliartritis, fracturas, artritis de tobillo, entre otros. Para este método se utiliza un dispositivo de descarga, que no es más que un electrodo conectado a una batería para generar estimulación eléctrica rítmica con una carga de no más de 20 voltios y de 0 a 1000 miliamperios (Muiño, 2019, p.25).

Al momento de la conducción y operación del electro eyaculador, el electrodo (sonda) debe colocarse sobre el bulbo de Henle y las glándulas vesiculares, es importante que el electrodo se adapte perfectamente al ano y realice movimientos de ida y vuelta, con el fin de aplicar estimulación eléctrica a los centros nerviosos que producen una erección y en seguida la eyaculación. Inicialmente, la intensidad de los estímulos aplicados debe ser mínima y debe incrementarse gradualmente hasta la eyaculación. Cada estímulo durará menos de un segundo y se aplicarán entre 5 y 10 estímulos para cada nivel de intensidad. Antes de utilizar el electro eyaculador, es necesario preparar al animal recortando el pelo del prepucio, limpiando la zona del pene con soluciones no espermicidas, limpiando el recto y estimulando con masaje rectal (Brito, 2017, p.39).

### **1.6. Criopreservación del semen**

La Criopreservación de semen es una importante biotecnología reproductiva que busca promover la conservación del germoplasma masculino por tiempo indeterminado cuando se asocia a la inseminación artificial representa un mecanismo eficiente para la promoción y difusión de material genético de excelente calidad, esta técnica mejora la economía para el productor al reducir los costos de alimentación y transporte de los reproductores así como los riesgos que se ocasionan por la transmisión de enfermedades sexualmente transmisibles. La congelación de semen en los animales brinda ventajas en las técnicas para su obtención, exclusivamente en los eventos de mejoramiento genético. En el transcurso de criopreservación se provoca un desgaste celular que acorta la participación de espermatozoides viables (Cárdenas, 2017, p.52).

Desde el inicio del hallazgo del glicerol a manera de agente crioprotector (CP) seguro y del establecimiento de las técnicas elementales de criopreservación, el semen de diferentes especies se congela y se manipula con eficacia en la Inseminación Artificial, si se adicionan crioprotectores puesto que el glicerol o el dimetil-sulfóxido (DMSO) al contorno de congelación, es permisible aplazar la deshidratación celular y el constante deterioro por la secuela de la disolución (Bastidas, 2021, p.15).

Por ello, la deshidratación osmótica, más que el proceso de la formación de cristales de hielo intracelular, que es el primordial principio de los cambios ultra estructurales de la membrana, y como efecto es el deterioro de la selectividad de la membrana, las células congeladas quedan sujetas a tensiones que implican interacciones soluto-agua y que se desarrollan con la cristalización del agua. Consta de una rapidez de un enfriamiento óptimo hacia cada tipo de célula, dependiendo del tamaño, en correlación superficie-volumen, filtración al agua y el factor de temperatura de esa permeabilidad. En el avance de la criopreservación envuelven 5 fases: dilución, refrigeración, adición del CP, congelación y descongelación (Holt, 2021, p.18).

### **1.7. Curvas de temperatura**

La congelación hace que los espermatozoides pierdan agua y aumente la concentración de solutos dentro y fuera de la célula. El semen de toro generalmente se recolecta en un tubo seco y estéril sin diluir. Un estudio reciente de Wendee (2021, p.9), describe los beneficios de la agregación en un dispositivo llamado BreedMaX® que contiene un diluyente a 37 ° C antes de la recolección. Sin embargo, es posible dejar el semen de toro sin diluir en un baño de agua con temperatura controlada durante 30 minutos.

Una parte importante del tiempo de atención se dedica a los laboratorios de los centros de cría para evitar el choque térmico. Como regla general, después de la recolección, el semen debe enfriarse gradualmente a 4-5 ° C (1.5-2 horas) y luego titularse (tiempo de espera a 4-5 ° C hasta que se congele) durante 3-24 horas. Poca experiencia en la primera fase de la curva (37 ° C a 4-5 ° C). 160 min a 0,1 ° C / min en un congelador programable. Es posible que este tipo de descenso de temperatura sea más frecuente, estandarizado y más lento que el enfriamiento masivo realizado en contenedores para los que la tecnología no ha sido estandarizada (Wendee, 2021, p.10).

Hay sistemas de congelación automática disponibles y en este caso se suelen utilizar curvas de congelación una combinación de múltiples velocidades, 10°C/min de 20°C a 15°C y una segunda velocidad de 15°C a 120°C unos 25°C/min 60°C/min para luego sumergir la pajilla en líquido

nitrógeno. En este sistema, la velocidad de congelación es más uniforme porque tiene un mejor control de la temperatura, lo que se asocia con una mayor calidad del cristal post-descongelación en comparación con la congelación con el sistema convencional (Elgueta, 2021, p.45).

### 1.8. Diluyente de semen bovino

Por diluyente nos referimos a una solución acuosa que puede aumentar el volumen de eyaculado hasta alcanzar la dosis requerida, preservando las propiedades funcionales de los espermatozoides y manteniendo el nivel de fertilidad adecuado (Ghadir, 2019, pp.17-27). Los diferentes diluyentes manipulados desde el desarrollo tecnológico de la IA en vacas se puntualizan:

- **Diluyente de yema de huevo fosfatada:** La yema de huevo es un ingrediente comúnmente utilizado para la congelación ya que preserva la motilidad e integridad de las membranas del acrosoma y mitocondrias del espermatozoide además es un buffer osmótico también se ha notado que la yema de huevo protege durante la congelación al semen y sobre todo a los espermatozoides ya que se adhiere a la membrana y la recubre esta facultad de protección se adjudica a la gran densidad de la fracción de lipoproteínas.
- **Diluyente de yema de huevo citrada.**
- **Diluyentes a base de leche:** Para esto diluyente se utiliza la leche descremada las micelas de la caseína y de la lactosa presente en la leche sin crema son los principales responsables de disminuir los daños por enfriamiento y congelación ya que secuestran proteínas presentes en el plasma seminal que tras la eyaculación inducen la pérdida de colesterol y fosfolípidos de las membranas plasmáticas.
- **Diluyentes gelatinados.**
- **Diluyentes en base a leche de coco y yema de huevo:** El uso de diluyente de agua de coco en la congelación de semen tiene efectos beneficiosos sobre la motilidad y viabilidad de los espermatozoides en comparación con otros diluyentes naturales como la leche desnatada, además de su bajo costo y su fácil preparación. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el uso del agua de coco como diluyente durante la inseminación artificial con semen fresco en bovinos.

Según Carballo (2017, p.22), el diluyente debe contener los siguientes ingredientes:

- Suministrar nutrientes a manera de fuente energética, hacia el metabolismo de los espermatozoides.
- Mantener la presión osmótica oportuna y el equilibrio electrolítico.

- Inhabilitar la reproducción de bacterias.
- Ampliar el volumen de semen de manera que este logre ser usado en diferentes protocolos de inseminación.
- Preservar las células espermáticas a pesar de los deterioros provocados a lo largo de la congelación y descongelación.
- Resguardar la existencia del esperma con una inapreciable secuela sobre la fertilidad.
- Por ende, su desarrollo debe ser factible, constante y monetariamente factible.

## **1.9. Proceso de evaluación del eyaculado bovino**

La evaluación adecuada de la fertilidad dependerá del uso futuro del semen y de la cantidad de semen obtenido durante la vida reproductiva del semental; Es decir, se crea una dosis para cada eyaculación, dependiendo del número de espermatozoides restantes y de su capacidad, en última instancia, mayor o menos rentable. Un requisito previo para el desarrollo de esta biotecnología es que el semen utilizado permanezca fértil tras la criopreservación utilizando precisamente las tecnologías existentes (Hidalgo, 2019, p.28).

### ***1.9.1. Pruebas macroscópicas***

Muchos investigadores en el campo de la reproducción animal intentan llegar a un análisis de semen ideal, que evalúe y prediga completamente la fertilidad de una muestra de semen. El análisis de semen ideal sería aquel que, de forma sencilla y eficaz, permitiera predecir la probabilidad de fecundación para una determinada eyaculación. Las cualidades que debe poseer el esperma eyaculado son: motilidad progresiva, morfología normal, metabolismo energético activo, capacidad para desarrollar motilidad mejorada, integridad estructural y función de membrana, integridad de las enzimas involucradas en la fecundación, penetración y transferencia óptimas de material genético, los indicadores que utilizan para evaluar macroscópicamente el semen lo describen a continuación

#### ***1.9.1.1. Volumen***

Se examina directo en el tubo graduado, reiterando que un toro mayor de los 2 años se debe obtener un eyaculado, sin descenso de los 4ml. En consecuencia, el volumen varía entre los 2 a 12ml, el semen se puede obtener por medio de electro-eyaculación o vagina artificial y es recolectado en un tubo graduado de 15ml aproximadamente, ya sea plástico o de vidrio, para facilitar la medición del volumen. Se debe tener en cuenta de cubrir el tubo con un protector para

evitar que, tanto los rayos UV como los cambios bruscos de temperatura afecten al semen (Gómez, 2019, p.25).

#### *1.9.1.2. Color*

El color del semen depende de la cantidad de espermatozoides; cuando el semen es de buena calidad, presenta una coloración blanca, marfil o amarilla, y cuando es de baja calidad, su color es opalescente o trasparente La coloración de blanco a ligeramente amarillo se considera normal, siendo patológico el rosa, el marrón y el verde, es decir que se consideran normales los colores que van del blanco al amarillento, siendo patológicos, los colores rosado, amarronado y verdoso (Barragan, 2017, p.21).

#### *1.9.1.3. pH*

Se determina mediante el uso del potenciómetro, o con tirilla de papel para pH. Su valor varía entre 6,4 a 6,9; valores por encima de 6,9 son indicativos de semen de baja calidad. Se efectúa con una gota de semen, se aplica en la tira indicadora de pH. Se estima un pH normal, que va desde 6.2 y 6.8. No insertar la tira en el tubo evitando que el semen no se vea afectado por los reactivos (Hernandez, 2018, p.17).

#### *1.9.1.4. Olor*

El olor del semen se aprecia durante la extracción, siéntelo directamente del tubo de recolección. Se estimó un olor neutro (no desagradable) como valor normal y se rechazaron las muestras con olor desagradable u orina, El esperma fresco de Toro tiene un olor de espermatozoides típico. Los olores son ligeramente dulces, recuerdan leche fresca; Muchas veces, está oculta por el olor típico del mismo animal y compartimentos naturales. Olor de orina no deseado, así como el olor a putrefacta al mismo tiempo que confirma la enfermedad de los testículos y accesorios de las glándulas (Barragan, 2017, p.21).

### ***1.9.2. Pruebas microscópicas***

Las características microscópicas a valorar del semen bovino son: motilidad masal, motilidad individual, vitalidad espermática, morfología, concentración espermática (Barrios, 2020, p.21).

### 1.9.2.1. Motilidad masal

Es un movimiento de masa, la acción ondulatoria de todos los espermatozoides, que se observa en eyaculaciones densas. Para el examen, se requiere de una gota de semen integro con la pipeta, se cola en el portaobjetos a 37 ° C y se observa en campo claro (aumento de 10X), sin necesidad del cubreobjetos, el grado de movilidad en masa o motilidad masal (MM) se puntualiza en la tabla 1-1 (Barrios, 2020, p.21).

**Tabla 1-1:** Grado de movilidad masal

CÓDIGO	PUNTUACIÓN
+++	Actividad cinética excelente, remolinos potentes con ondas espermáticas perceptibles.
++	Actividad cinética buena, remolinos apreciables, aunque poco potente.
+	Actividad cinética regular, disminución de remolinos y con poca frecuencia que la anterior.
-	Actividad cinética incompleta, no se forman remolinos en él, sino ocasionalmente y sin ninguna intensidad.

Fuente: (Barrios, 2020).

### 1.9.2.2. Motilidad individual progresiva

La motilidad individual y la estimación de células con movimiento progresivo refleja información de la integridad de la membrana, para efectuar esta prueba se diluye el semen en Citrato de Na 2.92%. Se ubica una gota gruesa de semen, de aproximadamente 30 a 40 µL en el tubo con 2ml. de sustancia de Citrato que se encuentra en una igual temperatura del semen, en baño maría (Lozano, 2019, p.28).

Después de haber disuelto el semen se separa una gota de la dilución y se la ubica sobre el portaobjetos en una temperatura entre 36-37°C y posteriormente se coloca un cubreobjetos, Se visualiza al microscopio, constantemente sobre la platina térmica, a 40 aumentos. Es necesario analizar en un campo y los espermatozoides que se mueven de forma lineal progresivamente y pasen por el campo de visión se debe evaluar subjetivamente. Los espermatozoides viajan en un patrón circular u oscilante, se consideran movimientos irregulares. Para el valor aceptable del 50%, es cuando tienen una dirección lineal progresiva del recuento total de espermatozoides aceptados (Íñiguez, 2017, p.14).

### *1.9.2.3. Viabilidad espermática*

Este rasgo mide el porcentaje de espermatozoides vivos y se expresa como porcentaje de células muertas. Para medir la viabilidad de una muestra de semen, se utiliza un tinte vital, como el tinte de eosina-nigrosina, donde los espermatozoides muertos aparecerán rojos o rosados, mientras que los espermatozoides vivos permanecerán sin teñir. Debido que cuando hay daño en la membrana celular, o si el espermatozoide está muerto, puede atravesarlo y teñirlo; Los espermatozoides observados sin tinción, son espermatozoides que tienen membranas celulares intactas y son impermeables al colorante (Pérez, 2019, p.29).

### *1.9.2.4. Concentración espermática*

La concentración de los espermatozoides se habla como el número de espermatozoides/mL de semen. Recuento celular directo, mediante hemocitómetro o cámara Neubauer, diseñado para contar glóbulos rojos. Esta cámara de Neubauer incluye una corredera especial con 2 cámaras de conteo. Las cámaras de recuento tienen una profundidad de 0,1 mm y el área graduada en la parte inferior de la cámara es de 1 mm<sup>2</sup> (Maurat, 2021, p.22).

Esta caja está dividida en 25 cajas más pequeñas, al saber la profundidad y el área puede determinar la cantidad de espermatozoides en un volumen dado. El diluyente manejado debe inmovilizar el semen para efectuar un conteo. Por lo general, se usa NaCl (solución hipertónica) al 3%, lo que hace que la célula deje de funcionar mejor. La dilución de la muestra de semen para la determinación de la concentración de espermatozoides en el caso de bovinos es 1: 200 (Wendee, 2021, p.10).

Después de la dilución y fijación del espermatozoide, el semen diluido se coloca en una cámara de Neubauer. Para el cálculo de la concentración de espermatozoides se trata con la siguiente ecuación: (Espermatozoides/mL) = Número de espermatozoides contados en 5 cuadrados (4 esquinas + el centro) x 5 x dilución (1:200) x 10 x 1000 (Villamizar, 2021, p.28).

### *1.9.2.5. Morfología espermática*

El análisis morfológico del espermatozoide es uno de los componentes principales para evaluar las características de las muestras de semen. La evaluación de la morfología de los espermatozoides se basó en una relación directa entre el porcentaje de espermatozoides anormales en el semen, la forma de la anomalía morfológica y su asociación con la fertilidad de los toros bovinos. La

categorización morfológica estricta, las anomalías favorables se catalogan en malformaciones de la cabeza, conducto medial y cola (Vendrell, 2021, p.24).

De acuerdo a Carballo (2020, p.41), demostró que la morfología de los espermatozoides es un determinante de la capacidad de los espermatozoides para fertilizar, ya que existe una correlación entre la malformación y la infertilidad del esperma. Los espermatozoides son translúcidos y apenas visibles bajo un microscopio de luz directa, lo que requiere el uso de un tinte de fondo oscuro para hacerlos visibles. La tinción, con eosina, azul de anilina o eosina-nigrosina, se utiliza con mayor frecuencia para evaluar la morfología de los espermatozoides. La morfología se evaluó de la siguiente manera: se colocó una gota de esperma diluido de aproximadamente 20  $\mu\text{L}$  sobre un portaobjetos limpio y se deposita una gota de medio de colorante, el frotis se realizó de manera confiable y uniforme (Hafez, 2020, p.17).

Después de esperar al menos 10 minutos para que se seque el frotis, se coloca bajo un microscopio y se cuentan los espermatozoides. Se contaron 200 espermatozoides por muestra para determinar el porcentaje de espermatozoides normales, el porcentaje de espermatozoides anormales y de estos atípicos primarios y secundarios (Cárdenas, 2017, p.38).

## **1.10. Trastornos reproductivos en toros**

De acuerdo a Góngora (2020, p.22), cita que los trastornos reproductivos se consideran un problema en la cría de los hatos, porque continúan sin una vigilancia previa y frecuente de los animales, induciendo diferentes infecciones que afectan la calidad del semen y los describe de la siguiente manera:

### ***1.10.1. Diarrea viral bovina (DVB)***

Diarrea Viral Bovina o DVB, es una enfermedad infectocontagiosa, de signología variable, dependiendo de la cepa actuante, edad y estado inmune del huésped. Se caracteriza por trastornos respiratorios, diarrea, tormenta de abortos, caída brusca en la producción de leche y muertes súbitas es producida por un pestivirus catalogado dentro de la familia Flaviridae, los toros inmunotolerantes emiten grandes cantidades de virus a través del semen, como resultado del esperma infectado conllevan a una baja densidad, motilidad y a una evidente ampliación de anomalías primarias (Rivera, 2020, p.22).

### ***1.10.2. Leptospirosis***

Esta es una enfermedad común, presente en todo el mundo, aunque más común en climas cálidos, esta culebrilla puede convertirse en una pesadilla para los agricultores, es causada por una espiroqueta clasificada dentro de la familia *Leptospiridae*, lo cual llega a producir en las animales orquitis durante la fase aguda y aunque las infecciones persistentes son frecuentes. Los animales portadores, que actúan como reservorios de enfermedades, excretan bacterias patógenas a través de la orina, el semen y las secreciones vaginales y uterinas, por lo que también contaminan los pastizales, el agua potable y los piensos. Los reservorios más comunes son los perros y los roedores.

### ***1.10.3. Tricomoniasis bovina***

La tricomoniasis bovina o “enfermedad tric” es una enfermedad de transmisión sexual y de notificación obligatoria en el ganado bovino causada por el protozoo *Tritrichomonas fetus*. *Trichomonas* afecta principalmente al ganado vacuno; sin embargo, se han observado casos en vacas lecheras. La tricomoniasis de los bovinos no se transmite a los humanos, causa pérdidas reproductivas tempranas manifestadas con infertilidad transitoria, mortalidad embrionaria, repetición de celos, piómetras y abortos esporádicos.

### ***1.10.4. Rinotraqueítis infecciosa Bovina (IBR)***

Producida por el herpes virus bovino tipo-1 catalogado dentro de la familia *Alfaherpesvirinae*, consigue producir infertilidad, mortalidad embrionaria y aborto, infecciosa del tracto respiratorio bovino es una enfermedad infecciosa de origen viral (*herpesvirus* bovino tipo 1) que puede resultar en alteraciones clínicas leves o graves de naturaleza respiratoria u ocular, lesiones pustulosas, inflamación de las membranas mucosas de la vulva, la vagina y el útero. , a menudo provocando abortos espontáneos o el nacimiento de terneros gravemente perturbados neurológicamente con una alta tasa de mortalidad. En el hombre provoca lesiones pustulosas de la mucosa del pene, produciendo balanitis (Rivera, 2020, p.22).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Localización y duración del experimento

El siguiente trabajo de investigación se ejecutó en la empresa ganadera de bovinos y búfalos en la hacienda “La Victoria”, propiedad del Sr. Lorens Olsen Pons, la misma que se encuentra ubicada en el kilómetro 12 de la vía Bucay - Naranjito perteneciente a la provincia del Guayas del cantón Bucay.

El período de evaluación fue de tres meses, en el cual se desarrollaron varias actividades como la selección del reproductor, adecuación del toro, análisis de las variables, y tabulación de datos. Las condiciones climáticas del lugar experimental se presentan en la tabla 1-2.

**Tabla 1-2:** Condiciones climáticas de la zona en la hacienda La Victoria

Parámetro	Unidad	Promedio
Temperatura	°C	18 – 24
Humedad	%	92
Altitud	m.s.n.m	250
Viento	Km/h	8

Fuente: (Bucay, 2022).

Realizado por: (Castro C, 2022).

#### 2.2. Unidades experimentales

Para esta investigación, el Tamaño de la Unidad Experimental fue con tres tratamientos correspondientes a las curvas de congelación y 5 repeticiones por cada tratamiento, obteniendo un total de 15 pajuelas evaluadas.

#### 2.3. Materiales, Equipos e Insumos

##### 2.3.1. Equipos

- Brete
- Microscopio
- Tanque de nitrógeno

- Placa calefactora
- Computadora
- Electro eyaculador
- Contador digital de celula luna FI

### **2.3.2. *Materiales de campo***

- Overol
- Tijeras
- Papel aluminio
- Guantes ginecológicos
- Guantes látex
- Botas
- Toallas desechables
- Cinta métrica
- Libreta
- Esferográfico

### **2.3.3. *Materiales de laboratorio***

- Placa portaobjetos
- Placa cubreobjetos
- Caja petri
- Placas de neubauer
- Vasos de precipitación
- Balón volumétrico de 100 ml
- Pipetas
- Papel absorbente

### **2.3.4. *Insumos***

- Diluyente Optixcell
- Naranja de acridina

## 2.4. Tratamientos y diseño experimental

En la presente investigación se aplicó un diseño completamente al azar con tres tratamientos correspondientes a las curvas de congelación (3.8°C, 4.0°C y 4.2°C) y 5 repeticiones por cada tratamiento, obteniendo un total de 15 pajillas evaluadas, de acuerdo como se presenta en la tabla 2-2.

**Tabla 2-2:** Esquema del experimento

Tratamientos	Código	Repeticiones	TUE	Rep./Total
T1	T1C	5	1	5
T2	T2C	5	1	5
T3	T3C	5	1	5
Total				15

**TUE:** Tamaño de unidad experimental

**Realizado por:** (Castro C, 2022).

## 2.5. Mediciones experimentales

### 2.5.1. Evaluación macroscópica pre congelación

- Volumen
- Color
- Olor
- pH

### 2.5.2. Evaluación microscópica post congelación

- Concentración espermática
- Motilidad masal
- Motilidad individual progresiva
- Viabilidad espermática
- Daño en el paquete de ADN del espermatozoide (cromatina)
- Morfoanomalías

## 2.6. Análisis estadístico y pruebas de significancia

- Para las variables como volumen de eyaculado y pH del eyaculado se utilizó la estadística descriptiva para lo cual se realizó el cálculo de la media y desviación estándar.
- Para el resto de las variables se realizó un análisis de la varianza (ADEVA), para determinar la significancia ( $p \leq 0.01$  y  $p \leq 0.05$ ).
- Separación de medias a través de la prueba de Tukey de  $p < 0.01$

**Tabla 3-2:** Esquema del ADEVA

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	14
Tratamientos	2
Error experimental	12

Realizado por: (Castro C, 2022).

## 2.7. Procedimiento experimental

### 2.7.1. Selección, preparación y colecta del semen

- **Selección del Reproductor:** Para la selección de los reproductores se contó con todos los reproductores de la hacienda la Victoria, para lograr seleccionar un reproductor que tenga las características raciales aptas para llegar a congelar su semen.
- **Preparación del reproductor:** Seleccionado el reproductor que se vaya a utilizar en el trabajo investigativo se procede a la preparación para obtener un eyaculado bueno y adecuado para su posterior análisis.
- **Colecta del semen bovino:** Llevar al reproductor al brete, para posteriormente realizar un masaje en el recto del animal, para introducir el electro eyaculador para una mayor eficiencia en la excreción de semen.

## 2.8. Metodología de evaluación

### 2.8.1. Evaluación macroscópica pre congelación

- **Volumen:** Se utilizó un tubo graduado donde el valor se determinó a través de la lectura directa expresada en mililitros (ml).

- **Color:** Se evaluó por medio de la visualización directa del eyaculado dentro del tubo colector basado en los siguientes criterios: Blanco cremoso, blanco lechoso, transparente o translucido.
- **Olor:** El olor fue una medida subjetiva la cual nos aseguró que la muestra de semen no se encuentre con un olor desagradable que sería indicativo de una infección bacteriana en el tracto reproductivo o la presencia de olor a orina que nos dio indicativos de una muestra contaminada. El olor que se considera normal es un olor neutro, no desagradable.
- **pH:** se evaluó mediante un pH metro digital el cual fue sumergido en el eyaculado, considerándose un pH normal, entre 6.2 y 6.8.

### 2.8.2. Evaluación microscópica post congelación

#### 2.8.2.1. Concentración espermática

Para el cálculo de la concentración espermática se utilizó una cámara de conteo celular Neubauer, en donde se diluirá el semen fresco en una solución formalizada en relación 1:200. Posteriormente se colocaron 5 micro litros de la dilución en los dos compartimentos de la cámara para contabilizar los espermatozoides y realizar el cálculo con la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración espermática } \left( \frac{\text{espermatozoides}}{\text{ml}} \right) = \text{Número de spz contados en los 5 cuadros} * 5 * 10 * 1000 * 200$$

**Ecu.1-2.**

En la tabla 4-2 se aprecia Escala para evaluar la concentración espermática.

**Tabla 4-2:** Escala para evaluar la concentración espermática

Escala	Características
<b>Muy Buena</b>	Apariencia granulosa con 750 millones a 1000 millones o más de espermatozoides por ml
<b>Buena</b>	Semen opaco, lechoso con 400 millones a 750 millones de espermatozoides por ml
<b>Regular</b>	Semen como leche aguada con 250 a 400 millones de espermatozoides por ml
<b>Mala</b>	Semen translúcido u acuoso con menos de 250 millones de espermatozoides por ml

Realizado por: (Castro C, 2022).

#### 2.8.2.2. Motilidad masal

La valoración de la motilidad masal se realizó de manera subjetiva en el semen fresco y descongelado, con esta prueba se evalúa el movimiento de los espermatozoides de manera grupal

y está relacionada con la vitalidad, la velocidad del movimiento de los espermatozoides y la concentración espermática del semen, para evaluar la motilidad masal se tomó una microgota de semen y se colocó en un porta objetos colocado sobre una platina térmica para microscopio atemperada a 37 °C, procediendo a observarlo en el microscopio con aumento de 10X. Para su valoración se utilizó la escala de 1 a 5, donde 1 representa la ausencia de movimiento y 5 es el máximo movimiento observado el cual se caracterizó por la visualización de ondas muy oscuras y con movimiento rápido.

### 2.8.2.3. Motilidad individual progresiva

La motilidad individual progresiva de una muestra de semen se expresó como el porcentaje de células móviles bajo un campo microscópico, para ello se utilizó un microscopio óptico (aumento 40X) a una temperatura de 37°C en donde el semen fue diluido en una solución isotónica de NaCl al 0,9%, para poder observar individualmente a los espermatozoides. En la evaluación de la motilidad individual de los espermatozoides se estimó el porcentaje de células espermáticas con movimiento progresivo lineal (MPL), para ello, se tomó con una micropipeta (esterilizada), 1 gota (de 10 µL) del semen diluido mismo que fue colocado sobre un portaobjeto a temperatura de 37°C cubriéndolo con un cubreobjetos.

La observación se la realizó en un microscopio a 40X, para la estimación se evaluó si más de la mitad de los espermatozoides que hay en el campo poseen movimiento o no, ahí se observaron los espermatozoides que se mueven en forma rectilínea a los cuales se los consideraron normales, caso contrario los que se mueven en círculo se consideraron anormales. Para tener el porcentaje de espermatozoides con movimiento rectilíneo progresivo sobre el total de los espermatozoides observados en la placa, valores a ser comparados con la siguiente escala de 0 a 100% como se observa en la tabla 5-2.

**Tabla 5-2:** Valoración de la Motilidad Individual Progresiva según la Sociedad Americana de Theriogenología

Clasificación	Motilidad progresiva individual	Valor %
Pobre	Muy lento y errático	<50
Aceptable	Lineal lento y generalizado	60-70
Bueno	Lineal moderadamente rápido	70-80
Muy bueno	Lineal rápido	80-100

Fuente: (Mancheno, 2021)

#### 2.8.2.4. Viabilidad espermática

Para determinar la viabilidad espermática se utilizará la tinción de Eosina – Nigrosina misma que consiste en agregar 10 µl de Eosina G (colorante rojo) sobre 10 µl de la muestra de semen en un portaobjetos temperado a 37°C homogenizándola para luego agregar 10 µl de Nigrosina (colorante negro) y homogenizarla nuevamente, dejándola reposar un minuto, se hace el frotis y finalmente se dejó secar al aire. La muestra se observará en un microscopio a 100X, contando un mínimo de 100 espermatozoides en diferentes campos del portaobjetos. Los espermatozoides con cabeza roja o rosa oscuro son considerados muertos (membrana dañada), mientras espermatozoides con cabeza blanca o rosa claro son considerados vivos (membrana intacta). El resultado será expresado como porcentaje y por determinación subjetiva se calculará mediante la siguiente relación:

$$\text{Viabilidad espermatica (\%)} = \frac{\text{Número de espermatozoides muertos}}{\text{Número de espermatozoides vivos}} * 100 \quad \text{Ecu.2-2.}$$

#### 2.8.2.5. Daño en el paquete de ADN del espermatozoide (cromatina)

Se evaluará mediante la integridad de la cromatina, para esto se deben colocar 10 µl de semen y 10 µl de solución Naranja de Acridina entre porta y cubreobjetos. Se incuba durante 5 minutos en un baño maría a 37°C y se observarán los resultados en el contador digital de células Luna Fl en el modo fluorescencia con naranja de acridina. Las cabezas de los espermatozoides con ADN nativo tenían una fluorescencia verde, mientras que las que tenían ADN desnaturalizado eran rojas.

Para la estimación del porcentaje de este valor se tomará en cuenta la siguiente fórmula:

$$\text{Espermatozoides con el ADN íntegro (\%)} = \frac{\text{Número de espermatozoides rojizos}}{\text{Número de espermatozoides verdes}} * 100 \quad \text{Ecu.3-2.}$$

#### 2.8.2.6. Morfoanomalías

Utilizando la misma placa se observará la estructura espermática con un aumento de 100X, para ello se contarán las células sin anomalías en la placa mismas que serán clasificadas como normales cuando la cabeza y flagelo son regulares y como anormales los que presentan alguna de las siguientes categorías de morfoanomalías: cabezas muy grandes, cabezas muy pequeñas, doble cabeza, flagelos doblegados, flagelos rizados, flagelos múltiples o sin flagelo, también es común

encontrar espermatozoides con presencia de gota citoplasmática proximal o distal. Se contarán un total de 100 espermatozoides.

$$\text{Morfoanomalias (\%)} = \frac{\text{Número de espermatozoides anormales}}{\text{Número de espermatozoides normales}} * 100 \quad \text{Ecu.4-2.}$$

El esperma de los sementales no debe sobrepasar un 15 a 20% de espermatozoides anormales

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Valoración espermática de semen bovino precongelación de los toros de la Hacienda La Victoria del cantón Bucay

##### 3.1.1. Volumen (ml)

Con respecto al volumen del semen bovino antes de la congelación se observa que las medias fueron de 13 ml, estableciéndose un valor máximo de 14 ml, en tanto, que el valor mínimo determinado fue de 12 ml, con una desviación estándar de 1, como se indica en la tabla 1-3.

**Tabla 1-3:** Valoración espermática de semen bovino precongelación de los toros de la Hacienda La Victoria del cantón Bucay

ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS	VOLUMEN	pH	MORFOANOMALÍAS (%)	OLOR	COLOR
Media	13	7	33,33	Neutro	Blanco Lechoso
Error típico	0,4	0,4			
Mediana	13	7			
Moda	14	6			
Desviación estándar	1	1			
Varianza de la muestra	1	1			
Rango	2	2			
Mínimo	12	6			
Máximo	14	8			

Realizado por: (Castro C, 2022).

Los resultados anteriores muestran que el volumen seminal obtenido en la presente investigación presento un valor elevado, teniendo en cuenta que la medida del volumen del eyaculado se efectúa por lectura directa de la graduación que hay en el tubo de recolección del semen. El volumen medio por eyaculado está entre 2 y 12 ml, pero puede ser muy variable.

Al respecto Ballina (2020, p.25), manifiesta que el volumen de los eyaculados de toros es un parámetro que presenta una baja repetitividad, ya que este depende de la edad y condición del animal, factores ambientales y destreza del operario. El volumen de cada eyaculado disminuye con las frecuencias de recogida a lo largo de cada extracción

Un comportamiento similar se aprecia en el estudio realizado por Maraví (2019, p.14), quien observa diferencias en el volumen de semen colectado ( $p < 0.05$ ), con medias de 6.00 ml en la raza Jersey, manifestando que esta cantidad puede variar debido a diversos factores al momento de la colecta del semen como piso resbaladizo, ruidos y distracciones, además, es recomendable que la colecta se haga en una monta falsa porque aumenta la calidad del semen con respecto al volumen, concentración espermática.

### **3.1.2. Color**

Para la variable de color el semen bovino evaluado antes de la congelación presentó una tonalidad blanco-lechoso, que se encuentra dentro del rango adecuado, lo cual es un indicador de que estos animales son aptos para la colecta de muestras por encontrarse en excelentes condiciones de salud ya que se considera que un semen normal debe presentar un color blanco y amarillento, siendo los colores rosado, marrón y verdoso, indicativo de signos de patología.

Al respecto Barrios (2020, p.25), indica que generalmente el color del semen bovino es de color blanco marfil, las muestras más densas serán de color y aspecto más cremoso, mientras que las más diluidas serán de aspecto lechoso y hasta completamente claro y transparente. En algunos toros se pueden observar eyaculados de color amarillento o amarillo limón; esto corresponde a un pigmento llamado riboflavina, aminoácidos y carotenos que se produce en las glándulas seminales y que es inocuo. Si se observa una coloración rojiza, indica la presencia de sangre fresca, mientras que un color pardo señala la presencia de sangre más vieja, una coloración gris indica suciedad, mientras que los eyaculados con muy pocos espermatozoides tienen una coloración amarillo-verdosa.

Los resultados de color del semen de la presente investigación son similares a los reportes de Cabrera (2012, p.55), quien al evaluar las viabilidad espermática e integridad del acrosoma en semen congelado de toros nacionales, observó que las colecciones seminales fueron homogéneas, de color blanco cremoso, aspecto denso, resultados muy similares a los obtenidos en el presente estudio, señalando que a través del color se puede reflejar la viabilidad espermática por ser un parámetro asociado con la calidad del mismo.

### **3.1.3. Olor**

Al determinar el olor del semen bovino se observa que las muestras presentaron un olor neutro, este es característico de cada especie animal y en general no es muy intenso. El semen puede

tomar un olor dependiendo del estado y condición del animal, por lo general se lo determina olfateando el tubo colector, olores extraños diferente al característico indica alguna contaminación sea con orina o alguna secreción derivada de una patología genito-urinaria.

El semen fresco de toro tiene un olor típico producto de la espermia. El olor es un poco dulzón, recordando el de leche fresca; muchas veces se encuentra enmascarado por el olor típico del animal mismo y de la cavidad prepucial. El olor a orina es indeseable, así como el olor pútrido ya que confirman enfermedades del testículo y de las glándulas sexuales accesorias

De acuerdo con la investigación realizada por Jacinto (2020, p.29), las características macroscópicas de olor del semen fresco colectado por toro se identificó un olor a “leche fresca de vaca” para todas las repeticiones y para todos los animales en estudio. Por lo que se concluye que las muestras colectadas son de buena calidad por no presentar olores extraños, ya que esto depende también de las glándulas anexas en el aparato reproductor del macho.

#### **3.1.4. pH**

Al realizar la valoración de pH del semen bovino precongelado, se aprecia que las medias determinadas fueron de 7,00; ya que el valor máximo de pH fue de 8,00; mientras que valor mínimo fue de 6,00, siendo la desviación estándar de 1,00. El pH del semen tiene un valor normal entre 6,00 y 7,00; cualquier elevación es un indicio de contaminación con orina u otras afecciones inflamatorias del aparato genital. Asimismo, que el pH es un indicador de las secreciones de los testículos y las glándulas accesorias se encuentran en condiciones normales.

Los resultados obtenidos anteriormente, guardan relación con los datos reportados por Jacinto (2020, p.14), quien al evaluar el efecto de la remoción parcial del plasma seminal antes y postcongelación sobre la viabilidad del semen bovino evidencia que en los promedios del pH de semen fresco, no existen diferencias estadísticas, donde las muestras obtenidas del toro Líder presentaron un pH de 7 los cuales están dentro del rango adecuado, señalando que el plasma seminal al ser el medio líquido en el cual los espermatozoides se encuentran inmersos, producido por una mezcla de las secreciones procedentes del epidídimo y las glándulas sexuales accesorias con una composición muy heterogénea sirven como tampón, mantienen la osmolaridad adecuada y un pH cercano a 7. Igualmente, son similares a los resultados de Moncayo (2016, p.23), quien en la interpretación del análisis de pH de los eyaculados de tres razas de toros para evaluar la calidad seminal antes y después del proceso de criopreservación, encontró que el toro Holstein presento el mayor pH con un promedio de 6,70.

### **3.1.5. Morfoanomalías (%)**

Al realizar la evaluación de las morfoanomalías del semen bovino precongelación, las medias establecidas fueron de 33,33%, esta valoración es muy importante en la valoración de la fertilidad de los animales, a los fines de establecer porcentajes de espermatozoides normales y poder clasificar las anomalías ya que según Ballina (2020, p.39), existe una alta correlación entre los defectos espermáticos e infertilidad. Los resultados de la presente investigación son inferiores a los establecidos por Jacinto (2020, p.22) quien al observar los promedios de la variable porcentaje de espermatozoides anormales del semen fresco por toro, donde se puede evidenciar que existe una diferencia altamente significativa entre las unidades experimentales siendo el toro Nerón el que alcanzó un mayor promedio de espermatozoides anormales con medias de 37.67%

Moncayo (2016, p.55), reporta un resultado inferior en cuanto al porcentaje de alteraciones morfológicas de los espermatozoides identificando que el toro de raza Holstein presentó el menor número de alteraciones, con un porcentaje promedio de 3%, Concluyendo que, a medida que aumenta la proporción de espermatozoides anormales en el eyaculado, desciende la capacidad fecundante del mismo Por tanto, se ha de tener muy presente que las muestras de semen con un porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales inferior al 70% han de descartarse para la congelación.

## **3.2. Valoración espermática de semen bovino criopreservado con tres curvas de temperatura en la hacienda la victoria del cantón Bucay**

### **3.2.1. Motilidad individual progresiva (%)**

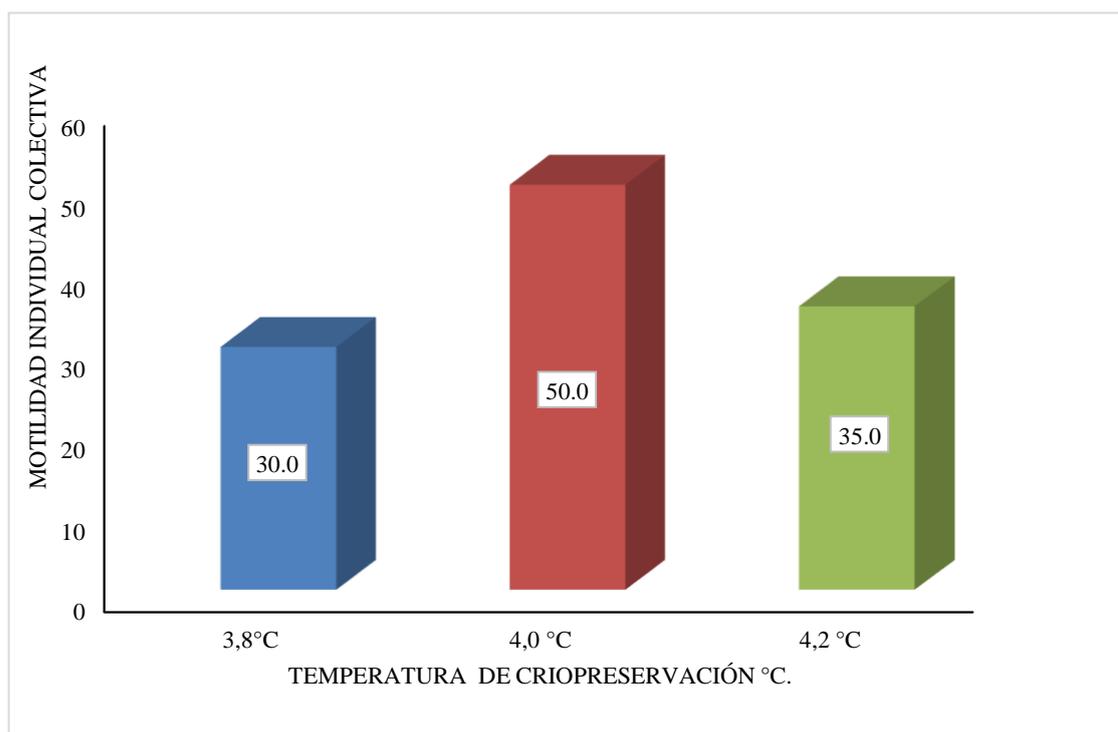
Al realizar la valoración espermática de motilidad individual progresiva del semen bovino criopreservado en los toros de la hacienda la victoria del cantón Bucay se reportó diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ), por efecto de la temperatura del agua para criopreservar el semen (3,8; 4,0 y 4,2°C), estableciéndose el promedio más alto para las muestras que fueron sometidas a una temperatura de 4,0 °C (T2), con valores promedio de 50%, seguida de las muestras evaluadas a una temperatura de 4,2 °C (T3), que obtuvieron una motilidad individual progresiva del 35%, mientras que el valor más bajo se presentó en las muestras tratadas a una temperatura de 3,8°C (T1), con una motilidad de 30%, como se indica en la tabla 2-3.

**Tabla 2-3:** Valoración espermática de semen bovino crio preservado con tres curvas de temperatura en la hacienda la Victoria del cantón Bucay

Variables	TRATAMIENTOS			Prob.	Sign.
	3,8 °C	4,0 °C	4,2 °C		
Motilidad individual progresiva (%)	30,00	50,00	35,00	<0,001	**
Viabilidad espermática (%)	25,00	60,00	40,00	<0,001	**
Daño en el paquete de ADN del espermatozoide (cromatina) (%)	59,26	75,72	87,58	<0,001	**
Morfoanomalias (%)	21,37	19,19	18,87	0,676	ns
Motilidad masal (%)	82,00	83,00	86,00	0,355	ns
Concentración espermática (spz/ml)	5,94E+08	5,9E+08	5,9E+08	0,400	ns

Elaborado por: (Castro C,2022).

Los resultados del presente estudio indicaron claramente que, es más recomendable criopreservar el semen bovino a una temperatura de 4,0°C (T2), debido a que alcanzaron el porcentaje más alto de la investigación y que fue del 50%, como se ilustra en el gráfico 1-3.



**Gráfico 1-3.** Comportamiento de la Motilidad individual progresiva del semen criopreservado

Elaborado por: (Castro C,2022).

Al respecto Acevedo (2020, p. 25), manifiesta que en la producción comercial de semen bovino congelado, el número mínimo de espermatozoides por pajuela necesario para obtener la máxima fertilidad in vivo se ha establecido en 15 millones, con al menos el 50% de motilidad progresiva

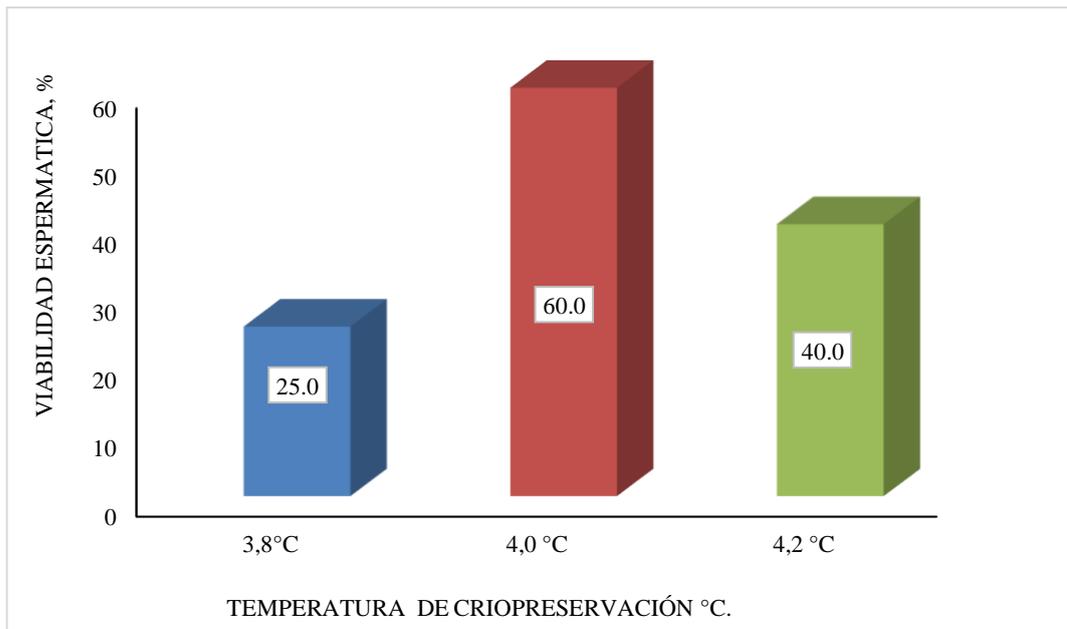
post descongelación, no obstante, las dosis seminales producidas por muchos centros de IA exceden este número mínimo establecido, intentando garantizar la presencia de al menos 10 millones de espermatozoides vivos y con motilidad progresiva en cada dosis seminal, una movilidad no progresiva y una rectitud espermática reducida son características de espermatozoides hiperactivados, esta progresividad, determinada por los valores de linealidad e índice de rectitud (STR), disminuye al favorecerse un mayor movimiento circular, sin embargo, in situ estas variables podrían cambiar y tender a aumentar porque las paredes acanaladas del oviducto limitaría el movimiento circular de los espermatozoides y podrían funcionar como una barrera biológica y de selección espermática y favorecer el movimiento progresivo lo que podría aumentar el índice de rectitud celular y esto se podría correlacionar con la fertilidad.

Las respuestas apreciadas en las muestras de la presente investigación son inferiores a las reportadas por Taípe (2019, p.64), quien al evaluar los promedios para motilidad (%) en el análisis y efectos de la suplementación mineral sobre la calidad seminal pre criopreservación, para la motilidad progresiva registro valores de 76,5%. Así como de Hernández (2019, p.64), quien al evaluar la motilidad del semen diluido de Bovinos Charolais evaluado con diferentes concentraciones de Trehalosa logró una media de  $70,38 \pm 4,26$  puntos sobre 100, identificando que al incrementar las concentraciones de Trehalosa la motilidad progresiva decrece.

De la misma manera Mancheno (2021, p.32), en su investigación determinó que la motilidad individual presentó diferencias estadísticas ( $P \geq 0,01$ ), con valores de 53,50 % y 41,16 % para el semen congelado y re congelado respectivamente indicando que la reducción de la motilidad espermática puede estar asociada a la lesión mitocondrial, pues es necesaria energía tanto para la motilidad como para la fertilización.

### ***3.2.2. Viabilidad espermática (%)***

Los resultados de la viabilidad espermática del semen bovino criopreservado a diferentes temperaturas reportaron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ), estableciéndose el porcentaje más alto y que fue del 60% en las muestras criopreservadas a  $4,0^{\circ}\text{C}$  (T2), descendiendo a 40% para el semen criopreservado a una temperatura de  $4,2^{\circ}\text{C}$  (T3), observándose los valores más bajos y que fueron del 25%, por efecto de la conservación las muestras a  $3,8^{\circ}\text{C}$  (T1), de temperatura, como se observa en el gráfico 2-3.



**Gráfico 2-3.** Comportamiento de la viabilidad espermática del semen bovino criopreservado

Elaborado por: (Castro C,2022).

Lo que puede estar relacionado con que la temperatura ejercida durante los procesos de criopreservación que genera diversas alteraciones que pueden disminuir la movilidad de los espermatozoides e incluso su calidad en general, sin embargo, se aprecia que la mejor temperatura para la criopreservación del semen bovino es a 4,0 °C.

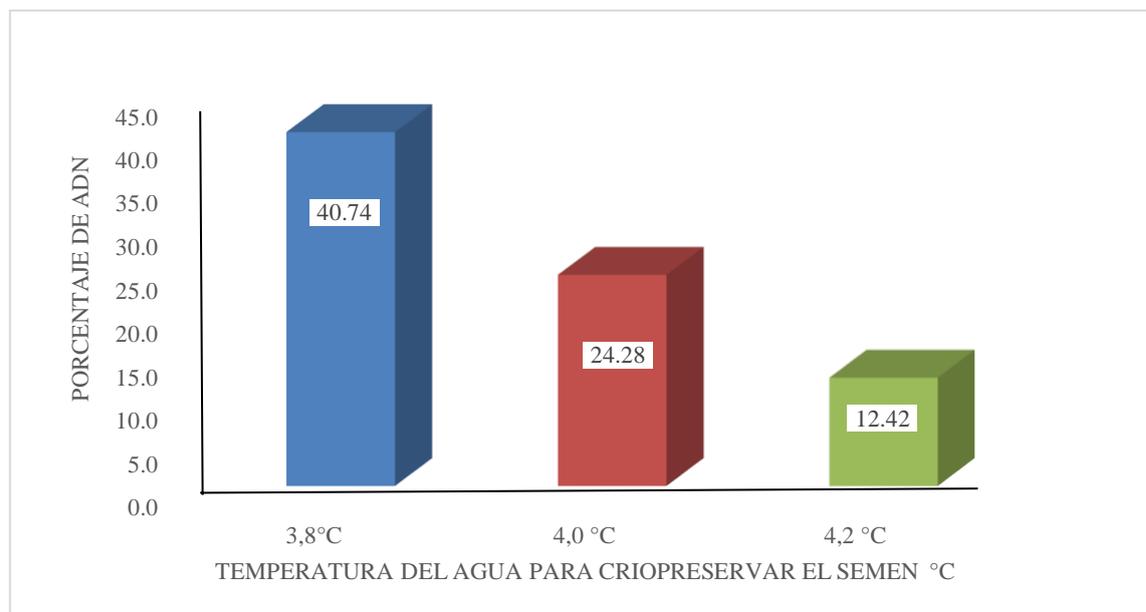
Al respecto Barrios (2020, p.23), manifiesta que la criopreservación tiene el propósito de garantizar la supervivencia del semen, cuando no está adecuadamente establecida la temperatura ideal para la conservación del semen causa daños irreversibles en la membrana plasmática, lo que conlleva la muerte de un gran número de espermatozoides o, en los supervivientes, cambios similares a los observados durante la capacitación espermática, que provoca un acortamiento de su período de vida útil. La rotura de la membrana plasmática está claramente asociada con la pérdida de viabilidad celular, pero una membrana plasmática intacta no siempre indica que la célula sea viable. El procesado del semen, incluida su criopreservación, es estresante para el espermatozoide y afecta, primeramente, a sus membranas. Los daños que pueden producirse en éstas pueden ser modificaciones en su organización, permeabilidad y composición lipídica. Las membranas espermáticas que pueden verse afectadas por la criopreservación incluyen la membrana, la membrana externa del acrosoma y las membranas mitocondriales.

Los resultados de la presente investigación son inferiores a los publicados por Mancheno (2021, pp.32-33), quien manifiesta que los resultados comparativos de las características microscópicas de semen bovino en los procesos pre congelación, post congelación con relación a la viabilidad

espermática presentaron diferencias significativas determinando el mayor porcentaje de viabilidad en el semen congelado puesto que los valores fueron de 89,49 % y el menor valor se registró en el semen recongelado con 81,01 %. lo que puede ser ocasionado por parámetros como la raza, edad del reproductor y principalmente el método utilizado. Por su parte, Barragan (2017, p. 10), quien reportó que los espermatozoides pre-congelados expusieron una supervivencia superior (88,8%), mientras que en los tejidos post-congelados existió un descenso del porcentaje de la viabilidad de células espermáticas (38,4%).

### 3.2.3. Daño en el paquete de ADN del espermatozoide (cromatina) (%)

En cuanto al análisis estadístico de la variable daño en el paquete de ADN del espermatozoide que contempla la integridad de la cromatina, se reportaron diferencias altamente significativas ( $P < 0.01$ ), entre las muestras de semen bovino del sector de Bucay, sometidas a tres curvas de temperatura de criopreservación, reportándose el mayor daño en el semen sometido a una temperatura de criopreservación de 3,8°C (T1), los cuales alcanzaron un promedio de 40.74%. Seguido de las muestras de semen criopreservado a 4,0°C (T2), ya que se encontró un promedio de 24.28%, evidenciándose el menor daño en las muestras de semen criopreservado a 4,2°C (T3); a los se le determinó un valor de 12.42%. Es decir, que a medida que se aumenta los grados de temperatura se genera un menor daño en el paquete de ADN de los espermatozoides, como se observa en el gráfico 3-3.



**Gráfico 3-3.** Comportamiento del daño en el paquete de ADN del espermatozoide (cromatina)

Elaborado por: (Castro C,2022).

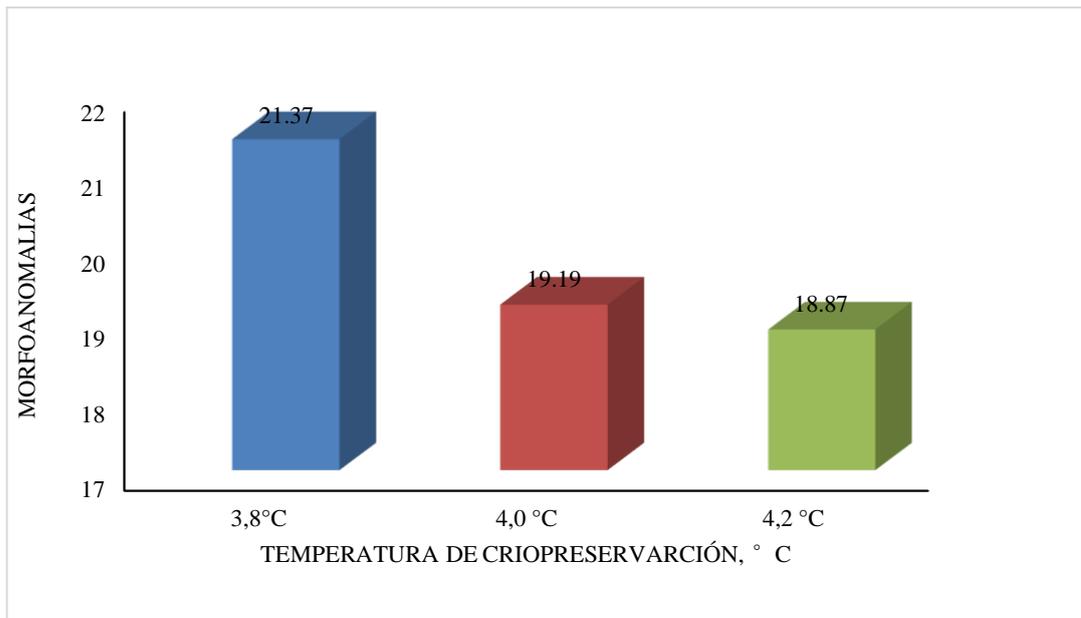
Al respecto Bastidas (2021, p.52), manifiesta que cuando se congela el semen, el espermatozoide sufre un deterioro en la membrana plasmática y acrosomal, provocado por alteraciones en su organización, fluidez, permeabilidad, composición lipídica y pérdida de algunas proteínas de la membrana como las enzimas responsables de la metabolización de las especies reactivas de oxígeno (ERO). Las especies reactivas de oxígeno son los responsables de las alteraciones estructurales y funcionales que sufre el espermatozoide como: daños colaterales a las proteínas y lípidos de la membrana alteran la integridad del ADN, el citoesqueleto y el axonema, e incrementa la peroxidación lipídica, produciendo espermatozoides morfológicamente alterados y sin movilidad, como preámbulo a una calidad espermática deficiente y su consecuente infertilidad.

Cuando se adiciona enzimas o sustancias antioxidantes, se observa: una menor producción de anión superóxido y peróxido de hidrógeno, inferior peroxidación de lípidos y un número reducido de células con fragmentación del ADN, así como un aumento significativo en la producción de espermatozoides, motilidad, viabilidad e integridad acrosomal, que afectan positivamente las características de calidad seminal y su capacidad de fertilización.

Los resultados de la presente investigación fueron superiores a los reportados en el estudio realizado por Mancheno (2021, p.35), quien al analizar el daño en el ADN mediante el proceso de fluorescencia con Naranja de Acridina los ensayos presentaron diferencias significativas de esta manera el mayor daño del ADN se observó en el semen congelado con un valor 8,74 %, y el menor daño lo reportó el semen recongelado con un valor de 1,07 %, al respecto, menciona que el acrosoma tiene varias regiones que son expuestas durante el proceso de refrigeración, congelación y descongelamiento; esto determinará en gran medida la capacidad fecundante que tiene el espermatozoide debido al daño que puede sufrir específicamente la cromatina, los resultados de su estudio son los primeros en sugerir un efecto favorable al usar la recongelación de espermatozoides reducir el daño del ADN espermático contenido en la cromatina.

#### **3.2.4. Morfoanomalías (%)**

En cuanto a la variable morfoanomalías de los espermatozoides las medias no reportaron diferencias estadísticas ( $P \leq 0.05$ ), siendo el menor porcentaje de espermatozoides anormales de 18,87%, para el semen criopreservado a una temperatura de 4,2°C y de 18,87% para el semen criopreservado a una temperatura de 4,0°C, observando que las mayores morfoanomalías se presentaron en las muestras criopreservado a 3,8°C con un promedio de 21,37%. Lo que confirma que mientras más elevada sea la temperatura criopreservación menor índice de espermatozoides anormales se encuentra, como se ilustra en el gráfico 4-3.



**Gráfico 4-3.** Comportamiento del porcentaje de morfoanomalías del espermatozoide

Elaborado por: (Castro C,2022).

Al respecto Ballina (2020, p.29), menciona que el análisis morfológico de los espermatozoides es uno de los principales componentes de la evaluación de las características de una muestra seminal, la valoración de la morfología del espermatozoide se basa en la relación directa que haya entre la proporción de espermatozoides anormales en el eyaculado, el tipo de defecto morfológico y su relación con la fertilidad *in vivo* de los toros, se evalúan daños en la cabeza, cuello o cola de la célula sexual, según el órgano donde pueden haberse generado se diferencia las anomalías primarias y secundarias. Si hay anormalidades primarias menores a 10 % y totales menores a 25 %, se considera un espermatozoide muy bueno; si las anormalidades primarias están entre 10 y 19 %, con un total inferior al 40 %, es bueno. Por el contrario, será regular si las anormalidades totales se ubican entre 40 y 59 %, y malo si supera este porcentaje.

Estos resultados de anomalías espermáticas son altos al ser comparados con los reportes de Hernández (2019, p.44), donde las anormalidades del espermatozoide en semen alcanzaron un promedio de 14,31 %, por lo cual expresa que, esto se deba a la manipulación del semen antes del proceso de congelación.

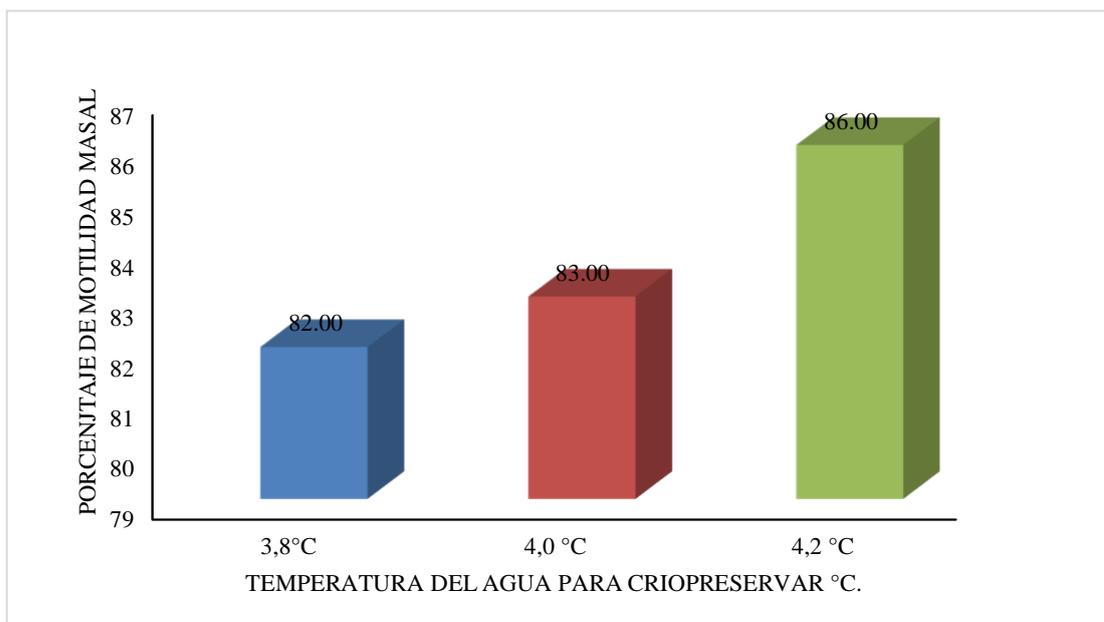
De la misma manera, son superiores a los encontrados por Marca (2019, p.25), quien identificó un porcentaje de morfoanomalías de 9,14% post congelación de semen de toro, manifestando que el intervalo de colección de semen es de importancia debido a que una alta frecuencia puede afectar la madurez de los espermatozoides. Otros aspectos de diferencia, tal vez se deba a los efectos de

clima, la dominancia, edad, estación, raza, tipo de alojamiento o la alimentación, entre otras causas pueden condicionar la calidad del esperma.

Según Mancheno (2021, p.55) el mayor porcentaje de morfoanomalías observadas se reportó en el semen congelado con valores promedio de 4,96 %; mientras que, el menor valor lo registró en el semen recongelado con 1,89 % de morfoanomalías. Los valores en la recongelación probablemente están atribuidos a que un menor daño en la célula espermática es consecuencia de haber tenido un menor sufrimiento durante el proceso de recongelación, aumentando consecuentemente la presencia de espermatozoides normales. Además, se puede mencionar que al momento de realizar la recongelación se realizó una selección de los mejores espermatozoides para usarlos en este proceso.

### 3.2.5. *Motilidad masal (%)*

Al determinar la motilidad masal del semen bovino por efecto de tres curvas de temperatura en el proceso de criopreservación no se presentaron diferencias estadísticas ( $P \geq 0.05$ ), sin embargo de carácter numérico se observa que las muestras de semen criopreservadas a una temperatura de 4,2°C (T3), obtuvieron la mayor motilidad que fue de 86%, valor que descendió a 83% en las muestras criopreservadas a 4,0°C (T2), alcanzando un valor similar las muestras de semen en las que se criopreservó a 3,8°C (T1), con una calificación de 82%, como se ilustra en el gráfico 5-3.



**Gráfico 5-3.** Comportamiento del porcentaje de motilidad masal del espermatozoide

Elaborado por: (Castro C,2022).

Lo que demuestra que a mayor curva de temperatura de criopreservación, los espermatozoides presentan mayor movilidad, lo cual representa una mejora para la tasa de fertilización, lo que es corroborado con las afirmaciones de Cárdenas (2017, p.44), quien manifiesta que la estructura y composición de las membranas plasmáticas determinan los principales cambios celulares que se obtienen durante los procesos de criopreservación de semen; el cambio brusco de temperatura afecta la difusión y ósmosis a través de las membranas y cada célula tiene su propio perfil biofísico el cual interactúa con diferentes criopreservantes celulares.

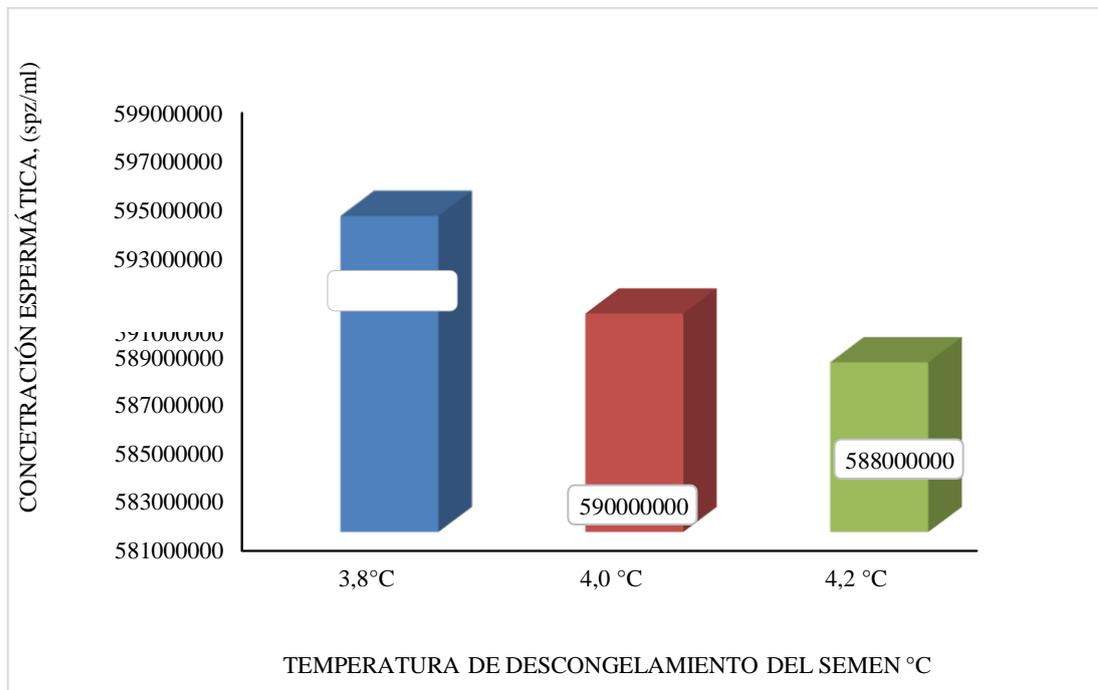
La motilidad masal se indica de la siguiente forma: el semen muy bueno tendrá ondas oscuras marcadas con rápido movimiento; el semen bueno tendrá ondas menos oscuras con movimiento moderado; el regular, ondas claras con movimiento muy ligero, y con el malo no habrá ondas y los espermatozoides se observan inmóviles. Con este tipo de análisis se espera obtener medidas correctas de la motilidad espermática que proporcionen información precisa acerca del estado funcional del axonema y de las membranas espermáticas. Los parámetros determinados para cada espermatozoide son la velocidad de movimiento sobre la base de varios descriptores, las trayectorias que realiza la cabeza del espermatozoide y la frecuencia de los cambios de dirección que efectúa.

Una respuesta inferior a la encontrada en la presente investigación se observa en la investigación de Pérez (2020, p.55), quien al realizar una comparación entre la media del semen criopreservado con la curva No. 1 vs. la media del semen criopreservado con la curva No. 2, determinó que el promedio de motilidad total post descongelación de la curva No. 1 fue del 80.8 %, mientras que para la curva No. 2 fue de 54.6 %, observándose que la motilidad total post descongelación fue superior con aplicación de la curva No. 1, demostrando que la temperatura final de congelación da mejores resultados y que las velocidades muy rápidas durante la preservación seminal disminuyen la motilidad, debido de que de la velocidad depende si las células permanecen en equilibrio con su entorno extracelular o si forman hielo intracelular.

Por otra parte, Taipe (2019, p.52), reporta que el porcentaje de motilidad masal cuando se suplementó mezcla mineral no se reportó diferencias estadísticas entre los tratamientos donde el mayor porcentaje fue de 76,6%; por lo que expresa que la deficiencia de minerales está relacionada con el deterioro en el comportamiento reproductivo de los animales. El tejido reproductor masculino requiere un nivel óptimo de selenio (Se), una pequeña desviación (deficiencia o exceso) puede, reducir la motilidad y la vitalidad, que a su vez afecta a la calidad del semen.

### 3.2.6. Concentración espermática, (spz/ml)

En el análisis de concentración espermática del semen bovino criopreservado con tres curvas de temperatura, no se presentaron diferencias estadísticas ( $P \geq 0.05$ ), estimándose la concentración más alta en las muestras sometidas a 3.8°C de temperatura de criopreservación con medias de 594000000 spz/ml, seguida de las medias determinadas para las muestras tratadas a una temperatura de 4°C con un promedio de 590000000 spz/ml. En último lugar se ubican los valores más bajos que fueron establecidos para las muestras evaluadas a una temperatura de 4,2°C cuya concentración alcanzó un valor de 588000000 spz/ml, como se ilustra en el gráfico 6-3. Con lo cual se puede afirmar que a menor temperatura el semen obtiene una mejor concentración espermática, siendo uno de los parámetros más importantes en la valuación de la fertilidad.



**Gráfico 6-3.** Comportamiento de la concentración espermática

Elaborado por: (Castro C,2022).

Al respecto Barrios (2020, p.39), indica que cuando se quiere evaluar el semen hay que tener en cuenta que no existe ningún examen in vitro que esté altamente correlacionado con la fertilidad. Existen sí diversas pruebas de laboratorio para “estimar” la calidad del semen que es extremadamente útiles si son realizadas correctamente e interpretadas con criterio. La concentración es un parámetro importante en la evaluación espermática, ya que existe una elevada correlación significativa entre el número de espermatozoides inseminados y la fertilidad del toro.

En este punto se debe señalar que existe gran variabilidad en la concentración de un eyaculado a otro, y de un toro a otro, siendo importante conocer el número de espermatozoides por eyaculado, ya que de este parámetro depende el número de hembras por inseminar. La concentración de los espermatozoides se expresa como el número de espermatozoides/ml de semen.

El método más preciso para evaluar la concentración espermática del eyaculado es el recuento de espermatozoides en un hemocitómetro, este método es de uso rutinario para centros de IA, donde cada día se evalúan un gran número de eyaculados y es necesario agilizar el trabajo, se hace laborioso y el cual también requiere de tiempo.

Los resultados obtenidos en la presente investigación, guardan relación con la valoración realizada por Hernandez (2019, p.44), debido a que la concentración espermática por ml, alcanzó una media de  $650,00 \pm 380,00 \times 10^6$  espermatozoides/ml valores que se encuentran dentro de los rangos permitidos de espermatozoides, esto se puede deber a la calidad de semen que se utilizó antes de la congelación, tomando en cuenta que es suficiente cinco millones de espermatozoides por pajueta para que sea viable.

De igual manera González (2018, p.25), al determinar la calidad del semen post refrigeración a distintos tiempos de evaluación, reportó una concentración espermática de 56,2 a  $69 \times 10^9$  espz/ml, los resultados evidenciaron que no hay diferencia estadística significativa entre métodos de recolección espermática sobre concentración espermática. A pesar de esto, indica que los espermatozoides del epidídimo, después de la refrigeración se comportan de la misma manera que los eyaculados.

### **3.3. Análisis económico**

En la tabla 3-3 se detalla los costos unitarios y totales de cada uno de rubros utilizados para la criopreservación del semen bovino que se realizó en la Hacienda la Victoria, determinándose que el costo unitario del experimento fue de \$ 47,88; mientras que, el costo total de los materiales fue de 147,63 USD.

El manejo reproductivo es uno de los factores que mayor impacto tienen sobre la productividad y eficiencia económica en el sistema de producción de ganado tanto de carne como hatos lecheros, el cálculo de los costos de producción es necesario para la toma de decisiones y la planeación a futuro de la unidad de producción.

**Tabla 3-3:** Costos de criopreservación del semen bovino

MATERIALES	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO UNITARIO	TOTAL
Agua bidestilada	ml	11,5	0,29	2,95
Alcohol poli vinílico	g	10	0,18	1,8
Nitrógeno liquido	kg	22	2,5	55
Papel aluminio	U	1	2,5	2,5
Guantes ginecológicos	U	3	0,5	1,5
Guantes látex	U	2	0,25	0,5
Toallas desechables	U	1	3,9	3,9
Cinta métrica	U	1	3,25	3,25
Placa portaobjetos	U	1	1,65	1,65
Placa cubreobjetos	U	1	1,65	1,65
Caja petri	U	1	13,3	13,3
Vasos de precipitación	U	3	5,9	17,7
Balón volumétrico de 100 ml	U	1	7,15	7,15
Pipetas	U	16	0,15	2,4
Papel absorbente	U	1	1,5	1,5
Diluyente Optixcell	ml	20	1,25	25
Naranja de acridina	ml	3	1,96	5,88
<b>TOTAL</b>			<b>47,88</b>	<b>147,63</b>

Elaborado por: (Castro C,2022).

Con el fin de obtener beneficios económicos, el productor, debe vender sus productos a un precio superior a sus costos de producción. por lo que es de suma importancia realizar el cálculo de los mismos para poder determinar la rentabilidad de su unidad de producción, donde se incluyan todos los costos, incluyendo los fijos y variables como implementos de seguridad y protocolo, para contar con un cálculo real, que nos lleve a conocer el costo de cada pajueta y ubicar este precio con su margen de utilidad en el mercado.

## CONCLUSIÓN

- Los resultados obtenidos en la valoración espermática del semen antes de la congelación mostraron un color blanco lechoso, en el caso del olor del semen fresco se identificó en general un olor neutro, mientras que para el volumen los valores fueron de 13 ml. Y finalmente el semen presentó un pH de 7, por lo cual se considera que estos animales son aptos para la colecta de muestras.
- De acuerdo con el análisis realizado se obtuvo resultados óptimos de motilidad individual progresiva y viabilidad espermática en las muestras de semen enfriado a una temperatura de 4,0°C, presentando diferencias significativas entre las muestras evaluadas, además permite identificar y eliminar aquellos animales que puedan presentar problemas de infertilidad y seleccionar los mejores bovinos para los programas reproductivos.
- En relación al daño en el paquete de ADN se obtuvo los mejores resultados numéricamente en el semen sometido a mayor temperatura del agua, es decir a 4,2°C, y en la concentración espermática se reportó que la temperatura óptima es de 3,8°C, indicando que, esta curva de temperatura cumple con los parámetros esperados para criopreservar el semen bovino
- Por otra parte, tanto las morfoanomalías como la motilidad masal, los resultados no presentaron diferencias significativas, mostrando que al criopreservar el semen bovino a una temperatura de 4,2°C se alcanza un menor índice de morfoanomalías, así como a dicha temperatura los espermatozoides presentaron mayor movilidad.
- En el presente estudio se observó que los costos totales de la crio preservación de semen según los rubros utilizados constituyen un total de 147,63 USD, siendo esta información será de gran importancia para la toma de decisiones dentro de la unidad de producción pecuaria.

## **RECOMENDACIONES**

- Tener en cuenta las curvas de temperaturas especificadas en los diferentes procedimientos para criopreservar el semen bovino debido a que si se producen buenos resultados finales.
- Emplear nuevas tecnologías buscando el mejoramiento de los sistemas de producción bovina, así como también la expansión de genética de buena calidad buscando mantener siempre unos pilares reproductivos óptimos.
- Realizar futuras investigaciones, sobre criopreservación, con el propósito de disminuir la muerte celular e infertilidad y de esta manera garantizar la supervivencia de los espermatozoides debido a que, los espermatozoides resisten de manera diferente los efectos detrimentales de la criopreservación.

## BIBLIOGRAFÍA

**ACEVEDO, Carlos.** *Evaluación de la aptitud reproductiva en toros de la ganadería Maracaibo de la raza brahmán y sus cruces.* [En línea]. Trabajo de titulación para obtener el título de Médico Veterinario y Zootecnista Universidad Cooperativa de Colombia . 2020. Disponible en: [https://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/20473/1/2020\\_evaluacion\\_aptitud\\_reproductiva.pdf](https://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/20473/1/2020_evaluacion_aptitud_reproductiva.pdf)

**BALLINA, Abelardo.** Manejo Sanitario Eficiente del Ganado bovino. [En línea] 2020. Disponible en: [https://www.academia.edu/17666282/Manejo\\_sanitaria\\_eficiente\\_del\\_ganado\\_bovino\\_principales\\_enfermedades](https://www.academia.edu/17666282/Manejo_sanitaria_eficiente_del_ganado_bovino_principales_enfermedades).

**BARRAGAN, Idelmar.** *Evaluación del efecto crioprotector de diferentes fuentes de antioxidantes en el semen bovino.* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador : ESPOCH, 2017. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/7153>

**BARRIOS, Diego.** *Evaluación de la calidad y capacidad fecundante de espermatozoides de la cola del epidídimo de toros post-mortem.* Facultad de Ciencias Veterinarias , Universidad Central de Venezuela. Trujillo. 2020. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-61322018000100059](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322018000100059)

**BARTH, et al.** *Fisiología de la Reproducción del Toro y Evaluación de la Capacidad Reproductiva.* [En línea] 2019. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5178282.pdf>.

**BASTIDAS, Pedro.** *Evaluación morfológica cuantitativa de la espermatogénesis en bovinos de raza brahmán durante el período prepupal.* Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela. Maracay :, 2021. Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Pedro-Aponte-3/publication/48360962\\_EVALUACION\\_MORFOLOGICA\\_CUANTITATIVA\\_DEL\\_EPITELIO\\_SEMINIFERO\\_EN\\_BOVINOS\\_DE\\_RAZA\\_BRAHMAN\\_DURANTE\\_EL\\_PERIODO\\_PREPUBERAL/links/58ecfd6fdcc6855cb7bd3/EVALUACION-MORFOLOGICA-CUANTITATIVA-DEL-EPITELIO-SEMINIFERO-EN-BOVINOS-DE-RAZA-BRAHMAN-DURANTE-EL-PERIODO-PREPUBERAL.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Pedro-Aponte-3/publication/48360962_EVALUACION_MORFOLOGICA_CUANTITATIVA_DEL_EPITELIO_SEMINIFERO_EN_BOVINOS_DE_RAZA_BRAHMAN_DURANTE_EL_PERIODO_PREPUBERAL/links/58ecfd6fdcc6855cb7bd3/EVALUACION-MORFOLOGICA-CUANTITATIVA-DEL-EPITELIO-SEMINIFERO-EN-BOVINOS-DE-RAZA-BRAHMAN-DURANTE-EL-PERIODO-PREPUBERAL.pdf)

**BAVERA, Guillermo.** Razas bovinas y bufalinas de la Argentina. [ed.] Rio Cuarto. Segunda edicion. . Córdoba, España : Imberti-Bavera, 2019.

**BOGGIO, Juan** *Evaluación de la Aptitud Reproductiva Potencial y Funcional del Toro.* Instituto de Reproducción Animal, Universidad Austral de Chile. Chile. 2017. Disponible en: [http://www.biblioteca.uach.cl/biblioteca\\_virtual/libros/2007/636.20824BOG.pdf](http://www.biblioteca.uach.cl/biblioteca_virtual/libros/2007/636.20824BOG.pdf)

**BRITO, Damian.** *Evaluación cuali-cuantitativa de semen colectado con electroeyaculador (EE) de toros tratados con y sin tranquilizante.* Cuenca, Universidad de Cuenca : Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/27044/1/TESIS%20FINAL%20BRITO-%20REINOSO%20.pdf.pdf>, 2017.

**CABRERA, Marcelo.** *Viabilidad espermática e integridad del acrosoma en semen congelado de toros nacionales.* [En línea] Junio de 2012. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172012000200009](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172012000200009).

**CARBALLO, et al.** Avances en la investigación agrícola, pecuaria, forestal y acuícola en el trópico Mexicano. *Comparación de dos diluyentes comerciales para criopreservar semen bovino bajo condiciones de campo en el trópico húmedo.* [En línea] Universidad Veracruzana de 2017. Disponible en: <https://www.uv.mx/veracruz/cienciaanimal/files/2013/11/Comparacion-de-dos-diluyentes-comerciales-para-preservar-semen-bovino.pdf>.

**CÁRDENAS, Joaquin.** *Evaluación de dos agentes crioprotectores no permeables y un diluyente comercial (Triladyl) en la congelación de semen bovino.* Cuenca, Universidad de Cuenca : Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4535/1/Tesis.pdf>, 2017.

**ELGUETA, Constanza.** *Actualización en técnicas de criopreservación de espermatozoides equinos.* [En línea] 2021. Disponible en: <https://repositorio.udla.cl/xmlui/bitstream/handle/udla/282/a41740.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**ESCAMILLA, Anderson.** *Metodos de extraccion del semen bovino.* [En línea] 2005. Disponible en:

<http://www.repositorio.usac.edu.gt/5404/1/Tesis%20Med.%20Vet.%20Ana%20Ruby%20Escamilla.pdf>.

**ESPINOZA, Federico.** *Toros raza cebu: Características, cruces y todo lo que deberías saber.* [En línea] 2020. Disponible en:  
<https://ganaderia.win/toros-raza-cebu/>.

**FISCHMAN, Marcoti & GONZALES, Estuart.** Evaluación integral de la calidad seminal bovina: Evaluación integral de la calidad seminal bovina:. [En línea] 2019. Disponible en:  
<https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/2453/10603-27971-1-PB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**FLORES, Alejandra.** *Espermatogénesis in vitro en bovinos.* [ En línea] [ Tesis de Grados/ Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad de San Francisco de Quito. Quito :, 2019. Disponible en:  
<https://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/8361>

**GHADIR, Bustani,.** *Diluyentes de semen: una descripción general evaluativa de los mecanismos de conservación del semen y los diluyentes de semen.* [En línea] 2019. . Disponible en:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8243668/#:~:text=Several%20commercial%20extenders%20are%20used,French%20AI%20centers%20%5B76%5D..>

**GÓMEZ, Melizza & MIGLIORISI, Anderson..** Protocolo para la evaluación de semen en rumiantes. Sitio Argentino de Producción Animal. [En línea] 2019. Disponible en:  
[http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/cria\\_toros/49-ProtocoloEvalSemen.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria_toros/49-ProtocoloEvalSemen.pdf).

**GÓNGORA, Astoria & VILLAMIL, Leonardo & VERA, Vicente & RAMÍREZ, Geoconda.** *Diagnóstico de las principales enfermedades reproductivas en toros de la sabana de Bogotá. Énfasis en rinotraqueitis infecciosa bovina (RIB).* 2020. Disponible en:  
<https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/51721>

**GONZÁLEZ, Edgar.** *Evaluación comparativa de dos métodos de recuperación espermática de epidídimos bovinos post-mortem.* [En línea] Abril de 2018. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2448-61322018000100059&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2448-61322018000100059&script=sci_arttext).

**GUERRERO, German.** *Sistemas de recolección de semen bovino.* [En línea] 2019. Disponible en:

<https://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/63/1/35-%28499-14%29manual%20de%20procedimientos%20para%20la%20colecta%20y%20criopreservacion%20de%20semen%20bovino%20para%20la%20empresa%20santa%20clara%20genetica%20es%20tado%20parana%20-brasil..pdf>.

**HAFEZ, Ester & HAFEZ, Bernardo.** *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales.* Tercera edición. México DF. - México : Interamericana, 2020.

**HERITIER, Jorge Melchor..** *Especialización en gestión de la producción bovina de carne en la región semiárida central.* Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Pampa. General Pico, Argentina : s.n., 2019. Disponible:

[http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/rdata/tespo/v\\_hercar717.pdf](http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/rdata/tespo/v_hercar717.pdf)

**HERNÁNDEZ, Yesenia.** *Crio-preservación y viabilidad espermaática del semen de bovinos charolais post-descongelación con diferentes concentraciones de Trehalosa.* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador : 2019. Disponible en:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/13316/1/17T01588.pdf>.

**HIDALGO, Carlos.** Análisis del semen bovino. [En línea] 2019. Disponible en:

<http://www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=1495>.

**HOLT, Walter.** Aspectos básicos del almacenamiento congelado de semen. [En línea]: 2021. Disponible en:

<https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.translate.goog/10924818/>.

**ÍÑIGUEZ, Cesar & REINOSO, Nadia & GALARZA, Damian..** *Efecto de un tranquilizante sobre las características seminales de toros colectados con electroeyaculador.* [En línea] 2017. Disponible en:

<https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/1504/0>.

**JACINTO, Eddy.** *Efecto de la remoción parcial del plasma seminal antes y postcongelación sobre la viabilidad del semen bovino (Bos taurus) en la estación experimental de Choquenaira.* Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia : 2020. Disponible en:

<https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/25320/T-2789.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

**LOZANO, Hamilton.** Factores que afectan la calidad seminal en toros. [En línea] 2019.

Disponibile en:

<https://www.redalyc.org/pdf/4076/407639221010.pdf>.

**MANCHENO, Carlos** *Recongelación de espermatozoides bovinos como alternativa para mejorar la calidad espermática de semen descongelado.* Escuela Superior Politécnica de

Chimborazo . Riobamba, Chimborazo : 2021. Disponible en:

<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/14669?mode=full>

**MEDINA, et al.** *Crioconservación de semen bovino usando un congelador programable (CL-8800) y determinación de su calidad postdescongelación por medio de análisis espermático asistido por computador (CASA).*. 2007, Revista Orinoquia , Disponible en:

<https://www.redalyc.org/pdf/896/89611108.pdf>

**MARAVÍ, César.** *Efecto de dos dilutores de criopreservación en las características microscópicas del espermatozoide Post descongelamiento, de reproductores bovinos de las razas Simmental, Aberdeen, Angus, Jersey y Brangus.* Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Chachapoyas, Perú : 2019. Disponible en:

**MARCA, Percy.** *Colorantes Diff-Quik y Eosina-Nigrosina en la evaluación morfológica de espermatozoides antes y después de la morfológica de espermatozoides antes y después de la morfológica de espermatozoides antes y después de la criopreservación del semen del toro Holst.* Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apueimac, Abancay, Perú : 2019. Disponible en:

**MAURAT, Edwin.** *Valoración de la calidad seminal en toros charoláis de la provincia de Morona Santiago.* [En línea] 2021. Disponible en:

<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/7398374.pdf>.

**MONCAYO, Stephanie.** *Evaluación de la calidad seminal de reproductores bovinos antes y después del proceso de criopreservación.* Universidad Politécnica Salesian de Quito, Quito, Pichincha, Ecuador : 2016.

**MUIÑO, Rodrigo.** *Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas casa y citometría de flujo: identificación de subpoblaciones espermáticas.* Departamento de Patología Animal, Universidad de Santiago de Compostela . España : s.n., 2019.

**PASCUAL, Ignacio.** Reproducción Animal. [En línea] 2020. Disponible en:  
[https://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/inseminacion\\_artificial/186-reprod\\_compendio.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/186-reprod_compendio.pdf).

**PÉREZ, Federica & PÉREZ, Fabian.** *Inseminación Artificial y Trasplante de Embriones.* Barcelona, España. : Editotial Cientifico Médica, 2019.

**PÉREZ, lucía.** *Evaluación de dos curvas de congelación programables en la Criopreservación de semen ovino en el Centro Experimental Uyumbicho.* Universidad Central Del Ecuador, Quito, Pichincha, Ecuador : 2020.

**RIVERA, Hermelinda.** *Evolución del conocimiento sobre la enfermedad de la diarrea viral bovina y su agente etiológico.* [En línea] 2020. Disponible en:  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172008000200001](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172008000200001).

**ROMÁN, Arieta.** *Métodos de Extracción de Semen Bovino.* REDVET. [En línea] 2019. Disponible en:  
<https://www.redalyc.org/pdf/636/63633881001.pdf>.

**STORNELLI, María & SOT, Rodolfo.** *Manual de reproducción de animales de producción y compañía.* Universidad Nacional de la Plata. Argentina : Edule, 2020.

**TAIPE, María.** Los minerales y su efecto en la calidad seminal bovina pre y pos criopreservado. Vol. 3 No 1 de 2019 de Revista Ecuatoriana de Ciencia Animal, ISSN 2602-8220. [En línea] 2019. [Citado el: 27 de 02 de 2021.] [111-1-353-1-10-20190605.pdf](https://doi.org/10.1111-1-353-1-10-20190605.pdf).

**VENDRELL, José.** *Patrones Espermatogénicos Basales y Desarrollo Embrionario Temprano tras ICSI en Oligoastenozoospermia Secretora Severa.* Barcelona : s.n., 2021. págs. 12-13.

**VILLAMIZAR, Elkin.** *Manual para la evaluación andrológica de toros de la raza Brahman y Guzerat de la Empresa Agropecuaria Bukaru.* Universidad Cooperativa de Colombia. Colombia : , 2021. Disponible en:

<https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5178282.pdf>

**WENDEE, Loenardo.** *Effect of semen parameters of bovine spermatozoa after using a contemporary collecting receptacle.* 2021. Disponible en:  
<http://hdl.handle.net/2346/17079>, USA : Texas University, 2021.

  
Ing. Cristian Castillo



## ANEXOS

### ANEXO A: MOTILIDAD INDIVIDUAL PROGRESIVA

#### RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tratamientos	Repeticiones					SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV	V		
3,8 °C	25	35	30	25	35	150	30
4,0°C	50	45	55	40	60	250	50
4,2°C	30	35	45	25	40	175	35
Promedio general							38,33
Coefficiente de variación (CV)							18,45

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

F.V.	S.C.	gl	CM	F	P-valor
Tratamiento	1083,33	2	541,67	10,83	0,002
Error	600,00	12	50,00		
Total	1683,33	14	120,24		

#### PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY ( $P \leq 0,05$ )

Tratamientos	Medias	n	E.E.	Rango
3,8 °C	30	5	3,16	b
4,0°C	35	5	3,16	b
4,2°C	50	5	3,16	a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

### ANEXO B: VIABILIDAD ESPERMÁTICA

#### RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tratamientos	Repeticiones					SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV	V		
3,8 °C	3,8	30	20	30	25	20	25
4,0°C	4,0	70	60	55	50	65	60
4,2°C	4,2	45	40	45	35	35	40
Promedio general							41,67
Coefficiente de variación (CV)							14,70

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

F.V.	S.C.	gl	CM	F	P-valor
Tratamiento	3083,33	2	1541,67	41,11	0,0001
Error	450,00	12	37,50		
Total	3533,33	14	252,38		

### PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY ( $P \leq 0,05$ )

Tratamientos	Medias	n	E.E.	Rango
3,8 °C	25	5	2,74	a
4,0°C	60	5	2,74	c
4,2°C	40	5	2,74	b
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )				

### ANEXO C: DAÑO EN EL PAQUETE DE ADN DEL ESPERMATOZOIDE (CROMATINA) POST CONGELACIÓN

#### RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tratamientos	Repeticiones					SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV	V		
3,8 °C	40,4	40,4	42,7	41,8	39	203,7	20,74
4,0°C	25,39	25,39	23,11	23,59	25	121,38	24,28
4,2°C	13,8	11,4	12	12,8	12,13	62,13	12,42
Promedio general							25,81
Coefficiente de variación (CV)							2,30

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

F.V.	S.C.	gl	CM	F	P-valor
Tratamiento	2021,95	2	1010,97	761,23	0,0001
Error	15,94	12	1,33		
Total	2037,88	14	145,56		

### PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY ( $P \leq 0,05$ )

Tratamientos	Medias	n	E.E.	Rango
3,8 °C	40,74	5	0,76	c
4,0°C	24,28	5	0,76	b
4,2°C	12,42	5	0,76	a
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )				

### ANEXO D: MORFOANOMALIAS DEL SEMEN POST CONGELACIÓN

## RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tratamientos	Repeticiones					SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV	V		
3,8 °C	16,00	33,33	20,69	21,21	15,63	106,86	21,3720219
4,0°C	16,00	19,23	22,73	22,22	15,79	95,97	19,1939476
4,2°C	19,05	18,18	22,73	18,75	15,63	94,33	18,866342
Promedio general							19,81
Coefficiente de variación (CV)							24,16

## ANÁLISIS DE VARIANZA

F.V.	S.C.	gl	CM	F	P-valor
Tratamiento	18,55	2	9,27	0,40	0,6759
Error	274,83	12	22,90		
Total	293,38	14	20,96		

## PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P≤0,05)

Tratamientos	Medias	n	E.E.	Rango
3,8 °C	21,37	5	2,14	a
4,0°C	19,19	5	2,14	a
4,2°C	18,87	5	2,14	a
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)				

## ANEXO E: MOTILIDAD MASAL DEL SEMEN POST CONGELACIÓN

### RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tratamientos	Repeticiones					SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV	V		
3,8 °C	85,00	85,00	75,00	85,00	80,00	410	82
4,0°C	85,00	80,00	90,00	85,00	75,00	415	83
4,2°C	90,00	85,00	85,00	85,00	85,00	430	86
Promedio general							83,67
Coefficiente de variación (CV)							5,23

## ANÁLISIS DE VARIANZA

F.V.	S.C.	gl	CM	F	P-valor
Tratamiento	43,33	2	21,67	1,13	0,3550
Error	230,00	12	19,17		
Total	273,33	14	19,52		

## PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY (P≤0,05)

Tratamientos	Medias	n	E.E.	Rango
3,8 °C	82	5	1,96	a
4,0°C	83	5	1,96	a
4,2°C	86	5	1,96	a
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )				

**ANEXO F:: CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA DEL SEMEN POST CONGELACIÓN  
RESULTADOS EXPERIMENTALES**

Tratamientos	Repeticiones					SUMA	PROMEDIO
	I	II	III	IV	V		
3,8 °C	6,00E+08	5,90E+08	6,00E+08	5,80E+08	6,00E+08	2,97E+09	5,94E+08
4,0°C	5,90E+08	6,00E+08	5,80E+08	6,00E+08	5,80E+08	2,95E+09	5,90E+08
4,2°C	6,00E+08	5,80E+08	5,70E+08	5,90E+08	6,00E+08	2,94E+09	5,88E+08
Promedio general							5,91E+08
Coeficiente de variación (CV)							1,83

**ANÁLISIS DE VARIANZA**

F.V.	S.C.	gl	CM	F	P-valor
Tratamiento	9,33E+13	2	4,67E+13	0,40	0,6789
Error	1,40E+15	12	1,17E+14		
Total	1,49E+15	14	1,07E+14		

**PRUEBA DE SEPARACIÓN DE MEDIAS SEGÚN TUKEY ( $P \leq 0,05$ )**

Tratamientos	Medias	n	E.E.	Rango
3,8 °C	594000000	5	4830458,92	a
4,0°C	590000000	5	4830458,92	a
4,2°C	588000000	5	4830458,92	a
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )				

**ANEXO G: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL VOLUMEN DEL EYACULADO**

N°	Volumen (ml)	Estadísticos	Volumen
1	14	Media	13
2	12	Error típico	0,4
3	14	Mediana	13
4	13	Moda	14
5	12	Desviación estándar	1
	13	Varianza de la muestra	1
		Curtosis	-3
		Coefficiente de asimetría	0
		Rango	2
		Mínimo	12
		Máximo	14
		Suma	65
		Cuenta	5

**ANEXO H: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA DEL PH DEL EYACULADO**

N°	pH	Estadísticos	pH
1	7	Media	7
2	6	Error típico	0,4
3	8	Mediana	7
4	6	Moda	6
5	8	Desviación estándar	1
	7	Varianza de la muestra	1
		Curtosis	-3
		Coefficiente de asimetría	0
		Rango	2
		Mínimo	6
		Máximo	8
		Suma	35
		Cuenta	5



epoch

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 24/ 06 / 2022

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Walter Cristhian Castro Carrasco
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias Pecuarias
<b>Carrera:</b> Zootecnia
<b>Título a optar:</b> Ingeniero Zootecnista
<b>f. responsable:</b> Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz



  
D.F.R.A.I.  
Ing. Cristhian Fernando Castillo

1221-DBRA-UTP-2022