

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS CARRERA ZOOTECNIA

"DETERMINACIÓN DEL DAÑO EN EL ADN ESPERMÁTICO DE SEMEN PORCINO DILUIDO CON DIFERENTES NIVELES DE AGUA DE COCO"

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Previa a la obtención del título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

AUTOR: ANDRÉS FABRICIO OCAÑA HERRERA

> RIOBAMBA – ECUADOR 2024

© 2023, Andrés Fabricio Ocaña Herrera

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

Yo, Andrés Fabricio Ocaña Herrera, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular

es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que

provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de

Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de

Chimborazo.

Riobamba, 30 de Enero del 2024

Andrés Fabricio Ocaña Herrera

CI: 2100907340

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZOFACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS CARRERA ZOOTECNIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental; "DETERMINACIÓN DEL DAÑO EN EL ADN ESPERMÁTICO DE SEMEN PORCINO DILUIDO CON DIFERENTES NIVELES DE AGUA DE COCO" tipo: Trabajo

Experimental, realizado por el señor: ANDRÉS FABRICIO OCAÑA HERRERA, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Paula Alexandra Toalombo Vargas PRESIDENTE DEL TRIBUNAL	Baret Contact &	30-01-2024
Ing. Carlos Andrés Mancheno Herrera DIRECTOR DEL TRABAJO DE	Mouchew H	30-01-2024
Dr. Antonio Nelson Duchi Duchi ASESOR DEL TRABAJO DE	Hugher aku	30-01-2024
INTEGRACIÓN CURRICULAR		

DEDICATORIA

Este logro se lo dedico a Dios, por cuidarme y guiarme en cada etapa de mi vida por darme fuerzas para seguir adelante y no desmayar en el camino y enfrentar las dificultades que se me han presentado en la vida.

A mis padres que han sido el motor de mi educación, inspiración en mis estudios y en mi vida, son merecedores de mi respeto y admiración a ellos que me brindaron fuerzas, oraciones, consejos y ayuda en los momentos más difíciles por siempre estar en las buenas y en las malas LOS AMO PADRES.

A mi hermano mayor por siempre apoyarme y darme fuerzas en mis estudios siendo mi inspiración en mis estudios, gracias por ser un buen hermano.

A mi familia Ocaña Herrera por siempre darme fuerzas, apoyo y oraciones cuando más lo necesitaba, siendo una familia unida.

A mis abuelitos María Rojas y José Herrera por ser mi fuente de inspiración por los animales son ellos merecedores de mi respeto y admiración por siempre darme su bendición y oraciones. A usted amor gracias por apoyarme y acompañarme en este camino muy difícil, por estar en las buenas y en las malas, cuando más necesitaba tu apoyo gracias por todo

Andrés

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo que me dio la oportunidad de una educación superior de muy alta calidad y en la cual estoy culminando mi Carrera con conocimientos profesionales.

A todos mis maestros de Carrera que me ayudaron con sus enseñanzas, responsabilidades y sobre todo sabiduría para alcanzar nuestras metas.

Al Ingeniero Carlos Mancheno por colaborarme con sus enseñanzas y consejos en la culminación de este trabajo de titulación.

Al Ingeniero Nelson Duchi por colaborarme con sus enseñanzas en la culminación de este trabajo de titulación.

Al Ingeniero Carlos Orozco por colaborarme con sus instalaciones LICAN GENETIC por terminar mi trabajo de titulación y ser un amigo el que me dio su apoyo y consejos en mi etapa final de la Carrera.

Andrés

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE D	DE TABLAS	X
ÍNDICE D	DE FIGURAS	xi
ÍNDICE D	DE ANEXOS	xii
RESUME	N	xiii
ABSTRAC	CT	xiv
INTRODU	JCCIÓN	1
CAPÍTUL	101	
1.	MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	
1.1.	Inseminación artificial	
1.2.	Inseminación artificial en porcinos	
1.2.1.	Ventajas y desventajas de la inseminación artificial	
1.3.	Aparato reproductor del macho	4
1.4.	Evaluación de la aptitud reproductiva del porcino	6
1.5.	Semen porcino	7
1.5.1.	Calidad del semen porcino	7
1.5.2.	Características del semen porcino	9
1.6.	Recolección del semen	9
1.7.	ADN espermático	10
1.7.1.	Daño en el ADN espermático	10
1.7.2.	Causas de la fragmentación del ADN	11
1.7.3.	Correlación entre la fragmentación del ADN y la calidad seminal	
1.8.	Diluyentes para semen	12
1.8.1.	Tipos de diluyentes para semen de verraco	12
1.9.	Características y funciones de los diluyentes	13
1.9.1.	Preparación del diluyente	14
1.9.2.	Conservación del semen diluido	14
1.10.	Agua de coco	15
1.10.1.	Usos del agua de coco	
1.10.2.	El coco	
1.10.3.	Agua de coco como diluyente	17

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	20
2.1.	Localización y duración del experimento	20
2.2.	Unidades experimentales	20
2.3.	Materiales y equipos	20
2.3.1.	Equipo de campo y laboratorio	20
2.3.2.	Insumos	21
2.3.3.	Equipos	21
2.4.	Tratamientos y diseño experimental	21
2.5.	Análisis estadísticos y pruebas de significancia	23
2.6.	Mediciones experimentales	23
2.6.1.	Pre dilución	23
2.6.2.	Post dilución (24, 48, 72 y 96 horas)	24
2.7.	Procedimiento experimental	24
2.8.	Metodología de evaluación	24
CAPITUL	ОШ	
	JO III	
3.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
3. 3.1.		
	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
3.1.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29 29
3.1. 3.1.1.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN Características del semen porcino Pre-Dilución Aspecto Volumen, (ml)	29 29 29
3.1. 3.1.1. 3.1.2.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN Características del semen porcino Pre-Dilución Aspecto Volumen, (ml)	29 29 29 30
3.1. 3.1.1. 3.1.2. 3.1.3.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN Características del semen porcino Pre-Dilución Aspecto Volumen, (ml) Color	29 29 30 30
3.1. 3.1.1. 3.1.2. 3.1.3. 3.1.4.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN Características del semen porcino Pre-Dilución Aspecto Volumen, (ml) Color	29 29 30 30 31
3.1. 3.1.1. 3.1.2. 3.1.3. 3.1.4. 3.1.5.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN Características del semen porcino Pre-Dilución Aspecto Volumen, (ml) Color Olor	29 29 30 30 31
3.1. 3.1.1. 3.1.2. 3.1.3. 3.1.4. 3.1.5. 3.1.6.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN Características del semen porcino Pre-Dilución Aspecto Volumen, (ml) Color Olor pH Motilidad Masal, (puntos)	29 29 30 30 31 31
3.1. 3.1.1. 3.1.2. 3.1.3. 3.1.4. 3.1.5. 3.1.6. 3.1.7.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN Características del semen porcino Pre-Dilución Aspecto Volumen, (ml) Color Olor pH Motilidad Masal, (puntos) Motilidad Individual Progresiva, (%)	29 29 30 31 31 31
3.1. 3.1.1. 3.1.2. 3.1.3. 3.1.4. 3.1.5. 3.1.6. 3.1.7. 3.1.8.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN Características del semen porcino Pre-Dilución Aspecto Volumen, (ml) Color Olor pH Motilidad Masal, (puntos) Motilidad Individual Progresiva, (%) Concentración espermática, (spz/ml)	29 29 30 30 31 31 32 32

	dos razas porcinas	33
3.2.1.	Efecto de los diferentes niveles de agua de coco	33
3.2.2.	Efecto de las razas porcinas	36
3.3.	Establecer el mejor nivel de sustitución a las 24, 48, 72	y 96 horas post
	dilución y refrigeración del semen	39
3.3.1.	Motilidad individual progresiva, (%)	40
3.3.2.	Viabilidad espermática, (%)	41
3.3.3.	Morfo anomalías (%)	41
3.3.4.	Integridad de la membrana espermática, (%)	42
3.3.5.	Integridad de la cromatina, (%)	42
3.3.6.	Evaluación del semen porcino por efecto de la interacción	entre el nivel de
	diluyente,la raza y el tiempo	42
3.4.	Análisis de los costos de la dilución del semen porcino con dife	erentes niveles de
	aguade coco	44
CONCL	LUSIONES	47
RECOM	MENDACIONES	48
BIBLIO	OGRAFÍA	
ANEXO	OS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1: Aspecto del semen porcino	9
Tabla 1-2: Componentes, función y sustancias más empleadas	15
Tabla 1-3: Composición nutricional del coco	18
Tabla 2-1: Condiciones meteorológicas del cantón Lican	21
Tabla 2-3: Esquema de la ADEVA	24
Tabla 2-4: Escala para evaluar la concentración espermática	27
Tabla 2-5: Valoración de la motilidad individual progresiva según la sociedad	29
Tabla 3-1: Evaluación del semen porcino pre - dilución	30
Tabla 3-2: Evaluación de las características del semen porcino	36
Tabla 3-3: Análisis del semen porcino diluido con diferentes niveles de agua de coco	40
Tabla 3-4: Evaluación de las características del semen porcino diluido con agua	43
Tabla 3-5: Análisis del semen porción por efecto de la interacción	46
Tabla 3-6: Análisis de los costos de la dilución del semen porcino	48

ÍNDICE DE ILUSTRACIÓNES

Ilustración 1-1: Tracto reproductive del porcino	5
Ilustración 1-2: Morfología del semen porcino	7

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA HAMPSHIRE

ANEXO B: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA BLANCO BELGA

ANEXO C: ANÁLISIS DE VARIANZA ADEVA

ANEXO D: EVIDENCIAS DE DATOS SACADOS EN EL LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS.

ANEXO E: PRUEBA DEL DAÑO DE LA CROMATINA ADN

ANEXO F: CONSTRUCCIÓN DEL CORRAL PARA LAS EXTRACCIONES DE LOS DOS CERDOS

ANEXO G: ADAPTACIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS CERDOS PARA LAS EXTRACCIONES

ANEXO H: PREPARACIÓN DE DIETA PARA LOS CERDOS

ANEXO I: PRIMERA, SEGUNDA Y TERCERA EXTRACCIÓN DE SEMEN PORCINO.

ANEXO J: ANÁLISIS EN EL LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL DE LA FACULTAD CIENCIAS PECUARIAS.

RESUMEN

El presente trabajo investigativo se realizó en el Centro de Genética Porcina "LICÁN GENETICS" Ubicada en la parroquia Licán perteneciente al cantón Riobamba en la provincia de Chimborazo, con el objetivo de determinar el daño en el ADN espermático de semen porcino diluido con diferentes niveles de agua de coco, se utilizaron 96 muestras de semen de porcinos seminales de razas Hampshire y Blanco Belga, bajo un diseño completamente al azar tri factorial, los resultados obtenidos al evaluar las características del semen porcino diluido con diferentes niveles de sustitución agua de coco, presentaron los valores más altos de motilidad individual progresiva (80,52%), viabilidad espermática (81,15%), e integridad de la membrana espermática (83,02%) al utilizar 25% de sustitución agua de coco. Además, se estableció que el mejor tiempo post dilución a las 24 horas. Por otra parte, las características macroscópicas evaluadas demuestran que el semen de los cerdos tiene un aspecto normal, un color blanco cremoso, un olor neutro y un pH de 7,00 lo que indica que no existe ninguna anormalidad. Se concluye que el uso de agua de coco como diluyente natural no influye negativamente sobre la motilidad, viabilidad, integridad de la membrana espermática e integridad de la cromatina, de las dos razas porcinas evaluadas. Se recomienda Mantener unas buenas prácticas de manejo y cuidado del semen para asegurar una adecuada motilidad individual y mejorar las tasas de fertilidad en la inseminación artificial en cerdo ya que un semen con una buena motilidad masal aumenta las posibilidades de lograr una reproducción exitosa.

Palabras claves: <ZOOTECNIA>; <ADN ESPERMÁTICO>; <SEMEN PORCINO>; <AGUA DE COCO>; <BLANCO BELGA>; <MOTILIDAD INDIVIDUAL>. 0377-DBRA-UPT-2024



ABSTRACT

The present research work was carried out at the Swine Genetics Center "LICAN GENETICS" located in Licán Parish, Riobamba Canton, Chimborazo Province, with the objetive of determining the damage in the sperm DNA of swine semen diluted with different levels of coconut water. Ninety-six samples of Hampshire and belgian White swine semen were used under a completely randomized tri factorial design. The results obtained when evaluating the characteristics of swine semen diluted with different levels of coconut water substitutio, showed the highest values of individual progressive motility (80.52%), sperm viability (81.15%), and sperm membrane integrity (83.02%), when using 25% coconut water substityuyion. In addition, it was establised that the best post dilution time was 24 hours. On the other hand, the macroscopic characteristics evaluated show that the semen of the swines has a normal appearance, a creamy White color, a neutral smell and a pH of 7.00 indicating that there is no abnormality. It is concluded that the use of coconut water as a natutal extender does not negatively influence the motility, viability, sperm membrane integrity and chromatin integrity of the two evaluated swine breeds. It is recommended to maintain good semen handling and care practices to ensure adequate individual motility and improve fertility rates in artificial insemination in swine, since semen with good mass motility increases the chances of successful reproduction.

Keyword: <NIMAL SCIENCE>, <SPERMATIC DNA>, <SWINE SEMEN>, <COCONUT WATER>, <BELGIAN WHITE>, <INDIVIDUAL MOTILITY>

0377-DBRA.UPT-2024

Mgs. Deysi Lucía Damián Tixi

C.I. 0602960221

INTRODUCCIÓN

La producción en porcinocultura medida por espermatozoides o embriones, junto con otras tecnologías genómicas, proteómicas y fenómicas, ofrece una estrategia de reproducción prometedora para satisfacer la mayor demanda de producción de alimentos. El agua de coco es relativamente alta en potasio y tiene bajo contenido de sodio, los principales elementos son los azúcares con concentración de entre 1,4 a 5% dependiendo de la variedad del coco y el estado de madurez de la nuez, también contiene pequeñas cantidades de proteínas 0,7% y grasas 0,2% así como vitaminas aminoácidos y minerales (Farías, 2019, pág. 28).

El éxito de las granjas porcinas depende del manejo productivo y reproductivo siendo la inseminación artificial (IA) una tecnología que cumple un rol importante al momento de aplicarla. El progreso de esta técnica en la práctica está influenciado por los resultados obtenidos a través de los costos de producción, ya que es más conveniente manejar un banco de esperma que un semental de alta genética para mantener la genética alta en la piara (Farías, 2019, pág. 32).

Es recomendable que antes de utilizar un verraco sobre un grupo de hembras porcinas no sólo se debe saber si éste es fértil sino también qué nivel de fertilidad tiene, especialmente cuando el verraco va a ser usado en programas de inseminación artificial (IA), donde un alto número de hembras va a ser inseminado con su semen conservado. Por ende, la evaluación de su aptitud reproductiva y de la calidad de su semen, antes y después de su manejo colección, extensión y enfriado e incluso congelado y descongelado, son de importancia primordial para prevenir caídas en la eficiencia reproductiva del hato porcino. (Rodríguez, 2021, pág. 22).

En la actualidad es común el uso de diluyentes comerciales, que preservan el semen desde uno hasta diez días a temperaturas que oscilan entre los 15°C y 19°C, que le agregan un costo adicional al semen, pero preservando en gran medida la calidad seminal del semen obtenido por un corto periodo de tiempo (días). El agua de coco (*Cocus nucifera L*) se ha venido empleando como dilutor de semen en varias especies domésticas y silvestres por sus características químicas, alto contenido de glucosa y su bajo, costo, es eficiente para la conservación de la calidad espermática del semen porcino (Julca, 2022, pág. 10).

El reducido control sobre la calidad seminal de cerdos (*Sus scrofa domestica*) reproductores amenaza la productividad y la competitividad de la industria porcina por la variabilidad inducidaen tamaño de camada y tasa de partos. La complejidad de los factores que intervienen en la biología de la fecundación es determinante para cualquier predicción respecto al uso de semen enprogramas de inseminación artificial (IA) en porcinos (Bohorquez, 2022, pág. 10).

La inseminación artificial es parte sustancial en los procesos de crianza porcina debido a sus múltiples beneficios tantos sanitarios, como los costos de producción y mantenimiento de los verracos, además disminuye el riesgo de enfermedades de transmisión sexual y mejora la genética, (Farías, 2019, pág. 39).

En resumen, la utilización de agua de coco como diluyente durante la inseminación artificial presenta un panorama emocionante en términos de beneficios económicos para la industria porcina. Desde la reducción de costos asociados con diluyentes tradicionales hasta el aumento de la eficiencia reproductiva y la disminución de los gastos veterinarios, en comparación con diluyentes tradicionales, el agua de coco es una alternativa que, en muchos casos, está fácilmente disponible en regiones donde se practica la ganadería. Esto podría conducir a una disminución de los costos de adquisición y transporte de diluyentes convencionales, contribuyendo así a la optimización de los recursos. (Córdoba, 2021, pág. 32). Lo que se tiene además es que el agua de coco no tuvo ningún efecto negativo sobre la fisiología y genoma del espermatozoide.

El empleo de agua de coco como diluyente en la inseminación artificial en esta investigación tuvo beneficios sobre las variables reproductivas de tal manera que los índices de calidad seminal como motilidad, integridad de la membrana, integridad del paquete cromosómico fueron los mejores valores obtenidos con el 75% de inclusión de agua de coco. Por lo expuesto anteriormente los objetivos fueron:

- Evaluar las características del semen porcino pre dilución.
- Evaluar el efecto de la sustitución del 25, 50 y 75% de agua de coco en relación con un diluyente comercial, sobre la integridad de la cromatina en espermatozoides de dos razas porcinas.
- Establecer el mejor nivel de sustitución a las 24, 48, 72 y 96 horas post dilución y refrigeracióndel semen.
- Analizar los costos de los diferentes tratamientos.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Inseminación artificial

La inseminación artificial es una rama de la biotecnología aplicada a la reproducción en el que se sustituye la monta o servicio natural por un sistema instrumental, en el cual el hombre interviene en cada uno de sus pasos, la finalidad de su aplicación es para aumentar la eficiencia productiva, así como lograr un mayor progreso genético y mejorar el rendimiento reproductivo, (Coronel, 2012, pág. 21).

La inseminación artificial consiste en la introducción del semen en los órganos genitales de la hembra, sin la intervención del macho, facilitando la fecundación y producción de crías, el semen que es recogido por un procedimiento especial, sufre una previa dilución, de tal forma que un eyaculado, puede servir para inseminar un número elevado de hembras, permitiendo multiplicar considerablemente la capacidad reproductora de los machos, (Aliaga, 2015, pág. 32).

Se puede definir a la Inseminación Artificial de manera más amplia como una tecnología que mediante la cual es posible extraer semen a un reproductor, diluirlo y conservarlo, el objetivo es llevarlo al lugar perfecto, para la fecundación, realizar esta técnica en el momento adecuado, y utiliza la herramienta adecuada (Coronel, 2012, pág. 14).

1.2. Inseminación artificial en porcinos

En la actualidad la IA, una técnica ampliamente extendida en el sector porcino, después de muchos años de implantación y mejoras de la metodología utilizada, para tratar de obtener cada vez mejores resultados de fertilidad. Para conseguir este fin, por un lado, se han desarrollado los métodos de inseminación y se ha mejorado la composición de los diluyentes utilizados para la preparación de las dosis seminales (Córdoba, 2014, pág. 22).

Pero, por otro lado, aunque la producción de dosis seminales de calidad óptima obliga a realizar un análisis completo del eyaculado previo a su elaboración, la tendencia sigue siendo la utilización de muy pocos parámetros para una evaluación rápida de las dosis. Una parte de los fallos de fertilidad debería imputarse a esta falta de información de la calidad del eyaculado utilizado (García, 2010, pág. 3).

La inseminación artificial (IA) ha contribuido a los avances en los programas de cría y producción debido a la facilidad de acceso y la capacidad de los machos para producir altas tasas de gametos, la IA ha sido el enfoque principal de las tecnologías reproductivas. Actualmente es una de las técnicas mayormente utilizadas en las granjas a nivel comercial porque ha tenido grandes

beneficios en la rapidez del mejoramiento genético. Esto se ha venido logrando con verracos de alta calidad genética incrementando el número de hembras servidas con semen sexado. Siendo así la mayor ventaja de la IA, ya que hace el uso máximo de sementales (Córdoba, 2021, pág. 4).

1.2.1. Ventajas y desventajas de la inseminación artificial

La Inseminación Artificial (IA), es una buena herramienta que actualmente está disponible con alta precisión y repetibilidad para obtener mejores beneficios para las granjas porcinas, como, por ejemplo: (Asturias, 2008, pág. 14).

- Permite obtener lotes más homogéneos
- Los porcinos producen una gran descendencia en menor tiempo
- Permite controlar la calidad espermática de los porcinos expuestos a múltiples efectosmedioambientales, de manejo y sanitarios
- Se reduce el riesgo de transmisión de enfermedades infecto-contagiosas por vía sexual
- Ahorro de tiempo, esfuerzo y horas hombre en comparación a la monta natural
- Evita los contratiempos que se producen en la monta natural debido al carácter del porcino
- Reduce los costos reproductivos como el ahorro de espacio, comida y trabajo La inseminación artificial es un sistema "Totalmente Artificial" y como tal se debe practicar con el rigor de la misma, por lo tanto, las desventajas de la inseminación artificial se citan a continuación: (Coronel, 2012, pág. 23)
- Se necesita de mano de obra altamente calificada.
- Elevado costo en equipo e implementos especializados de laboratorio.

1.3. Aparato reproductor del macho

El aparato reproductor del macho consta de los siguientes órganos: testículos epidídimo, conductos deferentes, próstata, uretra y pene, (Coronel, 2012, pág. 20).

- Testículos: la función de los testículos son la producción de hormonas masculinas y la producción de espermatozoides. Los espermatozoides luego de madurar en el epidídimo pasan los conductos deferentes para su eyaculación. Antes de llegar al pene los espermatozoides se mezclan con fluidos producidos por glándulas accesorias como las glándulas seminales y la próstata para formar el eyaculado.
- **Epidídimo y Conducto Deferente**: el conducto del epidídimo es contorneado y muy largo que mide 54 cm. El transporte de espermatozoides por el epidídimo requiere de 9 a 13 días yla maduración de los espermatozoides ocurre durante el tránsito por el epidídimo. La ampolladel conducto deferente tiene glándulas tubulares ramificadas, la mucosa del conducto deferente está

dispuesta en pliegues longitudinales.

- Glándulas Vesiculares: se encuentran en posición lateral respecto a las porciones terminalesde cada conducto diferente. Aportan la mayor parte del volumen del eyaculado.
- **Próstata:** se encuentra en posición caudal respecto a las glándulas vesiculares y secreta un líquido que limpia, lubrica la uretra y aumenta el volumen del semen.
- Glándulas Bulbouretrales: proporcionan considerable cantidad de líquido y componente gelatinoso al eyaculado. El tamaño de estas glándulas puede emplearse para diferenciar el estado criptorquídico del castrado. Efectuada la castración prepuberal son pequeñas.
- **Uretra:** es un conducto que se extiende desde la vejiga urinaria al pene y permite el transportede semen en el tracto reproductor de la hembra.
- **El pene**: es la parte final del tracto reproductor y está contenido en el prepucio. Su función es depositar el eyaculado en el aparato reproductor de la hembra. En el cerdo, aproximadamente los 5 cm finales del pene tienen forma de espiral y durante la erección el extremo libre se enrosca alrededor de su eje mayor. La penetración dura hasta 7 minutos

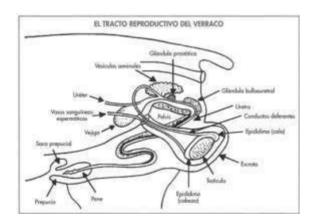


Ilustración 1-1: Tracto reproductivo del porcino

Fuente: (Tejeiros, 2022, pág. 1)

1.4. Evaluación de la aptitud reproductiva del porcino

La calidad del semen porcino es un punto importante que se debe considerar en una granja así también en centros de inseminación artificial. La valoración de la calidad del semen porcino se utilizará para establecer la fertilidad potencial del eyaculado recolectado y por lo tanto del cerdo macho al cual se le efectuó la extracción (Asturias, 2008, pág. 22).

El examen andrológico debe tomar siempre en cuenta la influencia de varios factores, como la edad, la estación, el nivel nutricional, la presencia de enfermedades intercurrentes, el manejo, las interacciones sociales y otros factores ambientales que puedan afectar su fertilidad. Su aptitud reproductiva depende primariamente de su salud general y su bienestar, y específicamente de la función de su sistema endocrino y de sus testículos, su tracto genital y sus glándulas sexuales accesorias, todo lo cual incide en la eficiencia de su capacidad de servicio. Cada una de estas funciones puede cambiar en forma continua, dependiente o independientemente entre sí, pasando de ser muy buena a muy mala en el tiempo, afectando la fertilidad en grado variable (Coronel, 2012, pág. 21).

El examen clínico debe ser siempre iniciado por una identificación sólida del reproductor registrando la raza, edad, tatuaje, número identificatorio, registro, etc., así como la recolección de una historia clínica lo más completa posible, que incluya datos de manejo, historia nutricional, enfermedades o afecciones previas, uso previo como reproductor (incluyendo anotaciones de comportamiento y resultados de fertilidad). El verraco debe inspeccionarse en el reposo y en movimiento, prestando atención especial al sistema locomotor músculo-esquelético, con énfasis en la conformación de los miembros posteriores (aplomos) (Córdoba, 2021, pág. 14).

El examen clínico general se remite a la inspección, palpación y auscultación somera de los distintos sistemas, con especial atención a los órganos de los sentidos (particularmente vista y olfato). Cuando exista sospecha de afección, el examen se hace más intensivo y específico. La mejor manera de utilizar el potencial genético del porcino es mediante la inseminación artificial, ya que se reproduce en el esperma. Además, facilita la planificación cruzada, mejor saneamiento, bioseguridad y control de la producción (Rodríguez, 2021, pág. 31).

El examen físico andrológico debe incluir el examen del prepucio y pene que se lo realiza durante la colección de semen, la inspección y la palpación del escroto y su contenido que deberá incluir la mensura del ancho del escroto, la mensura testicular y los hallazgos palpatorios en epidídimo y testículo; en este último refiriendo la elasticidad y la resistencia del órgano a la palpación superficial y profunda, en su orden (Salazar, 2014, pág. 11).

Los exámenes paraclínicos de hormonas que son la LH, FSH, y la testosterona no han resultado de valor para la evaluación rutinaria de los verracos, pero pueden usarse en casos especiales, por lo tanto, las muestras de sangre para serología se toman en caso de sospecha durante el examen clínico, para descartar cualquier anomalía que tenga que ver con la evaluación de la aptitud

reproductiva del porcino, (Rodríguez, 2021, pág. 31).

1.5. Semen porcino

EL semen es la suspensión celular líquida o semi-gelatinosa que contiene los gametos masculinos y las secreciones de los órganos accesorios del aparato reproductor masculino. La función principal del plasma seminal, que se forma durante la eyaculación, es ayudar a los espermatozoides a llegar al óvulo para fecundar, esta porción líquida de la suspensión se forma durante la eyaculación, (Coronel, 2012, pág. 39).

El semen de verraco es una suspensión de células espermáticas y secreciones del tracto reproductivo del macho, incluyendo las glándulas accesorias. La porción fluida de esta suspensión es conocida como plasma seminal y ayuda a transportar y proteger las células espermáticas. En los verracos el semen también contiene grandes cantidades de gel, en la figura 2-1 se indica es esquema del semen porcino, (Donadeu, 2014, pág. 2).



Ilustración 2-1: Morfología del semen porcino

Fuente: (Tejeiros, 2022, pág. 1)

1.5.1. Calidad del semen porcino

El análisis de la calidad del semen es una herramienta esencial en la inseminación artificial, de forma habitual se utilizan varias técnicas de contrastación seminal para realizar una valoración de la calidad del semen, las técnicas que se emplean con más frecuencia son:

- Motilidad de los espermatozoides: la cual tan sólo indica que los espermatozoides que están vivos.
- Calidad del movimiento: Al portaobjetos con la muestra se le pone un cubreobjetos y se estima cuánto se mueve en porcentaje en escala de 0 a 100. El valor medio de motilidad oscilaen

un 60 a 80%.

- Estado de la membrana espermática: este análisis, es más importante cuanto más tiempo se mantengan las dosis conservadas. Las pruebas de membrana como el HOST corto y el HPAR (espermatozoides HOSTc positivos con el acrosoma intacto) muestran el estado estructural y la capacidad funcional de la membrana plasmática y del acrosoma.
- Morfología: indica que el espermatozoide ha llegado bien a su grado final de desarrollo y que no tiene ninguna anormalidad que le impida realizar la fecundación (persistencia de gotas citoplásmicas proximales, anomalías en cabeza, tracto intermedio o cola).
- Concentración de los espermatozoides: la concentración es definida siendo el número de células espermáticas presentes en un eyaculado, por unidades de volumen de semen. Por tanto, la concentración corresponde al número de espermatozoides por ml de semen. Una evaluación de concentración considera su total de células tanto normales como anormales. Una vez contada la concentración espermática se puede determinar el número de dosis seminales que pueden ser producidas a partir del eyaculado.
- Valoración del estado del acrosoma: es muy importante analizar el estado del acrosoma, quedebe estar intacto. Es la estructura situada en la parte apical de la cabeza del espermatozoide, que contiene las enzimas necesarias para poder realizar la penetración del ovocito; en la tabla1-1 se indica el aspecto del semen porcino.

Las técnicas de contrastación seminal se usan de forma rutinaria en la producción animal, ya que son pruebas rápidas que aportan gran información sobre la estructura y funcionalidad del espermatozoide. Las dosis seminales de inseminación artificial en porcinos deben poseer motilidad mayor a 70% de espermatozoides móviles y no superar el 30% de morfo anomalías totales, que son las admitidas en un eyaculado normal y que no interfieren sobre la fertilidad del verraco, estas dosis deben ser transportadas en condiciones controladas y en su conservación se mantendrá una temperatura constante de 15 – 17 °C; para que no hayan grandes variaciones en los resultados obtenidos por inseminación cervical y post cervical, se debe mantener mínimamente para inseminación post cervical, una concentración por dosis seminal de 1000 millones de espermatozoides" (Aliaga, 2015, pág. 38).

Tabla 1-1: Aspecto del semen porcino

ASPECTO	UNIDADES	VARIACIÓN DE CONCENTRACIÓN
Acuoso		Número reducido de espermatozoides
Seroso	$10^6 \mathrm{SPZ/ml}$	50-200
Sero lechoso	10^6 SPZ/ml	200 - 450
Lechoso	10^6 SPZ/ml	450 - 800
Lechoso denso	$10^6 \mathrm{SPZ/ml}$	>800

Fuente: (Coronel, 2012, pág. 21) Realizado por: Ocaña, A., 2023.

1.5.2. Características del semen porcino

La suspensión de células espermáticas y secreciones del tracto reproductivo del macho, incluidas las glándulas accesorias, se conoce como semen porcino. incluyendo las glándulas accesorias. La fracción fluida de esta suspensión se la conoce como plasma seminal y ayuda a transportar y proteger las células espermáticas. En los verracos el semen contiene también grandes cantidades de gel. En cuanto a sus características físicas las muestras de semen se estudian por: volumen, color, olor, pH y viscosidad: (Farías, 2019, pág. 22).

- Volumen: La edad, el tamaño testicular, la raza y el estado fisiológico de cada verraco determinan su volumen; la fracción espermática es de 50 a 150 ml y el eyaculado es de alrededor de 250 ml.
- Color: puede variar de un blanco cremoso a un blanco lechoso, cuando hay una gran concentración espermática su apariencia suele ser opaca.
- Olor: el semen del verraco tiene un olor sui generis, esto se debe a las feromonas del aparatogenital. El semen tiene un olor único, que al ser contaminado por secreciones prepuciales u orina obtiene un olor característico muy fuerte. 2.6.1.4.
- pH: El pH del eyaculado de un verraco depende de la cantidad de líquido producido en las glándulas anexas. La manipulación, el tiempo, la contaminación bacteriológica y la concentración pueden afectar su valor.
- Viscosidad: varía dependiendo de las glándulas genitales de donde procede la secreción y poseen contenido en espermatozoides. Dentro de la fracción no gelatinosa, la viscosidad es proporcional a la contaminación en espermatozoides.

1.6. Recolección del semen

Para la extracción de semen se puede utilizar una hembra en celo o un maniquí. El uso del maniquí tiene la ventaja de que la colecta es rápida, sencilla y económica. Antes de realizar la extracción de semen, el verraco debe presentar un buen grado de excitación, el cual tiene dependencia o relación con la raza y de la edad, (Asturias, 2008, pág. 28).

- Lugar de extracción: Debe ser amplio, limpio y que permita la circulación del macho alrededor del potro de salto o maniquí. Es importante que el suelo sea correcto (ni excesivamente liso ni muy áspero) para que el macho pueda sostenerse bien sobre sus patas.
- Potro o súcubo: es aconsejable que sea sólido y esté fijado al suelo para que pueda resistir el peso del verraco y los golpes que éste proporciona durante la fase de excitación. Es conveniente que sea regulable principalmente en altura y con acceso fácil para tomar el prepucio sin tener contacto con una parte del animal.
- Guantes: Sin talco ni productos químicos que puedan tener efecto espermicida.

- Recipiente para colecta: Puede emplearse un recipiente de plástico que este graduado limpioo esterilizado, o bien emplear un termo o un recipiente de vidrio como puede ser un vaso de precipitado que tenga una bolsa descartable.
- Gasa o filtro de papel: Se filtra el eyaculado durante la colecta para evitar el paso de tapioca, el filtrado puede realizarse también en el laboratorio.
- Procedimiento: Una vez que el macho salta sobre el potro con manifestaciones idénticas a las de la monta natural, debe lavarse el área prepucial, ya sea en seco a manera de barrer la contaminación o puede utilizarse citrato de sodio al 2.9%. Se debe cortar el pelo prepucial y provocar la micción, secar el área y fijar el pene con la mano cubierta con un guante de látex ejerciendo ligera presión.
- Durante la colecta pueden diferenciarse bien tres fracciones: la primera se descarta, está contaminada con orina, contiene la secreción de las glándulas y escasos espermatozoides. La segunda fracción de aspecto blanco lechoso rica en espermatozoides es la que interesa colectar. La tercera comúnmente denominada por su consistencia gelatinosa como tapioca, debe ser descartada.
- La colecta se realiza en frascos de boca ancha previamente calentados a 32°C para evitar el shock térmico, provistos de gasa en el extremo para filtrar los granos de tapioca y luego mantenidos en termo para evitar cambios bruscos de temperatura y al abrigo de la luz. El tiempo que media entre la extracción y el procesamiento en el laboratorio no debe exceder las dos horas

1.7. ADN espermático

El ADN en los espermatozoides puede encontrarse unido a histonas o protaminas. Las histonas son las proteínas más abundantes de la cromatina. Éstas son pequeñas proteínas cargadas positivamente que se dividen en cinco clases: H1, H2A, H2B, H3 y H4. En cuanto a su composición, se caracterizan por tener alto contenido de arginina y lisina. Estas cargas positivas les van a permitir la atracción de los grupos fosfato del ADN, cargado negativamente, estableciendo una unión consistente con el mismo. En los cromosomas de eucariontes, generalmente hay variedades de proteínas cromosómicas no histónicas que se incorporan a la cromatina uniéndose en los conectores entre nucleosomas (López, 2020, pág. 21).

1.7.1. Daño en el ADN espermático

En lo que se refiere al origen del daño en el DNA del espermatozoide, nos enfrentamos con toda seguridad a un efecto de naturaleza multifactorial en el que interviene una casuística no del todo

delimitada. Se sabe que la generación de radicales libres de oxígeno (ROS)⁶ o bien fallos en el intercambio correcto de la fracción histónica de la cromatina por las protaminas, pueden producir daño irreversible en el DNA del gameto. En relación directa con este tipo de acontecimientos, la presencia de apoptosis, como un suceso de muerte celular programada, tiene lugar durante el proceso de maduración espermática (Farías, 2019, pág. 10).

No obstante, es interesante destacar que la incidencia del fenómeno apoptótico en los espermatozoides de un eyaculado que se manipula para un proceso de reproducción asistida, generaría una serie de metabolitos que no serán retirados por tipos celulares tales como los macrófagos, hecho que ocurriera en cualquier muerte celular en el nivel somático (Gosálvez, 2007, pág. 14).

Esta situación puede generar un acumulo no deseable de metabolitos altamente reactivos, tales como enzimas celulares, enzimas procedentes del acrosoma o bien nucleasas de remodelación de la cromatina tales como la topoisomerasa. Todo este tipo de acción enzimática "fuera de control" puede contribuir e incluso acelerar el proceso de degradación celular, afectando de forma indirecta, a otros espermatozoides. En este escenario, se ha sugerido que el daño provocado en la molécula del DNA del espermatozoide por razones de distinta naturaleza, puede afectar la salud del embrión, la del feto e incluso la de la descendencia global, (Gosálvez, 2007, pág. 7).

Mediante el análisis de la fragmentación del ADN, se puede identificar roturas o lesiones del material genético del espermatozoide ya que cuanto mayor sea el número de estas lesiones, menor será la integridad del ADN y, por lo tanto, mayor será la probabilidad de que disminuya la fertilidad del mismo. Estas roturas, en algunos casos, pueden ser reparadas por el ovocito durante la fecundación, pero esto dependerá del tipo de lesión, el porcentaje de ADN afectado y la calidad de ovocito (Gosálvez, 2007, pág. 14).

1.7.2. Causas de la fragmentación del ADN

La fragmentación del ADN puede ser causada por factores externos o factores intrínsecos del animal. Entre los factores externos se puede mencionar la exposición a temperaturas elevadas, enfermedades inflamatorias agudas y crónicas, episodios febriles y medicamentos, que causan la activación de las enzimas caspasas y endonucleasas espermáticas que inducirán la fragmentación del ADN (Farías, 2019, pág. 10).

Por su parte, los factores intrínsecos del animal son principalmente dos: la selección ineficiente y la maduración incorrecta, y se deben a componentes genéticos propios del animal. La selección ineficiente ocurre durante la producción espermática en los túbulos seminíferos, donde en algunos casos los espermatozoides o sus células genitoras poseen algún tipo de alteración genética, mientras que, la maduración incorrecta sucede durante el transporte de los espermatozoides por el epidídimo (López, 2020, pág. 11).

1.7.3. Correlación entre la fragmentación del ADN y la calidad seminal

La calidad del ADN del espermatozoide es esencial para conseguir un desarrollo embrionario perfecto. El índice de fragmentación del ADN (IF ADN) indica el porcentaje de espermatozoides con el ADN fragmentado. La presencia de fragmentación del ADN en un espermatozoide implica que, aun teniendo capacidad fecundante, por presentar buena motilidad, no tener ninguna anormalidad y tener las membranas en buen estado, se puede producir una muerte embrionaria, al no poder repararse de forma eficiente por el ovocito. Una mala reparación de la molécula de ADN impedirá un desarrollo embrionario normal, (García, 2010, pág. 8).

1.8. Diluyentes para semen

Dentro de los factores que intervienen en el proceso de inseminación artificial porcina están los diluyentes de inseminación artificial. Desde su invención, las funciones de 1os diluyentes han sido: aumentar el volumen de eyaculado y preservar la viabilidad de los espermatozoides, el plasma seminal por sí solo no permite que haya una conservación duradera del semen (López, 2020, pág. 11).

Un diluyente es una solución acuosa que permite aumentar el volumen del eyaculado hasta alcanzar la dosis necesaria, mantener las características funcionales de las células espermáticas y mantener el nivel de fertilidad adecuado del semen. El semen se diluye con el fin de aprovechar al máximo los espermatozoides contenidos en un eyaculado. A la vez, se pretende proporcionar un medio que conserve la vida y la capacidad fecundante del espermatozoide el mayor tiempo posible. Contribuyendo a mantener las funciones de nutrición, regulador de pH, controlador de presión osmótica y como antibiótico para la supervivencia de los espermatozoides, (Julca, 2022, pág.9).

1.8.1. Tipos de diluyentes para semen de verraco

Los diluyentes se han dividido en dos grandes grupos: el primero que se enfoca en la conservación a corto plazo es decir menos de 1 a 3 días y el segundo se orienta en la conservación a largo plazo es decir más de 4 a 10 día, los diluyentes también están disponibles para congelar y mantener el semen en refrigeración. (Julca, 2022, pág. 9).

Los primeros se emplear primordialmente e en estructuras de distribución que comprende las dosis seminales a corta distancia y que son propias de los sistemas europeos, donde la producción de dosis seminales en la misma granja es frecuente; mientras que, los de largo plazo son propios de estructuras como las presentes en los Estados Unidos o Noruega donde las distancia entre el lugar de producción seminal y el lugar donde va a ser utilizado es extensa, (Salazar, 2014, pág. 20).

- Diluyentes de colección seminal (Dipol): es un diluyente de recogida específicamente indicado para la higienización rápida del eyaculado y el control de la contaminación bacteriana, previo a la dilución final con los diluyentes habituales.
- Diluyentes de conservación seminal: basado en una solución de glucosa, citrato, bicarbonato y yema de huevo, pero necesitaba ser gaseado con CO2 para reducir la actividad metabólica.
- Diluyentes de corta duración: se utilizan principalmente en donde la distribución de las dosisseminales es corta distancia, este tipo de diluyente dura de 1-3 días.
- Diluyentes de larga duración: permiten realizar pruebas diagnósticas sobre el semen antes deser utilizadas, como pruebas mediante técnicas PCR (Polymerase Chain Reaction) para detectar la presencia de diversos virus o análisis completos de la calidad semen, consiente una mejor organización de las tareas en los centros de recogida seminal y proporciona en granmedida la distribución de las muestras a las granjas de reproducción porcina.
- Diluyentes para congelación de esperma porcino: están fundados es en el uso de la yema de huevo y glicerol como agentes crio protectores, una concentración elevada de azúcares y la adición de un agente detergente.

1.9. Características y funciones de los diluyentes

La función principal de los diluyentes es mantener la célula espermática viable lo mejor posible durante un período de tiempo determinado. Los diluyentes deben cumplir las siguientes funciones en función de su composición genérica: (Cevallos, 2017, pág. 4).

- Suministrar la energía para el metabolismo de los espermatozoides.
- Además de neutralizar residuos metabólicos.
- Mantener el equilibrio osmótico.
- Estabilizar las membranas de los espermatozoides.

El diluyente debe proporcionar los nutrientes necesarios para el mantenimiento metabólico de la célula espermática (glucosa), entre la principal pero también se considera a la sacarosa, para llevar a cabo su misión que es la defensa frente al shock térmico causado por el frío, el control del pH del medio para lo cual se utiliza Bicarbonato, lo que permite mantener la estabilidad entre lo básico y lo acido en la utilización de los nutrientes, la presión osmótica (sales NaCI, KCI), la inhibición del desarrollo microbiano (antibióticos) que protegen a los espermatozoides de agentes bacterianos y sobre todo, aumentar el volumen del semen (Julca, 2022, pág. 12).En la tabla 1- 2, se indica los componentes, función y sustancias más empleadas en la formulación de diluyentes para semen porcino.

Tabla 1-2: Componentes, función y sustancias más empleadas en la formulación de diluyentes para semen porcino

COMPONENTE	FUNCIÓN	SUSTANCIAS MÁS EMPLEADAS
Nutrientes	Fuente de energía	Glucosa, galactosa, ribosa
Agentes Amortiguadores	Control de pH	Bicarbonato, citrato, sódico, TRIS
Sales	Control presión osmótica	Cloruro sódico, cloruro de potasio
Antibióticos	Inhibición de bacterias	Penicilina, estreptomicina, aminoglucósidos

Fuente: (Julca, 2022, pág. 12) Realizado por: Ocaña A., 2023.

1.9.1. Preparación del diluyente

Poner el agua destilada o purificada para la IA a baño maría a 37° C durante 25 min. Verter el agua en un vaso de precipitación para mezclar el diluyente o verter directamente en la botella el contenido de la bolsita. Homogeneizar con la ayuda de un agitador magnético o de una varita de vidrio esterilizada y de un solo uso. Esperar como mínimo 15 minutos para una buena disolución y estabilización físico-química y verificar la temperatura, (Aliaga, 2015, pág. 22).

El momento de la mezcla entre el semen y el diluyente es de especial sensibilidad; se debe verter lentamente el diluyente dentro del semen tras haber verificado la temperatura para evitar el shock térmico. Los materiales de envasado deben estar limpios y no deben contaminar el semen (almacenaje en locales limpios y dentro de embalajes cerrados). El tipo de sistema escogido debe permitir limitar al máximo el contacto entre el aire y el semen (anaerobiosis) (Córdoba, 2014, pág. 14).

1.9.2. Conservación del semen diluido

El semen fresco se utiliza diluido o no inmediatamente después de la recolección y se mantiene a una temperatura de 37 ° C hasta el momento de la inseminación; el semen conservado, por otro lado, puede conservarse al menos un día después de la recolección. La temperatura ideal para conservar en un medio salino es de 15 a 20 °C. El acondicionamiento de un refrigerador tipo servidor con un buen termostato que mantiene la temperatura adecuadamente es el más efectivo (Córdoba, 2021, pág. 22).

El almacenamiento se lleva a cabo en bolsas recolectoras de semen de polietileno, frascos de cristal de 550 ml o frascos de polietileno de 100 ml. Es necesario agregar un medio al esperma de verraco durante más de dos a tres horas para equilibrar la acción de las sustancias del plasma

seminal, manteniendo las células en un estado de inactividad metabólica, similar al del epidídimo, para que puedan recuperar su actividad en el momento de la inseminación artificial, (Salazar, 2014, pág. 21).

1.10. Agua de coco

El agua de coco es el líquido del endoesperma que se encuentra dentro de la cavidad del coco, la cantidad de agua que contiene la fruta depende del tamaño, maduración y variedad, es una solución ácida y estéril la cual contiene proteínas, azúcares, alcoholes de azucares, factores de crecimientos, vitaminas, sales y grasas neutras.

El agua de coco es relativamente alta en potasio y tiene bajo contenido de sodio. Los principales elementos son los azúcares con concentración de entre 1,4 a 5% dependiendo de la variedad del coco y el estado de madurez de la nuez, también contiene pequeñas cantidades de proteínas 0,7% y grasas 0,2% así como vitaminas aminoácidos y minerales (Farías, 2019, pág. 17).

El agua de coco tiene un color transparente, a veces un poco opaco, y se encuentra en el hueco interior rodeado por la pulpa en la nuez del coco. Posee un sabor característico que va a depender de la especie, lugar de origen y la madurez del coco, si es joven será más fresco y funcional, también puede verse influenciado por el terreno donde se encuentra la palma cocotera.

Cuanto menos maduro sea el fruto, mayor cantidad de agua tendrá y más rico en nutrientes será. Un coco fresco de entre seis y nueve meses puede llegar a contener alrededor 750 ml de agua. Este líquido se caracteriza por tener un bajo contenido en grasas, azucares; y por ser rico en minerales y oligoelementos Su aporte de selenio y zinc contienen propiedades antioxidantes (Bohorquez, 2022, pág. 27).

1.10.1. Usos del agua de coco

El agua de coco resulta ser una buena opción como bebida rehidratante tras un entrenamiento gracias a los minerales que contiene. Además, es una alternativa perfecta frente a refrescos y bebidas azucaradas. Y, por supuesto, puede formar parte de batidos de frutas y verduras. También ha sido utilizada como diluyente durante la conservación de semen de caprino, canino, ovino y actualmente como disolvente de semen fresco de conejo para la inseminación artificial, lográndose un mayor porcentaje de fertilidad frente a un medio sintético. Las cualidades de protección celular, sirven para diluir de formar ocular las vacunas vivas aviares contra la bronquitis infecciosa, y bursitis infecciosa, demostrando ser una buena alternativa frente a los diluyentes industriales (Bohorquez, 2022, pág. 27).

1.10.2. El coco

El coco, una fruta tropical y un tesoro nutricional, tiene una cáscara gruesa y peluda, y su pulpa es blanca y tiene un aroma único. 100 gramos de pulpa contienen 342 calorías, lo que la convierte en una de las frutas más calóricas, pero con muchas propiedades nutritivas. Sus propiedades antioxidantes, la capacidad para controlar la presión sanguínea y la reducción de triglicéridos son solo algunas de las muchas ventajas del coco. Además, contiene una gran cantidad de fibras y minerales, incluidos potasio, fósforo, magnesio, hierro y vitaminas E, C y B (Ortega, 2020, pág. 10).

El agua de coco, contenido en el interior del fruto joven, es el líquido refrescante que ha ganado popularidad no solo como bebida tropical, sino también como un hidratante natural. Este líquido claro y ligeramente dulce es una fuente refrescante de electrolitos, como potasio y magnesio, que desempeñan un papel vital en el equilibrio hídrico y la función muscular. Además, el agua de coco es rico en azúcares naturales, aminoácidos y antioxidantes, aportando no solo hidratación sino también nutrientes esenciales (Trejos, 2022, pág. 1).

La pulpa del coco, conocida comúnmente como carne, es una rica fuente de fibra dietética y grasas saludables, la fibra proporciona beneficios para la salud digestiva al promover la regularidad intestinal y controlar los niveles de glucosa en sangre, por otro lado, las grasas presentes en la pulpa son principalmente triglicéridos de cadena media (MCT), que se metabolizan rápidamente y pueden ser utilizados como una fuente de energía rápida, lo que los hace populares en las dietas cetogénicas y de alto rendimiento (Trejos, 2022, pág. 25).

El aceite de coco, extraído de la pulpa, ha ganado reconocimiento global por sus diversos usos y beneficios para la salud. Composicionalmente, el aceite de coco está compuesto principalmente por ácidos grasos saturados, siendo el ácido láurico el componente predominante. Se cree que el ácido láurico tiene propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, contribuyendo así a la salud del sistema inmunológico, además de su contenido nutricional, el coco ofrece otros productos valiosos (Trejos, 2022, pág. 25).

Tabla 1-3: Composición nutricional del coco

Componente	Unidad	Valor/100 g de coco
Calorías:	Kilocalorias	342,00
Grasas totales	Gramos	33,00
Ácidos grasos saturados	Gramos	30,00
Colesterol:	Miligramos	0,00
Sodio	Miligramos	20,00
Potasio	Miligramos	356,00

Hidratos de carbono	Gramos	15,00
Fibra alimentaria	Gramos	9,00
Azúcares	Gramos	6,00
Proteínas	Gramos	3,30

Fuente: (Ortega, 2020, pág. 1) **Realizado por:** Ocaña, A., 2023.

1.10.3. Agua de coco como diluyente

En la congelación del semen, el uso de un diluyente a base de agua de coco mejora la movilidad y la viabilidad de los espermatozoides en comparación con otros diluyentes naturales como la leche descremada. La utilización del agua de coco como diluyente se presenta como un método alternativo en la conservación del semen porcino, dentro de las alternativas de los diluyentes pobres en fosfolípidos, se ha demostrado que el agua de coco favorece la conservación del semen, la movilidad y el porcentaje de espermatozoides vivos. La supervivencia espermática, está alrededor de las 60 horas en agua de coco frente a las 12 horas en un medio de leche, (Julca, 2022, pág. 16).

La solución a base de agua de coco es un medio rico en nutrientes, de bajo costo, que ha sido utilizado con experimentos para la conservación de semen porcino in vitro, el agua de coco, es un medio muy complejo, con una amplia gama de componentes orgánicos e inorgánicos, tiene buena capacidad de amortiguación (buffer) y no es raro encontrar sales en ella. Aunque el agua de coco es muy rica en magnesio y fosfato, no todos los minerales que contiene son indispensables, también se ha identificado 2,5% de azucares, adicionalmente se encuentra en ella nitrógeno no proteico soluble en forma de aminoácidos, 'la utilización del agua de coco como diluyente se presenta corno un método alternativo en la conservación del semen dentro de las alternativas de los diluyentes pobres en fosfolípidos (Córdoba, 2021, pág. 22).

El agua de coco se ha explorado en algunos estudios como un posible diluyente para el semen en la criopreservación de esperma en animales, incluyendo mamíferos como cerdos y toros. Aunque la investigación sobre este tema es limitada y se centra en la industria ganadera, se han identificado algunas posibles ventajas del agua de coco como diluyente para semen:

- Compatibilidad Osmótica: El agua de coco ha mostrado tener una composición que se asemeja a la del plasma seminal. Esta similitud en la composición osmótica puede ser beneficiosa para mantener la viabilidad y la integridad de los espermatozoides durante el proceso de criopreservación.
- Bajas Concentraciones de Electrolitos: El agua de coco generalmente contiene bajos niveles de electrolitos, lo que podría ser favorable para prevenir daño por estrés osmótico en los espermatozoides durante la congelación y descongelación.

- Presencia de Componentes Nutricionales: El agua de coco contiene nutrientes como azúcares, aminoácidos y sales minerales que podrían tener efectos positivos en la supervivencia y la funcionalidad de los espermatozoides.
- Propiedades Antioxidantes: Algunos estudios sugieren que el agua de coco tiene propiedadesantioxidantes que podrían ayudar a reducir el estrés oxidativo en los espermatozoides duranteel proceso de congelación, mejorando así su viabilidad.
- Bajas Concentraciones de Contaminantes: En comparación con algunos diluyentes convencionales, el agua de coco podría tener concentraciones más bajas de ciertos contaminantes que podrían afectar la calidad del semen.
- Es importante tener en cuenta que la investigación en este campo está en las primeras etapas, y la eficacia del agua de coco como diluyente para semen puede depender de la especie animal y de las condiciones específicas del proceso de criopreservación. Además, la aplicación de estos hallazgos en la criopreservación de semen humano aún requiere más investigación y validación antes de considerarse una práctica establecida.

El agua de coco, conocida por su composición única y rica en nutrientes, ha sido objeto de investigación en el campo de la reproducción animal. Los estudios han explorado su potencial como diluyente en la criopreservación de semen, buscando mejorar la viabilidad y el rendimiento de los espermatozoides. La similitud osmótica entre el agua de coco y el plasma seminal ha despertado el interés de los investigadores, quienes buscan determinar si esta similitud beneficia la integridad y la funcionalidad de los espermatozoides durante el proceso de inseminación artificial (Coronel, 2012, pág. 29).

Los primeros hallazgos sugieren que el agua de coco podría ofrecer ventajas significativas. Su baja concentración de electrolitos y la presencia de componentes nutricionales, como azúcares y aminoácidos, podrían contribuir a mantener la viabilidad y la salud de los espermatozoides. Además, propiedades antioxidantes identificadas en el agua de coco podrían reducir el estrés oxidativo, mejorando la calidad del semen (Julca, 2022, pág. 23).

Sin embargo, es importante señalar que la investigación en este ámbito está en las primeras etapas. Se necesitan más estudios para validar y consolidar estos hallazgos, así como para abordar preguntas cruciales sobre la variabilidad entre especies animales y las condiciones específicas de la inseminación artificial (Córdoba, 2014, pág. 35).

La aplicación de agua de coco como diluyente en la inseminación artificial tiene el potencial de ser una innovación significativa en la práctica ganadera. No obstante, antes de su implementación a gran escala, se requieren estudios adicionales y una comprensión más profunda de los mecanismos subyacentes. La colaboración entre científicos, veterinarios y productores ganaderos será esencial para llevar esta investigación de laboratorio a la aplicación práctica en el campo (Salazar, 2014, pág. 14).

En conclusión, el agua de coco se presenta como un candidato prometedor como diluyente en la

inseminación artificial en animales. Su composición única y sus posibles beneficios en la criopreservación del semen ofrecen una nueva perspectiva en la mejora de las prácticas reproductivas. A medida que la investigación avanza, el agua de coco podría convertirse en una herramienta valiosa para la gestión reproductiva en la industria ganadera, llevando consigo el potencial de mejorar la eficiencia y la calidad genética de las poblaciones animales (Asturias, 2008, pág. 21).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Localización y duración del experimento

El trabajo experimental se desarrolló en dos fases, la primera que se considera el trabajo de campo, que tuvo lugar en el Centro de Genética Porcina "LICÁN GENETICS" Ubicada en la parroquia Licán perteneciente al cantón Riobamba, provincia de Chimborazo. a una altitud de 3042 m.s.n.m, y con una longitud oeste de 78° 28' 00" y una latitud sur de 01° 38' 02", en la Tabla 2- 1, se describe las condiciones meteorológicas del cantón Lican. Y la segunda fase que es el trabajo de laboratorio: se efectuó en el Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, tuvo una duración de 90 días.

Tabla 2-1: Condiciones meteorológicas del cantón Lican

INDICADORES	INDICADORES UNIDADES	
Temperatura	°C	13,45
Precipitación	mm/año 42,80	
Humedad relativa	%	61,40
Viento / velocidad	m/s	2,50
Heliofanía	horas/ luz	1317,60

Fuente: (Estacion Agrometereolica ESPOCH, 2022, pág. 1)

Realizado por: Ocaña A., 2023.

2.2. Unidades experimentales

El número de unidades experimentales fue de 96 muestras de semen de porcinos de razas Hampshire y Blanco Belga. La selección de las razas porcinas se garantizó con el registro de nacimiento y el calendario sanitario.

2.3. Materiales y equipos

2.3.1. Equipo de campo y laboratorio

- Palas
- Escobas

- Mandil
- Botas de caucho
- Equipo de protección
- Rótulos
- Mesas
- Brete
- Sogas
- Cajas Petri
- Microscopio
- Cubre y portaobjetos
- Jeringuillas

2.3.2. *Insumos*

- Medicamentos
- Frascos lavadores con cánula
- Diluyente comercial
- Diluyente agua de coco

2.3.3. *Equipos*

- Equipo sanitario
- Bomba de mochila
- Equipo veterinario
- Microscopio
- Termómetro de tarjeta
- Catéteres
- Cinta Porcinométrica

2.4. Tratamientos y diseño experimental

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar con un arreglo factorial: Factor A: Niveles de agua de coco (4), Factor B: Efecto de la raza (2), Factor C: Tiempos de supervivencia espermática (4) con tres repeticiones. Ajustándose al siguiente modelo matemático;

$$Yijk = \mu + Ti + Bj + \gamma k + (Ti*Bj*\gamma k) + \in ijk$$

Donde:

Yijk: Valor del parámetro en determinaciónµ: Media general.

Ti: Efecto de los niveles de agua de coco (25, 50, 75%).

Bj: Efecto del tiempo de dilución del semen (24, 48, 72, 96 horas)γk: Efecto de las razas

porcinas.

Ti*Bj*γk: Efecto de interacción de niveles de agua de coco x Tiempo de dilución x Razas porcinas.

€ijk: Efecto del error experimental.

 Tabla 2.2:
 Esquema del experimento

Nivel de agua		Tiempo			T.U.E*	
de coco (Factor		(Factor C)	Código	Código Repeticiones		T.U.E/Trat
A)	B)				. ,	
		24 horas	A1B1	3	1	3
	1 (B1)	48 horas	A1B1	3	1	3
	1 (D1)	72 horas	A1B1	3	1	3
100% diluyente		96 horas	A1B1	3	1	3
comercial (A1)		24 horas	A1B2	3	1	3
	2 (D2)	48 horas	A1B2	3	1	3
	2 (B2)	72 horas	A1B2	3	1	3
		96 horas	A1B2	3	1	3
		24 horas	A2B1	3	1	3
	1 (D1)	48 horas	A2B1	3	1	3
75% diluyente	1 (B1)	72 horas	A2B1	3	1	3
comercial +		96 horas	A2B1	3	1	3
25% agua de		24 horas	A2B2	3	1	3
coco (A2)	2 (D2)	48 horas	A2B2	3	1	3
	2 (B2)	72 horas	A2B2	3	1	3
		96 horas	A2B2	3	1	3
		24 horas	A3B1	3	1	3
500/ 1:14-	1 (D1)	48 horas	A3B1	3	1	3
50% diluyente	1 (B1)	72 horas	A3B1	3	1	3
comercial +		96 horas	A3B1	3	1	3
50% agua de		24 horas	A3B2	3	1	3
coco (A3)	2 (B2)	48 horas	A3B2	3	1	3
		72 horas	A3B2	3	1	3

		96 horas	A3B2	3	1	3
		24 horas	A4B1	3	1	3
	1 (D1)	48 horas	A4B1	3	1	3
25% diluyente	1 (B1)	72 horas	A4B1	3	1	3
comercial +		96 horas	A4B1	3	1	3
75% agua de		24 horas	A4B1	3	1	3
coco (A4)	2 (D2)	48 horas	A4B1	3	1	3
	2 (B2)	72 horas	A4B1	3	1	3
		96 horas	A4B1	3	1	3
TOTAL						96

1(B1): Hampshire, 2(B2): Blanco Belga, T.U.E*: Tamaño de la Unidad Experimental.

Elaborado por: Ocaña A., 2023

2.5. Análisis estadísticos y pruebas de significancia

- Para la evaluación de las variables de semen fresco como son Volumen del eyaculado, PH, Olor y color se calculó mediante el uso de estadística descriptiva Excel versión 2016 (16,0), 2023. (media, mediana moda varianza y desviación estándar).
- Para las variables de semen con diferentes niveles de agua de coco, raza y tiempo, se utilizó el análisis de la varianza (ADEVA) con un nivel de 0,05 de significancia (InfoStat-Software estadístico).
- Para la prueba de separación de medias se utilizó Turkey con un nivel de significancia de 0,05.

Tabla 2-3: Esquema de la ADEVA

Fuentes de variación	Grados de libertad
Total	95
Factor A	3
Factor B	3
Factor C	1
Interacción: Tratamiento x Tiempo xRaza	9
Error experimental	79

Elaborado por: Ocaña, A., 2023

2.6. Mediciones experimentales

2.6.1. Pre dilución

- Aspecto
- Volumen (ml)
- Color
- Olor
- pH
- Motilidad masal (%)
- Motilidad individual progresiva (%)
- Concentración espermática (millones spz/ml)
- Integridad de la cromatina (%) Post dilución (24, 48, 72 y 96 horas)
- Motilidad individual progresiva (%).
- Viabilidad espermática (%).
- Morfo anomalías (%)
- Integridad de la membrana espermática (%)
- Integridad de la cromatina (%)

2.6.2. Post dilución (24, 48, 72 y 96 horas)

- Motilidad individual progresiva (%).
- Viabilidad espermática (%).
- Morfo anomalías (%)
- Integridad de la membrana espermática (%)
- Integridad de la cromatina (%)

2.7. Procedimiento experimental

- Extracción del semen porcino
- Análisis (Pre-dilución)
- Acondicionamiento
- Dilución
- Análisis (Post-dilución)

2.8. Metodología de evaluación

Según el protocolo de valoración seminal para las mediciones experimentales Pre dilución y post dilución son sugeridas por (Carlos, 2022) para los análisis de Aspectos, Volumen (ml), Color, Olor, pH, Motilidad masal (%), Motilidad individual progresiva (%), Concentración espermática (millones spz/ml), Integridad de la cromatina (%) Post dilución (24, 48, 72 y 96 horas), Motilidad

individual progresiva (%), Viabilidad espermática (%), Morfo anomalías (%), Integridad de la membrana espermática (%), Integridad de la cromatina (%), se siguió la metodología descrita a continuación:

- Aspecto: Para realizar la valoración del aspecto se tomó en cuenta que el eyaculado se considera de un aspecto normal cuando presenta un color blanquecino, libre de impurezas y con una coloración que descarte la presencia de orina o sangre. Según esta valoración se consideraron dos tipos de aspecto, aspecto normal y aspecto anormal (Carlos, 2022, pag. 4).
- Volumen (ml): La determinación o medición del volumen del eyaculado se efectuó despuésdel filtrado, utilizando una probeta graduada que tenía una capacidad de 500 ml, la cual fue previamente esterilizada (Carlos, 2022, pag. 5).
- Color: Se determinó mediante la visualización directa del eyaculado dentro del tubo colector según los siguientes estándares: Blanco cremoso, lechoso, transparente o translucido, pero generalmente grisáceo. Si solo se recolecta la segunda fracción (espermio-rica), el color generalmente será más blanco o ligeramente amarillento, dependiendo del verraco y de la concentración de esperma. La contaminación con sangre, suciedad o flóculos se marca siempre (se considera inaceptable) (Carlos, 2022, pag. 5).
- Olor: se lo valoró utilizando el olfato debiendo tener en cuenta que el semen fresco de los porcinos tiene un olor típico producto de la espermia. El olor a orina es indeseable, así como el olor pútrido ya que confirman enfermedades del testículo y de las glándulas sexuales accesorias (Carlos, 2022, pag. 5).
- **pH:** El pH de una muestra de semen porcino se midió con papel peachimetro antes de una hora después de la eyaculación porque el plasma seminal libera CO₂ con el tiempo, lo que eleva el pH. Normalmente, es de 7,2 o más. Los espermatozoides se benefician de esta ligera alcalinidad en la vagina, donde el pH es ácido (Carlos, 2022, pag. 8).
- Motilidad masal (%): La prueba de motilidad masal se realizó de manera subjetiva en semen fresco. Esta prueba evaluó el movimiento de los espermatozoides de manera grupal y estuvo relacionada con la vitalidad, la velocidad del movimiento de los espermatozoides y la concentración de espermatozoides en el semen. Para evaluar la motilidad en masa, se tomó una microgota de semen y sin cubrirla con un portaobjetos se colocó sobre una platina térmica para microscopio atemperada para observar en el microscopio con un aumento de 4X. 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 (Carlos, 2022, pag. 8).
- Motilidad individual progresiva (%): Después de recolectar el semen, se colocó una gota sobre un portaobjetos, se colocó una placa cubre objetos y se enfocó en un microscopio óptico (40X) con platina calefactora. Los valores de motilidad se expresaron en por ciento y dependieron del tipo de movimiento que mostraron las células espermáticas; se aceptó comovalor

mínimo el 60 %. Si se observa un movimiento rectilíneo sin oleaje, los valores oscilanentre el 60 y el 65 %, mientras que, si hay oleaje, los valores oscilan entre el 70 y el 75 %. Si se presenta en forma de remolino con movimiento rápido, la motilidad alcanza el más del 75%, lo que solo se puede observar en verracos jóvenes y selectos (Carlos, 2022, pag. 8).

• Concentración espermática (spz/ml): Para el cálculo de la concentración espermática se utilizó una cámara de Neubauer, en donde previo a su observación se realizó una dilución de semen fresco con solución salina fisiológica a una relación de 1:100. Una vez homogenizada la dilución se procedió a contar 5 cuadros en la cámara y a realizar el cálculo de la concentración aplicando la siguiente fórmula matemática:

Concentración espermática = M x 5 x 10 x 100 x 1000

M = Total de espermatozoides contados5 = Número de cuadros contados 10 = profundidad de la cámara (1/10 mm)100 = Factor de dilución (1:100) 1000 = factor de conversión de mm3 a mililitros

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

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

Fuente: (Cevallos, 2017, pág. 24) Realizado por: Ocaña, A., 2023.

- Integridad de la cromatina (%): El porcentaje de espermatozoides con cromatina dañada se determinó mediante el equipo Luna Fl el cual trabaja con la opción de fluorescencia determinando el daño en la cromatina con el fluorocromo naranja de acridina. Para esto, se colocó una muestra de 18 microlitros de semen y 2 microlitros del fluorocromo en un tubo eppendorf, para después homogenizar la muestra e introducirla en el lector del equipo para su análisis (Carlos, 2022, pag. 9).
- Integridad de la membrana espermática (%): Para el análisis de la integridad

de la membrana espermática se realizó el Test de Host, el cual consiste en diluir el semen en un medio hipoosmótico para observar su comportamiento en cuanto a la membrana celular. Para ello se utilizó una solución de citrato de sodio al 1,47% (Solución A) y una solución de fructosa al 2,7% (Solución B). Se procedió a colocar una muestra de semen correspondiente a 0,1 ml en un tubo que contenía 0,5 ml de la solución A y 0,5 ml de la solución B y se incubó en baño maría durante 20 minutos. Finalmente se observó al microscopio contabilizando los espermatozoides que presentaron sus colas dobladas o cabezas hinchadas como espermatozoides con la membrana espermática íntegra, y los espermatozoides que no reaccionaron de esta manera se consideraron como espermatozoides con la membrana espermática dañada (Carlos, 2022, pag. 11).

• Motilidad individual progresiva (%).: La motilidad individual progresiva de una muestrade semen se expresó como el porcentaje de células móviles bajo un campo microscópico, paraello se utilizó un microscopio óptico (aumento 40X) a una temperatura de 37°C en donde el semen fue diluido en una solución isotónica de cloruro de sodio 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 (Carlos, 2022, pag. 8).

Tabla 2- 5: Valoración de la motilidad individual progresiva según la sociedad americana detheriogenología.

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: (Cevallos, 2017, pág. 24) Realizado por: Ocaña, A., 2023.

• Viabilidad espermática (%): Para determinar la viabilidad espermática se utilizó la tinción de Eosina – Nigrosina misma que consistió 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 observó en un microscopio a 40X, contando un mínimo de 100 espermatozoides en diferentes campos del portaobjetos. Los espermatozoides con cabeza roja o rosa oscuro fueron considerados muertos (membrana dañada), mientras espermatozoides con cabeza blanca o rosa claro son considerados vivos (membrana intacta). El resultado fue expresado como porcentaje y por determinación subjetiva se calculó mediante la siguiente relación: (Carlos, 2022, pag. 8).

$\label{eq:Viabilidad} Viabilidad \ espermatica \ (\%) = \underline{\textit{N\'umero de espermatozoides muertos}} \ *100$ $\ \textit{N\'umero de espermatozoides vivos}$

• Morfo anomalías (%): Se utilizó la misma placa de la viabilidad para observar la estructura espermática con un aumento de 100X. Para lograr esto, se contaron las células sin anomalíasen la placa, las cuales fueron clasificadas como normales, cuando la cabeza y flagelo son regulares y como anormales los que presentan alguna de las siguientes categorías como son morfoanomalías: cabezas muy grandes, cabezas muy pequeñas, doble cabeza, flagelos doblegados, flagelos rizados, flagelos múltiples o sin flagelo, también es como encontrar espermatozoides con presencia de gota citoplasmática proximal o distal. Se contó un total de 100 espermatozoides (Carlos, 2022, pag. 8).

Morfoanomalias~(%) = N'umero~de~espermatozoides~anormales~*100 N'umero~de~espermatozoides~normales

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

CAPITULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Características del semen porcino Pre-Dilución.

Tabla 3-1: Evaluación del semen porcino pre – dilución

		RAZAS			
VARIABLES	BLANCO BELGA	EE	HAMPSHIRE	EE	
Aspecto	Normal	-	Normal	-	
Volumen (ml)	60,00	5,77	83,33	8,81	
Color	Dianas Casasas		Blanco		
Color	Blanco Cremoso	-	Cremoso	-	
Olor	Neutro	-	Neutro	-	
Ph	7,00	0,00	7,00	0,00	
Motilidad masal, puntos	3,67	0,00	4,00	0,00	
Motilidad Individual (%)	76,67	3,33	83,33	3,33	
Concentración espermática (spz/ml)	360,00 x 10 ⁶	44,54 x 10 ⁶	752,67 x 10 ⁶	334,90 x 10 ⁶	
Integridad de la cromatina (%)	94,83	0,71	98,23	1,25	

EE: Error standard

Elaborado por: Ocaña, A., 2023.

3.1.1. Aspecto

Al realizar el análisis de las variables macroscópicas del semen porcino de las razas en estudio (Hampshire y Blanco Belga), se observó que para ambas razas el aspecto del semen fue normal. Por lo general, este debe tener una consistencia gelatinosa o espesa, aunque puede variar ligeramente de un eyaculado a otro. Los resultados de la presente investigación guardan relación con el estudio de (Tejeiros, 2022, pág. 12) quien al evaluar las características macroscópicas del esperma en los cerdos criollos pudo identificar que los resultados de las variables tienen un aspecto cremoso y lechoso esto demuestra que no existe ninguna anormalidad.

3.1.2. *Volumen*, (*ml*)

En cuanto a la evaluación del volumen de semen porcino, los resultados mostraron que la raza Hampshire presentó el mayor valor promedio con 83,33 ml \pm 8,81; a diferencia de la raza Blanco Belga cuyo volumen de eyaculado fue de 60 ml + 5,77 en promedio (Tabla 3 - 1).

El volumen del eyaculado en porcinos varía dependiendo de la edad, la raza, la condición física y la salud del animal, en promedio, el volumen eyaculado en cerdos adultos oscila entre los 150 y 300 mililitros. Es importante mencionar que el volumen eyaculado puede ser influenciado por diferentes factores, como la excitación sexual, el tiempo transcurrido desde la última eyaculación, el manejo del animal durante el proceso de recolección de semen, entre otros.

Los resultados de la presente investigación son inferiores a los reportados por (Del Valle, 2017), quien en los valores promedio de volumen de eyaculado por unidades porcinas evaluadas presentó 102,50 ml para la raza Yorkshire. De la misma manera, (Parada, 2019) al evaluar el semen en fresco encontró un volumen del eyaculado de 120 ml, señalando que este valor se puede ver afectado por diversos factores como el estrés del animal.

3.1.3. Color

En la valoración del color del semen de las dos razas porcinas en estudio se aprecia que tanto para la raza Hampshire, así como para la raza Blanco Belga el color del semen fue blanco cremoso, lo cual es corroborado por (Rodríguez, 2021, pág. 22), quien indica que el color del semen normalmente se presenta con una tonalidad gris a blanco grisáceo. Si solo se recolecta la segunda fracción (espermio-rica), el color será o más blanco o se tendrá un tono amarillento, dependiendo del verraco y de la concentración de esperma.

Los resultados anteriormente mencionados son similares a los reportados por (Villegas, 2022), quien al evaluar el color observó que el semen los verracos obtuvieron un color blanco y blanquecino-amarillento. Mientras que (Villa, 2015), reportó que la coloración que presentaron los eyaculados de verraco de raza Camborough, en las diferentes extracciones fue blanco lechoso, señalando que esto se debe a la concentración espermática sin ningún tipo de contaminante.

3.1.4. Olor

Al realizar el análisis del olor del semen de las diferentes razas porcinas en estudio, se determinó que ambas razas presentaron un olor neutro que se considera como normal. Al respecto (Villa, 2015), manifiesta que, el olor del esperma permite sacar ciertas conclusiones sobre la subsiguiente capacidad de empleo de eyaculado, el semen normal del verraco tiene olor proteico neutro, la existencia de olores fuertes o específicos son indicativos de que; el eyaculado, se ensució con orina y secreción prepucial. Por otro lado, el estudio de (Salazar, 2014, pag. 12), reportó un olor

proteico neutro, expresando que el olor pútrido indica alteraciones patológicas, en este caso suele modificarse también el color del eyaculado, por lo tanto, el semen que exhiba estas características debe eliminarse. Por su parte, (Villegas, 2022, pag. 4), identificó al olor de semen con el termino Sui Generis en el cual indica generalmente que no es muy intenso.

3.1.5. pH

El pH del eyaculado de las razas Hampshire y Blanco Belga fue en promedio de 7,00, encontrándose dentro de los rangos normales ya que el pH del semen porcino varía entre 6,8 y 7,8. Estos resultados se asemejan a los obtenidos por (Villa, 2015, pag. 14), quien, al evaluar el pH del eyaculado de la fracción rica, obtenida en las diferentes recolecciones realizadas a los verracos de la Línea Comercial Camborough, presentó un promedio de 7,11 ± 0,11.

Sin embargo, los resultados de la presente investigación son inferiores a los registros por (Velázquez, 2013, pag. 8), quien al estudiar el semen reportó un pH elevado, que estuvo por encima de 8, y que; es indicador de un eyaculado de baja calidad o que el verraco presentaba un proceso infeccioso en el tracto genital. Las variaciones de pH entre eyaculados de un mismo reproductor pueden ser generado por el pH del epidídimo, que es ácido, y que oscila entre 5,9 a 6,9, originado por la permanencia de los espermatozoides en estado de anabiosis e inamovilidad.

(Villegas, 2022, pag. 5), al determinar el pH de semen porcino reportó como un valor máximo 7,66 afirmando que mantener el pH es un factor muy importarte para aumentar la capacidad fertilizadora de las células espermáticas.

3.1.6. Motilidad Masal, (puntos)

Al realizar la valoración de la variable motilidad masal de las muestras de semen se aprecia que la raza porcina Hampshire presentó un promedio de de 4,00 puntos mientras que la raza Blanco Belga obtuvo una calificación de 3,67 puntos.

Al respecto (Coronel, 2012,), menciona que una buena motilidad masal del semen porcino es importante para que los espermatozoides puedan nadar y llegar al oviducto femenino, en donde se encuentran los óvulos. Una baja motilidad masal puede deberse a diversos factores, como problemas genéticos, infecciones, inflamaciones, estrés, mala nutrición o problemas de manejo. Los resultados obtenidos son inferiores a los reportados por (Salazar, 2014, pag 7) quien reportó motilidades masales de verracos de la raza York Shire con un promedio de $4,96 \pm 0,05$ puntos, lo cual indica que los espermatozoides en general presentaron movimientos muy rápidos.

3.1.7. Motilidad Individual Progresiva, (%)

Los valores de motilidad individual fueron superiores en la raza porcina Hampshire con medias de $83,33\% \pm 3,33$; a diferencia de los valores encontrados en la raza Blanco Belga que presentó un promedio de $76,67\% \pm 3,33$; resultados que son superiores al estudio desarrollado por (Villegas, 2022), quien reportó un promedio de 79,34% y menciona que un eyaculado es adecuado cuando más del 60% tengan una buena motilidad individual (Tabla 3-1).

Al respecto (López, 2020, pág. 14), menciona que la calidad de la motilidad individual es un factor importante en el éxito de la inseminación artificial en cerdos, ya que los espermatozoides deben ser capaces de nadar y fertilizar los óvulos de la cerda. Se considera que los espermatozoides tienen una motilidad óptima cuando se mueven en línea recta y con un movimiento rápido y progresivo. No obstante, la motilidad individual puede ser afectada por diversos factores, como la salud y la edad del verraco, la técnica de recolección y procesamiento del semen, y las condiciones de almacenamiento y transporte del semen. Por tanto, se debe mantener unas buenas prácticas de manejo y cuidado del semen para asegurar una adecuada motilidad individual y mejorar las tasas de fertilidad en la inseminación artificial en cerdos.

3.1.8. Concentración espermática, (spz/ml)

En la evaluación de la concentración espermática de semen porcino se observó que la mayor concentración reportó la raza Hampshire con un promedio de $752,67 \times 10^6 \text{ spz/ml} \pm 334,90 \times 10^6$, en tanto que la menor concentración fue obtenida por la raza Blanco Belga con una media de $360,00 \times 10^6 \text{ spz/ml} \pm 44,54 \times 10^6 \text{ (Tabla 3 - 1)}$.

Los resultados de la presente investigación son superiores a los reportados por (Villegas, 2022, pag. 5), quien al evaluar las variables microscópicas estableció un valor medio en la concentración espermática de 195,71x 10⁶ spz/ml± 323,80 x 10⁶. Por otro lado, (Salazar, 2014, pag. 2), registró un promedio de 350 x 10⁶ spz/ml, lo cual está dentro de los rangos normales de un reproductor de la raza York Shire, de 1,5 año de edad.

(Rodríguez, 2020, pag. 1), menciona que en todo el estudio seminal se comienza con el recuento de espermatozoides, dicho proceso se conoce como la evaluación de concentración espermática, en ella se determina el número de células reproductivas masculinas por mililitro de eyaculado, puede calcularse por varios métodos a partir de una muestra de semen, entre estos métodos destaca la espectrofotometría, Así mismo, es un método indirecto, capaz de medir la luz monocromática absorbida por las partículas en suspensión, que este caso son los espermatozoides.

3.1.9. Integridad de la cromatina (%)

Al analizar la integridad de la cromatina del semen porcino fresco, la raza Hampshire reportó una media de $98,23\% \pm 1,25$; mientras que para la raza Blanco Belga el porcentaje de integridad de la cromatina fue de $94,83\% \pm 0,71$ (Tabla 3-1).

Al respecto (Trujillo, 2012, pag 2), menciona que los espermatozoides con cromatina dañada y morfología normal no son reconocibles con el análisis microscópico rutinario y por tanto, la eliminación de eyaculados en base a este criterio no es tan fácil y la no identificación de este grupo de espermatozoides podría estar sobreestimando el potencial reproductivo.

3.2. Efecto de la sustitución del 25, 50 y 75% de agua de coco en relación con un diluyente comercial, sobre la integridad de la cromatina en espermatozoides de dos razas porcinas

3.2.1. Efecto de los diferentes niveles de agua de coco

Tabla 3-2: Evaluación de las características del semen porcino por efecto de los diferentesniveles de agua de coco

NIVELES	DE AGUA	DE COC	O				
	EE	Prob.	Sign.				
VARIABLES	0	25	50	75			
Т0		T1	T2	T3			
Motilidad individual							
progresiva (%)	74,06 a	79,06 a	79,38 a	80,52 a	1,93	0,095	ns
Viabilidad espermática (%)	78,15 a	74,27 b	80,0 a	81,15 a	1,01	0,001	**
Morfoanomalías (%)	13,23 ab	13,85 b	11,89 a	13,63 b	0,42	0,006	**
Integridad de la membrana							
espermática (%)	57,16 a	58,55 a	57,73 a	83,02 a	12,35	0,378	ns
Integridad de la cromatina							
(%)	91,41 a	89,38 a	89,38 a	76,25 b	2,48	0,0001	**

EE: Error standardProb: ProbabilidadSign: Significancia

Elaborado por: Ocaña, A., 2023.

3.2.1.1. Motilidad individual progresiva, (%)

En la tabla 3-2, se describe el análisis del semen de porcino en donde se aprecia que para la variable motilidad individual progresiva no se reportaron diferencias estadísticas entre tratamientos por efecto de la dilución con diferentes niveles de agua de coco; sin embargo, se

aprecia superioridad numérica en el material diluido con 75% de inclusión agua de coco (T3), puesto que el valor medio fue de 80,52%.

De los resultados antes expuestos se afirma que la mayor motilidad progresiva se presente en el semen diluido con 75% de inclusión agua de coco (T3) lo que es confirmado con lo expuesto por (Rodríguez, 2021, pág. 5), quien manifiesta que los diluyentes como es el caso del agua de coco aumenta el tiempo de conservación de los espermatozoides, optimizando el tipo y la concentración de sustratos energéticos en el diluyente que influirán, no sólo en la capacidad de obtener energía, sino también en la modulación de su funcionalidad, haciendo más estable al espermatozoide.

Además (Córdoba, 2014, pág. 23), menciona que el porcentaje de motilidad progresiva es cuantificable a través de otros parámetros no analizados comúnmente en un centro de inseminación y que nos proporcionan mucha información del estado interno del espermatozoide (y su capacidad de fecundar), y que no siempre correlacionan con la motilidad.

Las respuestas de la investigación actual superan los registros de (Mendoza, 2020, pág. 23), quien al efectuar la evaluación del semen y fertilidad in vivo en una granja porcina del norte de Italia estableció una motilidad espermática de $74,09 \% \pm 0,63$.

3.2.1.2. Viabilidad espermática, (%)

En el análisis de la viabilidad espermática, se determinaron diferencias estadísticas significativas, (P<0.01), por efecto del nivel de diluyente, observándose que el tratamiento T3 en donde se utilizó 75% de inclusión agua de coco presentó la mayor viabilidad espermática con un valor de 81,15%, seguido del T2 (50% de inclusión de coco) con un 80,0%, el T0 (0% de inclusión agua de coco) con 78,15%, y el valor más bajo lo reportó el T1 (25% de inclusión agua de coco) con 74,27% de viabilidad espermática.

De acuerdo con los resultados anteriores la mayor viabilidad espermática se consigue al diluir el semen con 75% de inclusión agua de coco, lo que guarda relación con lo manifestado por (Farías, 2019, pág. 5), quien señala que el agua de coco como diluyente natural proporciona un entorno favorable que mantiene la integridad estructural y funcional de los espermatozoides, lo que ayuda a prolongar su vida útil y capacidad de fertilización.

3.2.1.3. Porcentaje de Morfoanomalías, (%)

Al evaluar las morfoanomalías del semen porcino, se apreció diferencias altamente significativas, (P<0,01), por efecto de los tratamientos, registrándose las respuestas más bajas en el material diluido con 50% de inclusión agua de coco (T2) con una media de 11,89%; seguido de los valores encontrados al utilizar 0% de inclusión agua de coco (T0) con 13,23%, mientras que al aplicar

75% de inclusión agua de coco (T3) el valor fue de 13,63%, evidenciando las respuestas más altas para el material diluido con 25% de inclusión agua de coco (T1) con un valor de 13,85%.

En relación con los resultados obtenidos se puede afirmar que el tratamiento que presentó menor porcentaje de anormalidades espermáticas fue el tratamiento T2, es decir, donde se utilizó 50% de inclusión agua de coco. Estas anomalías pueden incluir diversas deformidades en la forma y estructura de los espermatozoides, como cabezas pequeñas o grandes, defectos en el cuello, cola retorcida o segmentos adicionales, entre otros y pueden afectar la capacidad del esperma para fertilizar el óvulo de la hembra, lo que puede conducir a una disminución en la tasa de fertilidad y en la calidad del semen.

Para, (Quintero, 2009, pag. 4) las morfoanomalías podrían estar relacionadas con factores genéticos y ambientales; entre ellos los que se destaca la edad del animal ya que los parámetros de calidad seminal van mejorando paulatinamente a medida que el cerdo completa su desarrollo sexual, lo cual está asociado con el desarrollo de los testículos (que determina el número de espermatozoides) y con el desarrollo de las glándulas sexuales anexas, que inciden sobre el volumen del eyaculado.

Los resultados de la presente investigación son inferiores a los expuestos por (Villegas, 2022, pag 7), quien, en la evaluación del semen del cerdo criollo, obtuvo un promedio de morfología anormal de 29.64%, señalando que el porcentaje máximo de anormalidades primarias y secundarias permitido es de 10 y 20%, respectivamente ya que el porcentaje de espermatozoides normales debe estar por encima del 70%.

3.2.1.4. Integridad de la membrana espermática, (%)

En el análisis de varianza de integridad de la membrana espermática no se reportaron diferencias estadísticas por efecto de los tratamientos; sin embargo, se aprecia superioridad numérica en el tratamiento T3 (75% de inclusión agua de coco) con un promedio de 83,02%; a diferencia del T1 donde se utilizó 25% de inclusión de agua de coco ya que el valor fue de 58,55%; seguido del T2 (50% de inclusión de agua de coco) cuya media fue de 57,73%, mientras que el valor más bajo fue para el T0 al aplicar 0% de inclusión agua de coco con un valor de 57,16%.

Los resultados de la presente investigación son superiores a los reportados por (Mejía, 2010), quien al evaluar la integridad de membrana de los espermatozoides obtuvo un $45\% \pm 0,1$, por su parte, (Bermúdez, 2023, pag. 7), al analizar la integridad de la membrana espermática obtuvo una media de $40,6\% \pm 3,19$, concluyendo que la suplementación de melatonina al diluyente comercial Nutrixcell Ultra provocaron la disminución más rápida de todos los parámetros cinemáticos y la vitalidad de espermatozoides porcinos.

3.2.1.5. Integridad de la cromatina. (%)

Al evaluar los resultados de integridad de la cromatina, se encontraron diferencias altamente significativas por efecto del nivel de inclusión de agua de coco, observando los mejores resultados en el tratamiento T0 (0% de inclusión agua de coco) con un promedio de 91,41%; posteriormente se ubican los resultados obtenidos al utilizar 25 y 50% de inclusión agua de coco ya que las medias fueron de 89,38%, en ambos casos; en tanto, que la menor integridad de la cromatina fue determinada en el tratamiento T3, es decir al utilizar 75% de inclusión agua de coco con un valor promedio de 76,25%.

Con estos resultados podemos determinar, que al utilizar una mayor cantidad de agua de coco se consigue una menor integridad de la cromatina, lo cual es fundamental para garantizar la fertilidad y la capacidad reproductiva de los espermatozoides ya que un alto grado de integridad de la cromatina del semen porcino indica que los espermatozoides tienen un ADN estructuralmente normal y funcional, lo que a su vez contribuye a la eficiencia reproductiva.

La integridad de la cromatina es importante en la reproducción porcina, ya que los defectos en la cromatina nuclear espermática son considerados defectos no-compensables, lo que significa que el daño reproductivo que provocan no puede ser compensado añadiendo más espermatozoides en la dosis de inseminación artificial (IA). Además, los mencionados defectos también dan lugar a mayor tasa de abortos y, en caso de éxito reproductivo, pueden dar lugar a defectos hereditarios en la camada. Por lo tanto, la detección temprana de estos machos defectuosos es deseable, así como su posible prevención (identificando los factores que provocan o predisponen la alteración, (Guillén, 2016, pag. 9).

Además (Rodríguez, 2020, pag. 4), menciona que algunos diluyentes utilizados en la conservación y congelación del semen porcino pueden afectar la estructura del ADN, alterando su conformación y reduciendo la estabilidad del material genético presente en el semen por lo tanto considera que la valoración de la calidad de los diluyentes es de vital importancia ya que, permite comparar y decidir cuál es el diluyente más adecuado y que se adapte mejor a las condiciones de cada sistema de producción Los resultados de la presente investigación guardan relación con el estudio de (Díaz, 2009, pag. 6), quien obtuvo que los machos jóvenes presentaron valores mayores de integridad de la cromatina con un promedio de 89.5 ± 1.2 , mientras que, (Batista, 2012), demostró que la integridad de la cromatina fue de 65%, señalando que esto podría ser el comienzo de un deterioro biológico gradual en los cerdos de mayor edad, para producir tantos espermatozoides con ADN de buena calidad y cantidad adecuada.

3.2.2. Efecto de las razas porcinas

Tabla 3-3: Evaluación de las características del semen porcino diluido con agua de coco a diferentes niveles por efecto de la raza (Hampshire – Blanco belga)

VARIABLES	HAMPSHIRE	BELGA	EE	P	Sig
Motilidad individual					
progresiva (%)	75,68 b	80,83 a	1,37	0,009	**
Viabilidad espermática (%)	75,21 b	81,57 a	0,71	0,001	**
Morfo anomalías (%)	14,29 b	12,02 a	0,30	0,001	**
Integridad de la membrana					
espermática (%)	69,39 a	58,84 a	8,73	0,395	ns
Integridad de la cromatina					
(%)	90,25 a	82,90 b	1,75	0,004	**

EE: Error estándar Prob: Probabilidad Sign: Significancia

Elaborado por: Ocaña, A., 2023.

3.2.2.1. Motilidad individual progresiva (%)

La tabla 3-3, muestra que la motilidad progresiva del semen de porcino no presentó diferencias estadísticas, por efecto de la raza del animal, sin embrago se aprecia superioridad en la raza Blanco Belga con un promedio de 80,83% a diferencia de los porcinos de raza Hampshire que presentaron medias de 75,68%.

Los resultados anteriores indican que la raza Blanco Belga presenta la mayor motilidad individual progresiva con respecto a la raza Hampshire. Además, la calidad del semen de la raza de cerdo blanco belga puede variar dependiendo de diversos factores, como la edad del cerdo, su estado de salud, su alimentación, entre otros. Sin embargo, en general, se considera que el semen de esta raza tiene características deseables como alta concentración de espermatozoides, buena movilidad y morfología adecuada, esto hace que el semen de dicha raza sea muy utilizado en programas de reproducción porcina para mejorar la calidad de los cerdos criados para carne.

Al respecto, (Velázquez, 2013, pag. 15), indica que la variación en la calidad seminal del verraco es multifactorial y está relacionada con la edad, línea genética, frecuencia de colección, estado nutricional y de salud de los reproductores, estimulación sexual antes de la colecta y la estación del año. Estos componentes influyen en forma directa e indirecta en las principales características seminales, como la motilidad individual progresiva donde una alta motilidad individual progresiva es indicativa de una buena calidad del semen y mayor capacidad de fertilidad. En contraste, una baja motilidad individual progresiva puede ser indicativo de problemas de fertilidad o de baja calidad seminal.

Los resultados obtenidos en la presente investigación son superiores a los obtenidos por (Valverde,

2018) quien al evaluar la motilidad progresiva según el grupo racial determinó un promedio de $53,70\pm1,90$ para la raza Duroc, mientras que rara la raza Landrace el valor fue de $51,80\pm1,99$, señalando que no se identificó una relación directa y positiva entre la velocidad y la progresividad de los diferentes grupos raciales.

3.2.2.2. Viabilidad espermática (%)

Al evaluar la viabilidad espermática se aprecia diferencias estadísticas significativas (P<0.01), por efecto de la raza de los porcinos, estableciéndose el valor más alto para la raza blanco belga con un promedio de 81,57%; en cambio, los cerdos de raza Hampshire presentaron una viabilidad espermática de 75,21%.

Estos resultados son corroborados con las afirmaciones de (Córdoba, 2021, pág. 23), quien manifiesta que la viabilidad espermática de los cerdos blanco belga es alta, estos cerdos son conocidos por tener una buena calidad espermática, lo que los hace aptos para la reproducción y la producción de cerdos de calidad. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la viabilidad espermática puede variar individualmente y dependiendo de factores como la edad y la salud del animal. (Donadeu, 2014, pág. 5).

Los valores encontrados en la presente investigación son inferiores a los de (Córdova, 2016, pag. 7), quien, al evaluar el efecto de la raza sobre la producción y calidad seminal en cerdos, consiguió la mayor viabilidad para la raza Duroc con un promedio de 98%, mientras que para la raza Landrace el valor fue de 95%.

3.2.2.3. Morfoanomalías (%)

La evaluación de variable morfo anomalías de los cerdos presentó diferencias estadísticas significativas (P<0.01), por efecto de la raza, estableciéndose que los cerdos de raza Hampshire presentaron mayor porcentaje de anomalías espermáticas con un promedio de 14,29%, por el contrario, los cerdos de la raza blanco belga registraron la menor cantidad de espermatozoides anormales con medias de 12,02%.

Aunque la raza del cerdo puede influir en la morfología y anomalías de los espermatozoides de diferentes maneras, existen otros factores que pueden contribuir a estas diferencias, como la edad, la salud y la genética individual de cada animal, además diferentes razas de cerdos pueden tener necesidades nutricionales específicas, lo que puede afectar la formación y desarrollo adecuado de los espermatozoides reduciendo la eficiencia reproductiva del cerdo. Los resultados obtenidos superan los valores encontrados por (Salazar, 2014, pag. 18), quien al evaluar las formas anormales de los espermatozoides de verracos de la raza York Shire, analizado en las diferentes recolecciones, presentó un promedio de 2,00±0,23 %, por lo que señala que los espermatozoides

en general son de estructura normal; sin embargo, se determinaron espermatozoides con gota citoplasmática, cola en látigo y cola en ovillo.

3.2.2.4. Integridad de la membrana espermática, (%)

En el análisis de varianza de integridad de la membrana espermática no se observaron diferencias estadísticas, por efecto de la raza de los porcinos, sin embrago numéricamente se obtuvo el valormás alto en los cerdos de raza Hampshire con medias de 69,39%, a diferencia de los cerdos blancobelga que presentaron un promedio de 58,84%.

Para (Córdova, 2016, pag. 16), la integridad de la membrana espermática se refiere a la capacidad de la membrana plasmática y acrosomal del espermatozoide de mantener su estructura y función, el mismo autor señala que la calidad del semen puede variar según la raza de los cerdos debido a que algunas razas como Landrace y Large White son conocidas por tener una buena calidad de semen, con altas concentraciones de espermatozoides y una buena movilidad mientras que otras razas como Duroc y Hampshire también tienen una buena calidad de semen, pero pueden tener una menor concentración de espermatozoides en comparación con las razas mencionadas anteriormente.

3.2.2.5. Integridad de la cromatina, (%)

Al realizar la evaluación de la integridad de la cromatina se presentaron diferencias estadísticas significativas (P<0.01), por efecto de la raza, estableciéndose los valores más altos para la raza Hampshire con medias de 90,25%; registrándose las respuestas más bajas para la raza blanco belga con un promedio de 82,9%.

Según (Lorences, 2009, pag. 3), existen tres posibles orígenes para que se produzca anomalías de la cromatina nuclear en los espermatozoides. En primer lugar, se cree que podría ser el resultado del empaquetamiento anormal de la cromatina durante la espermiogénesis; en segundo lugar, consecuencia de la apoptosis defectuosa antes de la eyaculación; y, por último, inducido por la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno en el eyaculado, es por ello que la integridad de la cromatina es esencial para asegurar que el ADN esté protegido y organizado correctamente. Cuando se produce algún tipo de daño o alteración en la cromatina, puede afectar negativamente la expresión génica y la estabilidad del genoma. Esto puede llevar a diversas enfermedades y trastornos genéticos.

3.3. Establecer el mejor nivel de sustitución a las 24, 48, 72 y 96 horas post dilución yrefrigeración del semen.

Tabla 3-4: Análisis del semen porcino diluido con diferentes niveles de agua de coco por efecto del tiempo de conservación.

	TIEMPO, horas						
VARIABLES	24	48	72	96	EE	P	Sign
Motilidad individual							
progresiva (%)	81,46 a	80,42 ab	77,50 ab	73,65 b	1,93	0,025	**
Viabilidad espermática							
(%)	83,33 a	80,94 ab	77,63 b	71,67 c	1,01	0,001	**
Morfo anomalías (%)	11,08 a	11,94 a	13,95 b	15,64 c	0,42	0,001	**
Integridad de la							
membrana espermática							**
(%)	60,64 b	81,88 a	57,51 c	56,42 c	12,35	0,425	
Integridad de la							
cromatina (%)	88,54 a	85,64 a	87,31 a	84,81 a	2,48	0,714	ns

EE: Error estándar Prob: Probabilidad Sign: Significancia

Elaborado por: Ocaña, A., 2023.

3.3.1. Motilidad individual progresiva, (%)

De acuerdo con la tabla 3- 4, la motilidad progresiva del semen porcino presentó diferencias estadísticas significativas (P<0.01), por efecto del tiempo post dilución, determinándose el porcentaje más alto en las muestras evaluadas a las 24 horas, con medias de 81,46%; seguido de las muestras evaluadas a las 48 horas que presentaron un valor de 80,42%, mientras que a las 72 horas el porcentaje de motilidad fue de 77,50%, evidenciando que la menor motilidad fue presentada en las muestras evaluadas a las 96 horas con 73,65%.

Los resultados expresan una disminución gradual en el porcentaje de motilidad espermática a medida que transcurre el tiempo post dilución, lo que puede deberse según lo argumentado por (Coronel, 2012, pág. 35), al efecto de peroxidación que ocurre en los espermatozoides ya que tienen una vida útil limitada fuera del cuerpo y comienzan a perder gradualmente su capacidad de moverse de manera progresiva a medida que se someten a procesos de envejecimiento y oxidación. Además, el almacenamiento del semen en condiciones inadecuadas, como temperaturas demasiado altas o bajas, puede acelerar aún más este proceso de deterioro de la motilidad.

Los datos encontrados en la presente investigación guardan relación con el estudio de (Bermúdez, 2023, pag. 4), quien al analizar el factor tiempo observa una disminución significativa del Porcentaje de Motilidad Progresiva según incrementó el tiempo de almacenamiento en refrigeración con valores de 81.6 ± 2.65 a las 24 horas y 55.0 ± 8.23 a las 96 horas.

3.3.2. Viabilidad espermática, (%)

En cuanto al porcentaje de viabilidad espermática, se aprecia diferencias altamente significativas (P<0.01), por efecto del tiempo post disolución del semen porcino, determinándose la mayor respuesta a las 24 horas con medias de 83,33%; posteriormente, transcurridas las 48 horas la viabilidad espermática fue de 80,94%; descendiendo a 77,63% al pasar 72 horas; mientras que la menor viabilidad se obtuvo a las 96 horas con medias de 71,67%.

Los resultados muestran que la viabilidad espermática desciende a media que transcurre el tiempo post dilución, es decir que el semen porcino diluido con agua de coco conserva alta vitalidad y motilidad a las 24 y 48 horas. Al respecto (Rodríguez, 2021, pág. 23), menciona que hay varios factores que pueden contribuir a la disminución de la viabilidad espermática al pasar las horas de almacenamiento del semen, entre los que se encuentra el pH del medio de almacenamiento si este no es óptimo puede afectar la supervivencia y movilidad de los espermatozoides, así como también por la temperatura y el estrés oxidativo. Los resultados de la presente investigación son superiores a los reportados por (Rodríguez, 2020, pag.1), quien presentó un 71.92% de viabilidad a las 24 y 48 horas, mientras que a las 72 horas presentó una viabilidad del 50%, manifestando que, fisiológicamente la vitalidad de las células va disminuyendo con respecto al pasar de las horas.

3.3.3. Morfo anomalías (%)

En la evaluación del porcentaje de morfo anomalías de los espermatozoides, se observa diferencias estadísticas significativas (P<0.01), por efecto del tiempo post disolución, presentándose la menor cantidad de espermatozoides anormales durante las primeras 24 horas con medias de 11,08%; incrementando a 11,94% a las 48 horas; de igual manera se observa un aumento a las 72 horas con medias de 13,95% y finalmente a las 96 horas el porcentaje de morfo anomalías se eleva a 15,65%.

Lo que permite afirmar que a medida que transcurre el tiempo post disolución mayor es el porcentaje de morfo anomalías, esto puede deberse a que, al almacenar el semen durante largos periodos de tiempo, se produce el envejecimiento y degeneración celular de los espermatozoides. Es fundamental tener en cuenta que la evaluación de la calidad del semen es una parte esencial de los programas de reproducción porcina para garantizar una producción eficiente y saludable, Los porcentajes específicos de morfoanomalías pueden variar y dependen de múltiples factores, los

datos exactos pueden obtenerse a través de análisis de laboratorio y registros de reproducción.

3.3.4. Integridad de la membrana espermática, (%)

En el análisis de integridad de la membrana espermática no se presentó diferencias estadísticas, por efecto del tiempo post disolución, sin embrago se aprecia que las muestras a las 24 horas obtuvieron un promedio de 60,64%; valor que aumento a 81,88% a las 48 horas post disolución; mientras que a las 72 horas el resultado fue de 57,51% y que finalmente descendió a las 96 horas alcanzando un promedio de 56,42%. Es decir que la mayor integridad de la membrana espermática se produce durante las 48 horas post disolución.

Por el contrario, (Bermúdez, 2023, pag. 10), en su investigación al analizar la Integridad de la Membrana espermática por efecto del factor tiempo, observó que todos los tratamientos disminuyeron según incrementó el tiempo de refrigeración iniciando con un valor de 75.8 ± 3.54 a las 24 horas y finalizando con medias de 51.6 ± 2.01 a las 96 horas.

3.3.5. Integridad de la cromatina, (%)

Al evaluar los resultados de integridad de la cromatina, no se encontró diferencias estadísticas, por efecto del tiempo post disolución, observando que los resultados a las 24 horas presentaron un promedio de 88,54%; seguidamente se ubican los resultados obtenidos a las 48 horas ya que las medias fueron de 85,64%, posteriormente a las 72 horas el valor determinado fue de 87,31%, mientras que a las 96 horas la integridad de la cromatina disminuyo a 84,81%, por consiguiente se puede afirmar que los mejores resultados se obtienen durante las 24 horas post disolución.

3.3.6. Evaluación del semen porcino por efecto de la interacción entre el nivel de diluyente, la raza y el tiempo

De acuerdo con la tabla 3-5, se aprecia que el porcentaje de motilidad progresiva no presentó diferencias significativas, por efecto de interacción entre el nivel de diluyente, la raza y el tiempo post disolución determinándose la mayor motilidad al aplicar 75% de inclusión agua de coco en los porcinos de raza blanco belga a las 24 horas post disolución.

Tabla 3-5: Análisis del semen porción por efecto de la interacción entre el nivel de diluyente, la raza y el tiempo

NIVELES DE AGUA DE COCO RAZAS TIEMPO

VARIABLES	100		75	5	50)	25	;	Н	BB	2448		72	9) 6	P	Sig.
Motilidad																	
individual																	
progresiva	74,06	a	79,06	A	79,38	a	80,52	a	75,68 a	80,83	a 81,46 a 80,42	a	77,5	a 73,65	A 0),9795	ns
Viabilidad																	
Espermática	78,15	a	74,27	A	80	a	81,15	a	75,21 a	81,57	a 83,33 a 80,94	a	77,63	a 71,67	A 0),3877	ns
Morfo																	
anomalías	13,23	a	13,85	A	11,89	a	13,63	a	14,29 a	12,02	a 11,08 a 11,94	a	13,95	a 15,64	A 0),9927	ns
Integridad de																	
la membrana																	
espermática	57,16	a	58,55	A	57,73	a	83,02	a	69,39 a	58,84	a 60,64 a 81,88	a	57,51	a 56,42	A 0),5254	ns
Integridad de																	
la cromatina	91,41	a	89,38	A	89,38	a	76,25	a	90,25 a	82,9	a 88,54 a 85,64	a	87,31	a 84,81	A 0),8962	ns

EE: Error estadísticoProb: Probabilidad Sign: Significancia

Elaborado por: Ocaña, A., 2023.

En cuanto a la viabilidad espermática no se registró diferencias estadísticas significativas, por efecto de interacción entre el nivel de diluyente, la raza y el tiempo post disolución estableciéndose los valores más altos para las muestras tratadas con 75% de inclusión agua de coco, en los porcinos de raza blanco belga a las 24 horas post disolución.

En el porcentaje de morfo anomalías no se observaron diferencias significativas, por efecto de interacción entre el nivel de diluyente, la raza y el tiempo post disolución, consiguiéndose las mejores respuestas al utilizar 50% de inclusión agua de coco, en los porcinos de raza blanco belga a las 24 horas post disolución.

La Integridad de la membrana espermática no presentó diferencias significativas, por efecto de interacción entre el nivel de diluyente, la raza y el tiempo post disolución, sin embrago se aprecia superioridad al utilizar 75% de inclusión agua de coco en los porcinos de raza Hampshire a las 48 horas post disolución.

Por su parte, en la integridad de la cromatina no se observó diferencias significativas, por efecto de interacción entre el nivel de diluyente, la raza y el tiempo post disolución obteniéndose las mejores respuestas al utilizar 0% de inclusión agua de coco en porcinos de raza Hampshire a las 24 horas post disolución.

3.4. Análisis de los costos de la dilución del semen porcino con diferentes niveles de aguade coco

Al realizar la evaluación económica para determinar los costos al diluir el semen porcino con diferentes niveles de agua de coco se aprecia que, para el tratamiento control (T1) el costo total fue de 8,15 USD; a diferencia del tratamiento T2 (25 % de inclusión agua de coco), cuyos costos fueron de 6,62 USD. Mientras que para el T3 (50 % de inclusión agua de coco) los costos fueron de 5,10 USD y finalmente se estableció el menor costo en el tratamiento T4 (75 % de inclusión agua de coco) con un total de 3,57 USD, como se muestra en la tabla 3-6.

Estos resultados permiten determinar que con la utilización de diluyente de recolección de semen en un nivel de 75% de inclusión agua de coco se obtiene mejores resultados puesto que los costos son menores en comparación con el resto de los tratamientos, por lo tanto, se puede considerar factible para incrementar los índices reproductivos y productivos de esta especie.

Tabla 3-6: Análisis de los costos de la dilución del semen porcino con diferentes niveles de agua de coco

MATERIALES		UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO TOTAL
Guantes de manejo	Cajax100		2	0,14

Jeringas	Cajax30	1	0,15
Vasos desechables	Cajax50	3	0,04
Agua de coco	Ml	0	0,00
Agua bidestilada	Ml	1000	7,60
Papel aluminio	Caja 8mx30cm	1	0,10
Papel filtro	Cajax50	1	0,10
Ligas	Fundax50	1	0,02
	TOTAL, USD		8,15

T1 25% de inclusión agua de coco

MATERIALES	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO TOTAL
Guantes de manejo	Cajax100	2	0,14
Jeringas	Cajax30	1	0,15
Vasos desechables	Cajax50	3	0,04
Agua de coco 25%	Ml	125	0,37
Agua bidestilada 75%	Ml	750	5,70
Papel aluminio	Caja 8mx30cm	1	0,10
Papel filtro	Cajax50	1	0,10
Ligas	Fundax50	1	0,02
	TOTAL, USD		6,62

T2 50 % de inclusión agua de coco

MATERIALES	UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO TOTAL
Guantes de manejo	Cajax100	2	0,14
Jeringas	Cajax30	1	0,15
Vasos desechables	Cajax50	3	0,04
Agua de coco 50%	ml	250	0,75
Agua bidestilada 50%	ml	500	3,80
Papel aluminio	Caja 8mx30cm	1	0,10
Papel filtro	Cajax50	1	0,10
Ligas	Fundax50	1	0,02
	TOTAL, USD		5,10

T3 75% de inclusión agua de coco

MATERIALES		UNIDAD	CANTIDAD	PRECIO TOTAL
Guantes de manejo	Cajax100		2	0,14
Jeringas	Cajax30		1	0,15
Vasos desechables	Cajax50		3	0,04
Agua de coco 75%	Ml		375	1,12

Agua bidestilada 25%	Ml	250	1,90
Papel aluminio	Caja 8mx30cm	1	0,10
Papel filtro	Cajax50	1	0,10
Ligas	Fundax50	1	0,02
	TOTAL, USD		3,57

Elaborado por: Ocaña, A., 2023.

CONCLUSIONES

- Al evaluar el daño en el ADN espermático de semen porcino diluido con diferentes niveles de agua de coco, se encuentra diferencias altamente significativas, observando mejores resultados en el tratamiento T0 con un promedio de 91,41%; posteriormente se ubican los resultados obtenidos al utilizar 25 y 50% de inclusión agua de coco ya que las medias fueron de 89,38%, en ambos casos; en tanto, que la menor integridad de la cromatina fue determinada en el tratamiento T3, es decir al utilizar 75% de inclusión agua de coco con un valor promedio de 76,25%.
- Al evaluar el semen pre- dilución de los dos porcinos (Hampshire y Blanco belga), se observó que para las dos razas el aspecto del semen fue normal, en la motilidad individual, Concentración espermática e Integridad de la cromatina la raza Hampshire fue superior en sus valores en relación de la raza Blanco Belga.
- Al evaluar las características del semen porcino diluido con diferentes niveles de agua de coco, se obtuvo los valores más altos de motilidad individual progresiva (80,52%), viabilidad espermática (81,15%), e integridad de la membrana espermática (83,02%) al utilizar 75% de inclusión de agua de coco.
- En cuanto a la integridad de la membrana espermática e integridad de la cromatina en espermatozoides, se observaron valores superiores para el macho Hampshire con 69,39 % y 90,25% respectivamente. Además, se estableció que el mejor tiempo post dilución y refrigeración del semen fue a las 24 horas.
- Como resultados de los diferentes tratamientos se aprecia que en el tratamiento control (0% de inclusión de agua de coco) el costo fue de 8,15\$ (ocho dólares con quince centavos), disminuyendo 6,62\$ (seis dólares con sesenta y dos centavos) y 5,10\$ (cinco dólares con diezcentavos) para las diluciones con 25 y 50% de inclusión agua de coco, mientras tanto que el costo para el tratamiento T3 (75% de inclusión agua de coco), tuvo el valor más bajo con 3,57\$ (tres dólares con cincuenta y siete centavos).

RECOMENDACIONES

- Se recomienda el uso del agua de coco como diluyente natural de semen porcino ya que una de las principales ventajas que tiene es el bajo costo en su preparación y además se obtienen resultados reproductivos similares al de los diluyentes comerciales.
- Mantener unas buenas prácticas de manejo y cuidado del semen para asegurar una adecuada motilidad individual y mejorar las tasas de fertilidad en la inseminación artificial en cerdo yaque un semen con una buena motilidad masal aumenta las posibilidades de lograr una reproducción exitosa.
- Realizar más estudios sobre diluyentes naturales de semen de verracos, en otras razas porcinas para así poder tener mejores resultados, evaluando otros factores como la edad y el estado desalud de cada animal.
- Profundizar el estudio sobre el efecto que pudiere generar el agua de coco en la conservacióndel semen porcino, ya sea en fresco, refrigerado o congelado.

BIBLIOGRAFÍA

ALIAGA, Danny. Evaluación reproductiva de cerdas inseminadas con semen fresco por los métodos cervical y post cervical en la granja GOLD PIG S.A.C. – Arequipa año 2015.

Universidad Nacional Del Centro Del Peru, Huancayo – Perú: 2015.

ASTURIAS, Ana. Comparación entre el uso de una dosis seminal eninseminación artificial de cerdas vrs. la utilización de 3 dosis seminales". Universidad De San Carlos De Guatemala, Guatemala: 2008.

BOHORQUEZ, Jhonny. Evaluación de las características fisicoquímicas de una bebida a base de agua de coco (Cocos nucifera) SÁBILA (Aloe vera) y moringa (Moringa oleífera Lam). Universidad Agraria Del Ecuador, Milagro – Ecuador: 2022.

CEVALLOS, Mercy. Diluyentes utilizados en inseminación artificial porcina -. [En línea] 2017. Disponible en: https://www.redalyc.org/pdf/636/63653009012.pdf.

CÓRDOBA, Alejandro. 2021. Biotecnología reproductiva de sexado de espermatozoides en cerdos. [En línea] 2021. Disponible en:

https://bmeditores.mx/porcicultura/biotecnologia-reproductiva-de-sexado-de-espermatozoides-en-cerdos/.

CÓRDOBA, Mónica. Evaluación de dos sistemas de inseminación artificial: cervical y post cervical en cerdaS. Universidad Central del Ecuador, Quito: 2014.

CORONEL, Max. Evaluación de los indices reproductivos de marranas hibridas de 2do, 3ro ,4to y 5to parto, fertilizadas con inseminación artificial y monta natural en la granja "PORK" Tiquipaya – Cochabamba. Universidad Mayor de San Andres, La Paz – Bolivia: 2012.

DONADEU, Meritxell. Todo lo que siempre ha querido saber acerca del semen de un verraco: 1. [En línea] 2014. Disponible en:

https://www.elsitioporcino.com/articles/2515/todo-lo-que-siempre-ha-querido-saber-acerca-delsemen-de-un-verraco-1.

ESTACION AGROMETEREOLICA ESPOCH. Estacion Agrometereolica de la Escuela Superior Politencia de Chimborazo. [En línea] 2022. Disponible en: https://nortonsafe.search.ask.com/web?omnisearch=yes&q=Estaci%C3%B3n+Meteorol%C3%B3gica+de+la+Facultad+de+Recursos+Naturales&annot=false&vendorConfigured=ask&o=APN12174&prt=SSS&ver=3.19.0.4&tpr=111&chn=store&guid=2c12d548-d0ad-451a-f173-e1df6a58bfc8&doi=2.

FARÍAS, Lucia. Agua de coco como diluyente de semen porcino a diferentes temperaturas sobre la respuesta reproductiva con inseminación artificial en cerdas. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí, Calceta: 2017.

GARCÍA, Casado. Mejora de la calidad seminal en inseminación artificial. [En línea] 2010. Disponible en:

https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf mg/mg 2010 225 28 33.pdf.

GOSÁLVEZ, Jaime. Evaluación del daño en el DNA espermático. [En línea] 2007. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0210-48062007000200008.

JULCA, Alejandro. "Conservación de semen porcino en refrigeración, usando el dilutor con agua de coco {Cocus nucifera L.), en Tingo María". Universidad Nacional Agraria De La Selva, Tingo María-Perú: 2014.

LÓPEZ, Paula. Detección de daño oxidativo yalteraciones epigenéticas en lacromatina del espermatozoide porcino. [En línea] 2020. Disponible en: https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/14738/TFG_Biotecnologia_ArceLopez_Paula. pdf?sequence=1&isAllowed=y.

RODRÍGUEZ, Heriberto. Evaluación de la calidad seminal en el verraco. [En línea] 2021. Disponible en: https://www.avparagon.com/docs/reproduccion/ponencias/21.pdf.

SALAZAR, Lisbeth. "Evaluación del dipol como diluyente de recolección seminal y su efecto sobre la conservación y fertilidad de semen refrigerado de verraco". Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Riobamba - Ecuador : 2014.

TEJEIROS, Agustin. *El sitio porcino* . [En línea] 2022. Disponible en: https://www.elsitioporcino.com/publications/7/manejo-sanitario-y-tratamiento-de-las-enfermedades-del-cerdo/260/sistema-reproductivo/.

ANEXOS

ANEXO A: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA HAMPSHIRE

VOLUMEN				
Media Error típico Mediana	83,3333333 8,81917104 80	Media Error típico Mediana	7	
Moda Desviación estándar Varianza de la muestra Curtosis Coeficiente de asimetría Máximo Suma Cuenta	#N/A 15,2752523 233,333333 #¡DIV/0! 0,93521953 100 250 3	Moda Desviación estándar Varianza de la muestra Curtosis Coeficiente de asimetría Máximo Suma Cuenta	#¡DIV/0 #¡DIV/0 #¡DIV/0	
Motilid, Ind. P.	(9g,	Conce. esper. (mi	iio	

Motilid Ind Prog.		Conce. esper. (mill)		
Media	83,33333333	Media	752,666667	
Error típico	3,333333333	Error típico	334,903635	
Mediana	80	Mediana	578	
Moda	80	Moda	#N/A	
Desviación estándar	5,773502692	Desviación estándar	580,070111	
Varianza de la muestra	33,33333333	Varianza de la muestra	336481,333	
Curtosis Coeficiente de	#¡DIV/0!	<u>Curtosis</u> Coeficiente de	#iDIV/0!	
asimetría	1,732050808	asimetría	1,23215127	
Máximo	90	Máximo	1400	
Suma	250	Suma	2258	
Cuenta	3	Cuenta	3	

Media	98,2333333
Error típico	1,25742241
Mediana	98,9
Moda	#N/A
Desviación estándar	2,1779195
Varianza de la muestra	4,74333333
Curtosis	#¡DIV/0!
Coeficiente de asimetría	-1,24839496
Máximo	100
Suma	294,7

ANEXO B: ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA BLANCO BELGA

Volumen			
Media	60		
Error típico	5,77350269		
Mediana	60		
Moda	#N/A		
Desviación			
estándar	10		
Varianza de la			
muestra	100		
Curtosis	#¡DIV/0!		
Coeficiente de			
asimetría	0		
Rango	20		
Mínimo	50		
Máximo	70		
Suma	180		
Cuenta	3		

Ph	
Media	7
Error típico	,
Mediana	7
	7
Moda	7
Desviación estándar	0
Varianza de la muestra	0
Curtosis	#jDIV/0!
Coeficiente de	
asimetría	#jDIV/0!
Rango	0
Mínimo	7
Máximo	7
Suma	21
Cuenta	3

Motilidad Ind. Prog.		
Media	76,66666667	
Error típico	3,333333333	
Mediana	80	
Moda	80	
Desviación estándar	5,773502692	
Varianza de la muestra	33,33333333	
Curtosis	#¡DIV/0!	
Coeficiente de	-	
asimetría	1,732050808	
Rango	10	
Mínimo	70	
Máximo	80	
Suma	230	
Cuenta	3	

(mm)
360
44,5421149
392
#N/A
77,1492061
5952
#¡DIV/0!
-
1,54539253
144
272
416
1080
3

Integ. Cro	omatina
Media	94,8333333
Error típico	0,71724783
Mediana	95,5
Moda	#N/A
Desviación estándar	1,24230968
Varianza de la muestra	1,54333333
Coeficiente de asimetría	-1,71943369
Rango	2,2
Mínimo	93,4
Máximo	95,6
Suma	284,5
Cuenta	3

ANEXO C: ANÁLISIS DE VARIANZA ADEVA

```
1. Análisis de la varianza
  1.1. MIP (%)
  Variable N A* R* A1 CV
MIP (%) 96 0,25 0,10 12,10
 Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)
                F.V.
                                                   91
                                                           CBE
                                         638,09
881,97
                                                    1 638,09 7,12 0,0093
3 293,99 3,28 0,0252
  RAZA
  TYRMIND
                                       222,46 9 24,72 0,28 0,9795
7080,66 79 89,63
  TRATAMIENTO*RAZA*TIEMPO
                                                                                        75.0
  EFFOR
                                       9414,00 95
Total
  Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,17283
  Error: 89,6287 gl: 79
TRATAMIENTO Medias n
                     80,52 24 1,93 A
79,38 24 1,93 A
  50
                     79,06 24 1,93 A
                       74,06 24 1,93 A
Fre couds no son significativamente diferentes (p > 8,05)
  Test:Tukey Alfa-0,05 DMB-3,84653
Error: 89,6287 gl: 79
RADA Medias n E.E.
BB 80,83 48 1,37 A
H 75,68 48 1,37 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05).
 Test:Tukey Alfa-0,05 DMS-7,17283

Error: 89,6287 gl: 79

TIEMPO Medias n E.S.

24 81,46 24 1,93 A

48 80,42 24 1,93 A B

72 77,50 24 1,93 A B
               73.65 24 1.93 B
uns letra comin no son significativamente diferentes (p > 0.05)
  Test:Tukey Alfs-0,05 DMS-30,34441
Error: 89,6287 g2: 79
TRATAMIENTO RAZA TIEMPO Medias n
                                        edias n E.E.
87,11 3 3,98 A
86,07 3 3,98 A
                     BB
  5:0
                     BB
                            4.6
  75
                    BB
                           24
                                        84,61
                                                   3 3,98 %
                   BB
                                                      3,98 A
3,98 A
                                        84,40
                           48
                                                   3
  25
  75
                    BB
  50
                           72
                                        83,15
                                                   3 3,98
                    BB
                          24
72
                                        82,94
82,32
82,21
                                                  3 3,98 A
3 3,98 A
  50
                   BB
                   BB
  25
                           24
  5.0
                    H .
                                                   3 3,98 A
                           72
                                        81,48 3 3,98 A
81,48 3 3,98 A
  75
                    BB
  100
                    BB
                           24
  25
                           4.8
                                        80,96
                                                   3 3,98
                    H
                                        80,34 3 3,98 A
79,92 3 3,98 A
                           24
                          24
96
  75
                    H.
                                        78,57
  25
                    BB
                                                   3 3,98 %
                                        78,05
  75
                   H
                           48
                                                   3 3,98 A
3 3,98 A
  25
                          72
                   8
                           48
48
  100
                                        77,11
                                                    3.3,98
                                       77,01 3 3,98 A
76,07 3 3,98 A
75,65 3 3,98 A
75,34 3 3,98 A
  50
                  88
88
8
                          96
96
  50
                           48
  100
```

```
3 3,98 A
3 3,98 A
3 3,98 A
75
                        72
                                    75,13
                BB
                                   74,61
74,09
100
                        96
50
                        72
50
                 #
                        96
                                   73,88
                                             3 3,98 A
                                             3 3,98 A
3 3,98 A
100
                 BB
                        72
                                   73,36
100
                 =
                                             3 3,98 A
3 3,98 A
3 3,98 A
                 96
25
                                    73,26
                                   73,05
72,84
100
                 -
                        24
                 .
                                  64,30 3 3,98 A son algorithms to a differences (p > 0,05)
                        96
```

1.2. VIA (%)

RT RT A1 Variable N. VIA (%) 96 0,66 0,59 6,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC timo T)

F.V.	SC	qΙ	CN	F	p-valor
THATAMIENTO	653,13	- 3	217,71	9,07	<0,0001
RAZA	972,19	1	972,19	40,49	<0,0001
TIEMPO	1841,15	3	613,72	25,56	<0,0001
TRATAMIENTO*RAZA*TIEMPO	233,15	9	25,91	1,08	0,3877
Error	1896,98	79	24,01		
Total	3596,60	95			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=3,71266 Error: 24,0124 gl: 79 TRATAMIENTO Medias n E.S. 81,15 24 1,00 A 80,00 24 1,00 A 78,15 24 1,00 A 74,27 24 1,00 25 50 100 75

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

Test:Tukey Alfa-0,05 DMS-1,99096 Error: 24,0124 gl: 79 RAZA Medias n E.E. BB 81,57 48 0,71 A

H 75,21 48 0,71 8
Medias con una letra comin no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DHS=3,71266

96 71,67 24 1,00 C Medias con una letra comin no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=15,70626

Error: 24,0124 gl: 79 TRATAMIENTO BAZA TIEMFO Medias n 25 BB 24 88,39 3 88,39 3 2,06 A 88,18 3 2,06 A 86,72 3 2,06 A 100 BB 24 50 BB 24 86,10 3 2,06 A 100 BB 48 85,89 85,06 3 2,06 A 3 2,06 A 25 50 BB 48 BB 48 84,43 3 2,06 A 83,79 3 2,06 A 25 72 BB 83,79 3 2,06 A 83,16 3 2,06 A 82,77 3 2,06 A 81,93 3 2,06 A 81,49 3 2,06 A 25 24 65 85 24 24 24 72 48 50 75 BB BB H 50 25

75		96	66,29	3 2,06 A
50	#	96	67,54	3 2,06 A
75	20	7.2	68,20	3 2,06 A
75	BB	96	68,81	3 2,06 A
100	善	96	69,87	3 2,06 A
25	===	96	70,24	3 2,06 A
100	BB	96	72, 97	3 2,05 A
7.5	#	4.8	74,20	3 2,06 A
100	- 111	4.8	75,29	3 2,06 A
75	#	24	75,66	3 2,06 A
25	展	7.2	76,33	3 2,06 A
50	- 15	72	76,54	3 2,06 A
100	(8)	72	76,70	3 2,06 A
100	- 255	24	77,99	3 2,06 A
100	BB	7.2	78,06	3 2,06 A
25	BB	96	78,60	3 2,06 A
フち	BB	72	78,83	3 2,06 A
50	BB	96	79,02	3 2,06 A
75	BB	48	79,43	3 2,05 A
50	===	4.8	80,04	3 2,06 A

Medias con una letra comin no son significativamente diferentes (p > 0,00)

1.3. MA (4)

Variable N R2 R2 A1 CV MA (4) 96 0,60 0,51 15,57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	sc	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	55,38	- 3	18,46	4,40	0,0065
RAZA	123,62	I.	123,62	29,47	<8,0001
TIEMPO	301,37	3	100,46	23,95	<0,0001
TRATAMIENTO*RAZA*TIEMPO	7,79	- 9	0.87	0,21	0,9927
Error	331,40	79	4,19	94,000	0.75-0.00-0.00-0.00
Total	819,56	95			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,55178 Error: 4,1949 gl: 79

THATAMIENTO Medias n E.E. 75 13,85 24 0,42 A 25 13,63 24 0,42 A 100 13,23 24 0,42 A B

11,89 24 0,42 B etra común no aon significativamente diferentes (p > 0,00)50 11,89 Medias con una letra con

Test:Tukey Alfa-0,05 DMS-0,83216 Error: 4,1949 gl: 79

RADA Medias n E.E.
H 14,29 48 0,30 A
BH 12,02 48 0,30 B
Rediss con una letra común co son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,55178 Error: 4,1949 gl: 79

TIEMPO Medias n B.E. 96 15,64 24 0,42 A 72 13,95 24 0,42 11,94 24 0,42 0 48 24

Medias con una letra comin no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Test:Tukey Alfa-0,05 DMS-6,56475

Error: 4,1949 gl: 79
TRATAMIENTO BAKA TIEMPO Medias n E.E.
25 H 96 17,48 3 0,86 A

75	28	96	17,41	3 0,86 A	
100	8	96	17,18		
75	- 1	72	16,08		
25	8	72	15,48	3 0,86 A	
75	88	96	15,26		
50	B	96	15,01	3 0,86 A	
25	88	96	14,75		
100	8	72	14.62		
100	88	96	14,25		
50	28	72	14,15		
50	88	96	13,75		
75	B	48	13,60		
100	7.88	48	13,58		
100	88	72	13,43		
25	88	72	13,38		
25	8	48	13,28		
75	88	72	13,21		
75	- 8	24	12,85		
25	3.86	24	12,83		
100	- 8	24	12,08		
50	88	4.8	11,86	3 0,86 A	
75	ab	48	11,69		
25	88	48	11,57	3 0,86 A	
50	88	72	11,23	3 0,86 A	
50	38	24	11,10		
75	88	24	10,70	3 0,86 %	
100	88	4.8	10,47	3 0,86 A	
25	88	24	10,29	3 0,86 A	
100	BB	24	10,23	3 0,86 A	
5.0	BB	48	9,51	3 0,86 A	
50	88	24	8,55	3 0,86 A	

Medias con une letra comin no son significativamente diferentes (p > 0,05)

1.4. IM (4)

Variable N R2 R2 Aj CV IM (%) 96 0,16 0,00 94,38

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	sc	gl	CM	2	prvalor-
TRATAMIENTO	11455,33	3	3818,78	1,04	0,3782
KAZA	2670,52	1	2670,52	0,73	0,3957
TIEMPO	10334,51	3	3444,84	0,94	0,4250
TRATAMIENTO*RAZA*TIEMPO	29812,62	. 9	3312,51	0,90	0,5254
Error	289230,40	79	3661,14	COOK STO	38.00000043
Total	343504.38	95			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMM=45,84328

Erzor: 3661,1443 gl: 79

TRATAMIENTO Medias n E.E.
25 83,02 24 12,35 A
75 58,55 24 12,35 A
50 57,73 24 12,35 A
100 57,16 24 12,35 A
Medias coc una letra comin no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=24,58409

Eszar: 3661,1443 gl: 79

PAZA Medias n E.E.

H 69,39 48 8,73 A

BB 58,84 48 8,73 A

Nedias con use letra comun so son significativemente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa-0,05 DMS-45,84328 Error: 3661,1443 gl: 79 TIEMPO Medias n E.E. 48 81,88 24 12,35 A

```
24
           60,64 24 12,35 A
            57,51 24 12,35 A
56,42 24 12,35 A
 72
 Medias con una letra comin no son significativamente diferentes (p > 0.00)
 Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=193,93837
 Error: 3661,1443 gl: 79
TRATAMIENTO RAZA TIEMPO Medies n
                                            3 25,46 A
  25
                        48
                                  158,50
                                            3 25,46 A
3 25,46 A
 100
                                   90,80
90,67
                 BB
                        48
                        96
 25
                 BB
 25
                 BB
                        72
                                   88,96
                                            3 25,46 A
 25
                 BB
                       24
                                   88,27
                                            3:25,46 A
 75
                 BB
                        48
                                   87,84
                                            3:25,46 A
                                            3 25,46 A
 50
                BB
                       48
                                   84,73
                       24
                                   70,82
66,27
                                            3 25,46 A
3 25,46 A
 25
                - 11
                       48
 50
                - 11
                                   65,03 3 25,46 A
 75
                144
                        96
                       48
24
                                   64,79 3 25,46 A
64,61 3 25,46 A
64,41 3 25,46 A
 75
                 8
 75
                 18
 100
                 H
                       24
                                   63,88
63,82
                                            3 25,46 A
3 25,46 A
25
                        72
 50
                 #
                        24
                        72
                                   63,27
                                            3 25,46 A
50
                 #
                                   63,16 3 25,46 A
63,11 3 25,46 A
 100
                 =
                       72
 100
                        96
                 =
                 #
75
                        72
                                   60,84
                                            3 25,46 A
                       96
48
                                   59,97
59,07
58,66
                                            3 25,46 A
3 25,46 A
3 25,46 A
 25
                .
 100
                 #
 50
                 #
                        96
                       24
24
                                   45,53
44,70
43,07
                                            3 25,46 A
3 25,46 A
 75
                 BB
 50
                 BB
                       48
                                            3 25,46 A
 25
                 BB
                       72
24
                                   43,05
42,97
                                            3 25,46 A
3 25,46 A
                 BB
 75
 100
                 BB
                       96
                                   41,41
5.0
                 BB
                                            3 25,46 A
 50
                 BB
                        72
                                            3:25,46
                       72
                                           3 25,46 A
3 25,46 A
                                   37,96
36,66
 100
                 BB
 75
                 BB
                       96
                 BB 96 35,82 3 25,46 A
letra comin no son significativamente diferentes (p > 0,05)
```

1.5. CRO (%)

Variable N R* R* A1 CV CRO (%) 96 0,32 0,19 14,03

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	41	CH	3	p-velor
TRATAMIENTO	3481,35	:3	1160,45	7,87	0,0001
RAZA	1298,08	1	1298,08	8,80	0,0040
TIEMPO	201,32	3	67,11	0,46	0,7144
TRATAMIENTO*RAZA*TIEMPO	611,98	9	68,00	0,46	0,8962
Error	11648,98	79	147,46		
Total	17241,71	95			

Test:Tukey Alfa-0,05 DMS-9,20021

Error: 147,4555 gl: 79
TRATAMIENTO Medias n E.E.
100 91,41 24 2,48 A
50 89,38 24 2,48 A
75 89,27 24 2,48 A
25 76,25 24 2,48 I

25 -76,25 24 2,48 -8 Medias con una letra comin no son significativamente diferentes (p>0.05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,93374

Error: 147,4555 gl: 79 BAZA Medias n E.E. H 90,25 48 1,75 A BB 82,90 48 1,75 B

Test: Tukey Alfa-0,05 DMS-9,20021

Error: 147,4555 gl: 79 TIEMPO Medias n 8.E. 24 88,54 24 2,48 A 72 87,31 24 2,48 A 48 85,64 24 2,48 A 96 84,81 24 2,48 A

96 84,81 24 2,48 A Medias con una Jetre comin co son significativamente diferentes (p > 0,55)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=38,92116

Krroz: 147,4555 gl: 79

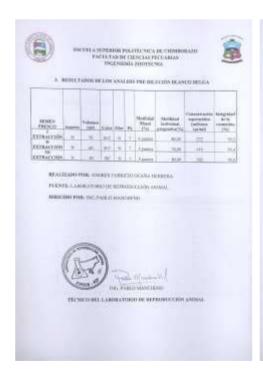
TRATAMIENTO	RAZA	TIEMPO	Medias	n	8.E.
100	н	72	99,87	- 3	5,11 A
50	H	24	99,02	3	5,11 A
75	H	24	95,39	3	5,11 A
100	H	24	94,64	3	5,11 A
50	H	72	94,06	3	5,11 A
75	H	72	93,26	3	5,11 A
100	8	48	93,08	3	
100	В	96	92,76		5,11 A
75	H	48	92,74	3	5,11 A
100	ВВ	24	92,12	3	5,11 A
50	B	96	91,27	3	5,11 A
75	B	96	90,40	3	5,11 A
50	88	48	89,02	3	5,11 A
100	BB:	48	87,87		5,11 A
50	H	48	87,87	3	5,11 A
75.	BB	24	87,08	3	5,11 A
75	BB	72	86,74	3	5,11 A
100	BB	96	86,53	3	5,11 A
50	BB	72	86,16	3	5,11 A
75	BB	96	84,61		5,11 A
100	BB	72	84,41	3	5,11 A
50	BB	96	83,96	3	5, II A
75	BB	48	83,94	3	5,11 A
50	BB	24	83,67		5,11 A
25	8	48	83,60		5,11 A
25	H	24	79,84		5,11 A
25	出.	96	79,53		5,11 A
25	BB	72	77,21	3	5, 11 A
25	H	72	76,75	3	
25	BB	24	76,60		5,11 A
25	38	96	69,45		5,11 A
25	BB	48	67,04	- 3	5,11 A

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

ANEXO D: EVIDENCIAS DE DATOS SACADOS EN EL LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL DE LA FACULTADDE CIENCIAS PECUARIAS.











AND THE A METHOD REPORT AND COMPANIES OF COM



4. BENEFITSHING BE DON ANALOSS FROM BELLEVING BE ANYTHROUGH

				(Apr.)							
-	DATE-COOK	150	Vita Vita	700	754	(194) (194)	MAR.	Mil	204	問	H
	194	36		14	100	100	W	184	40	44.1	46.6
	156	30		Mr.	ai.i	165	-	DATE	Card	44.0	-
19	Him	46.0	-	in.	-	-	-	-	inz	na.	10.5
	386	36.	NU.	100	19,00	-	-	-		-	100
	1.76	В.	10.	IN	M,M	141.5		LH.	like	19,71	mit
71	2004	36	36.	in.	41	11.3	85.	185	1045	bil.	HH.
	2146	34.	1904	15E	10,74	10.5	31	80	Lice:	1916	75.)
	1786	Dr.	- 811	AHI	162	Mar	20	#	M.	DH.	96.1
- 11	100	10	M.	194	Mar.	902	ж.	au.	100	51.0	94
	154	36.	-		18,6	=	31.	36	100	Alt	ALC
	100	136		18		IIIA.	LM.	m.	AA.	10,00	Hit
- 12	3.70	100	21	Ai.	40.0	165	100	-	M	D.O.	364

MT 754	VIALTAL	WATE	mito	CHILD'S	METITAL	Fig.	384. 1764	700	1 private
100	40	100.7	362	24.1	700	- 10		Mah	414
10	46	28.4	:#(2)	86.6		- 11	11.5	skirk	184
N.	70.3	363	36,6	100	40.5	ORG.	100	1361	365
-	100		3400	- 8.5	41	Af	14.0	31.M	46.6
-	11	22,05	-hab	C89	16		100	DOX.	38.1
-81	40.	1994	THE	81,0	800	70.	110	B/T	16.6
tQ::	30	14.1	7008	140	11.	30.0	11/16	31/1	75/4
	0.04	101	3000	100		100	10.6	DODAG	360
-	911	84	20075	THE .	10	THE	1000	0.20	
L ACC	Att.	13.4	167	100	58.	11.0	100	10.14	15.44
140	41.1	14.5	01.07	188	16.	10		199	144
10-	40	-27	0.8	140	44.1	-		160	





- REAL PROPERTY OF THE PROPERTY



ANEXO E: PRUEBA DEL DAÑO DE LA CROMATINA ADN



File name

LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_T0_24 H_R1

Date

22 May, 2023, 12:45

Cell count results

Total cell concentration: 2.77 x 10° cells/mL Live cell concentration: 2.46 x 10° cells/mL Dead cell concentration: 3.14 x 10° cells/mL

Viability: 98.7 % Average cell size: 6.4 µm Total cell number: 1296 Live cell number: 1149 Dead cell number: 147

Protocol

Protocol name: New Protocol1

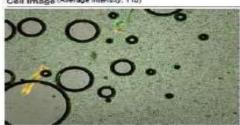
Dilution factor: 1.00 Min. cell size: 3 µm Max. cell size: 90 µm Size gating: 3 ~ 90 µm

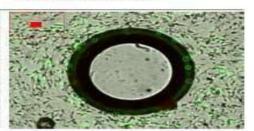
Green fluorescence threshold: 10 Red fluorescence threshold: 10

Green exposure: 14 Red exposure: 15

Green calibrated value: 0x35BD Red calibrated value: 0x4000

Call Imaga (Average Intensity: 118.





59: LUF-14-00777 53W version 3.0.1

Egges

File name

LAB_REP_ANIM_ESPOCH_FCP_T3_48 H_R1

Date

23 May, 2023, 14:09

Cell count results

Total cell concentration: 2.18 x 10° cells/mL Live cell concentration: 2.09 x 10° cells/mL Dead cell concentration: 8.55 x 10° cells/mL

Viability: 96.1 % Average cell size: 12.5 µm Total cell number: 102 Live cell number: 98 Dead cell number: 4

Protocol

Protocol name: New Protocol1

Dilution factor: 1.00 Min. cell size: 3 μm Max. cell size: 90 μm Size gating: 3 ~ 90 μm

Green fluorescence threshold: 10 Red fluorescence threshold: 10 Green exposure: 12

Green exposure: 12 Red exposure: 13

Green calibrated value: 0x35BD Red calibrated value: 0x4000

Cell Image (Average Intensity: 122)





ANEXO F: CONSTRUCCIÓN DEL CORRAL PARA LAS EXTRACCIONES DE LOS DOS CERDOS



ANEXO G: ADAPTACIÓN Y PREPARACIÓN DE LOS CERDOS PARA LAS EXTRACCIONES





ANEXO H: PREPARACIÓN DE DIETA PARA LOS CERDOS





ANEXO I: PRIMERA, SEGUNDA Y TERCERA EXTRACCIÓN DE SEMEN PORCINO.









ANEXO J: ANÁLISIS EN EL LABORATORIO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL DE LA FACULTAD CIENCIASPECUARIAS.















Fecha de entrega: 14/05/2024

recha de entrega. 14/ 03/ 2024
INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: Andrés Fabricio Ocaña Herrera
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias Pecuarias
Carrera: Zootecnia
Título a optar: Ingeniero Zootecnista
Ing. Carlos Andrés Mancheno Herrera, MgS.
Director del Trabajo de Integración Curricular

Dr. Antonio Nelson Duchi Duchi, PhD.

Asesor del Trabajo de Integración Curricular