UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECURIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

Evaluación de semen porcino centrifugado de raza Pietrain para la obtención de dosis con alta concentración espermática

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO VETERINARIO

AUTOR:

CADENA CANDO JEAN SEBASTIAN

TUTOR:

ING. ARAGADVAY YUNGAN GONZALO

CEVALLOS – ECUADOR

2023-2024

Evaluación de semen porcino centrifugado de raza Pietrain para la obtención de dosis con alta concentración espermática

REVISADO POR:

……

Ing. Gonzalo Aragadvay Yungán. PhD.

TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:

Fecha

…… 06-08-2024

Ing. Núñez Torrez Oscar Patricio. PhD

PRESIDENTE DE TRIBUNAL

…… 06-08-2024

Dr. Quinteros Pozo Orlando Roberto. PhD

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

…… 06-08-2024

Dr. Carrillo Álvarez Israel Salomón

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

Escaneado con CamScanner

AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN

El suscrito, **CADENA CANDO JEAN SEBASTIAN**, portador de cédula de ciudadanía número: **1850065739**, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: "Evaluación de semen porcino centrifugado de raza Pietrain para la obtención de dosis con alta concentración espermática" es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



Cadena Cando Jean Sebastian

C.I 1850065739

AUTOR

Escaneado con CamScanner

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado "**Evaluación de semen porcino centrifugado de raza Pietrain para la obtención de dosis con alta concentración espermática**" como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado Médico Veterinario, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.



Cadena Cando Jean Sebastian

C.I 1850065739

AUTOR

Escaneado con CamScanner

DEDICATORIA

A mis padres, Diego Cadena y Paulina Cando.

A mi hermano Diego Cadena y sobrina Arleth Cadena.

A mi abuelita Gladys Armas.

AGRADECIMIENTO

A mis padres y hermano, sin ellos las metas serían más difíciles de conseguir y por enseñarme a resistir a pesar del mal temporal.

A la facultad de Ciencias Agropecuarias y trabajadores de la misma.

A mi tutor, Ing. Gonzalo Aragadvay por su paciencia y disposición infinita.

A todos los docentes de los cuales adquirí todo lo que ahora sé y por hacerme enamorar aun más de la Veterinaria.

A Melissa por acompañarme en la última etapa universitaria y por jamás desistir.

A mis amigos Paúl y Dayana.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

RESUMEN x

ABSTRACT xi

Key Words xi

INTRODUCCIÓN xii

CAPITULO I. MARCO TEÓRICO 1

1.1 Antecedentes investigativos 1

1.2 Marco Teórico 3

1.2.1 Características Reproductivas del Verraco 3

1.2.2 Extracción de semen 4

1.2.3 Centrifugación de semen 5

1.2.4 Manejo de las muestras 5

1.2.5 Tipos de Diluyentes 5

1.2.6 Calidad Seminal 6

1.3 Objetivos 8

1.3.1 Objetivo General 8

1.3.2 Objetivos Específicos 8

CAPITULO II. METODOLOGÍA 9

2.1 Ubicación del estudio 9

2.2 Características del lugar 9

2.3 Equipos y Materiales 9

2.3.1 Equipos 9

2.3.2 Materiales 10

2.3.3 Materiales de oficina 10

2.4 Factores de estudio 10
2.4.1 Factor 1 10
2.4.2 Factor 2 11
2.5 Manejo del experimento 11
2.5.1 Extracción de semen 11
2.5.2 Manejo y dilución de semen 11
5.3.3 Concentración Espermática 12
2.6 Variable Respuesta 13
CAPITULO III. RESULTADO Y DISCUSIÓN 15
3.1 Resultado Objetivo General 15
3.2 Resultado Objetivo Específico 1 16
3.3 Resultado Objetivo Específico 2 20
3.4 Comprobación de la hipótesis 22
CAPITULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 23
4.1 Conclusiones 23
4.2 Recomendaciones 23
REFERENCIAS 24
ANEXOS 27

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Características meteorológicas 9
Tabla 2: Tabla de porcentaje de aceptación para la motilidad masal 13
Tabla 3: Tabla de porcentaje de aceptación para la motilidad individual..... 14
Tabla 4: Características de semen de cerdo en fresco..... 15
Tabla 5: Características de semen de cerdo centrifugado a distintas fuerzas 16
Tabla 6: Anormalidades hallados en el semen de cerdo centrifugado a distintas fuerzas 20

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar el semen porcino centrifugado de raza Pietrain para la obtención de dosis con alta concentración espermática, para lo cual se trabajó con 4 tratamientos: Tx0 (Tratamiento control) y diferentes fuerzas gravitacionales Tx1 (1200g), Tx2 (2200g) y Tx3 (3200g). Se trabajó con 143 ml de semen de cerdo de raza Pietrain utilizando un diseño completamente al azar con 6 repeticiones por tratamiento, los resultados fueron comparados mediante la prueba de Tukey al 0.05, donde se evaluó diferentes parámetros para determinar la calidad seminal. Las variables tomadas en cuenta para analizar el semen fresco fueron obtenidas mediante un estudio macroscópico (color, olor, volumen) y mediante pruebas microscópicas (morfología, concentración espermática, motilidad masal e individual), mientras que, para los tratamientos de semen centrifugado se añadieron las variables (porcentaje de espermatozoides vivos y muertos en pruebas microscópicas).

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente por ANOVA (análisis de varianza), donde no se encontró diferencia significativa a excepción de la concentración espermática la cual presentó diferencias estadísticas en los tratamientos (Tx2) y (Tx3) indicando que la concentración espermática variaría en dependencia de la fuerza centrífuga empleada.

Palabras Clave: Semen, Centrifugado, Concentración espermática, Calidad seminal, Técnicas convencionales.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the centrifuged porcine sperm of the Pietrain breed in order to obtain dose with high concentration of sperm, for which it was needed to work with 4 treatments: Tx0 (Control treatment) and different gravitational forces Tx1 (1200g), Tx2 (2200g) and Tx3 (3200g). 143 ml of pork sperm from Pietrain breed were applied, using a design completely random with 6 repetitions per treatment, the results were compared through the Tukey test to the 0.05, where different parameters were evaluated in order to determine the sperm quality. The variables considered to analyze the fresh sperm were obtained through a macroscopic research (color, smell, volume) and through microscopic tests (morphology, sperm concentration, mass and individual motility), meanwhile, for the treatments with centrifuged sperm the variables were added (alive and dead spermatozoids percentage in microscopic tests).

The obtained results were statistically analyzed by ANOVA (Variance Analysis), where there was no meaningful difference found, except from the sperm concentration which demonstrated statistic differences in the treatments (Tx2) and (Tx3) showing that the sperm concentration varies depending the centrifuged force applied.

Key Words: Sperm, Centrifuged, Sperm Concentration, Sperm Quality, Conventional Techniques.

INTRODUCCIÓN

En Latinoamérica hay diversas biotecnologías de la reproducción las cuales buscan maximizar la obtención de progenie a través del almacenamiento del material genético, volviéndose una práctica común la recolección, almacenamiento y el congelamiento de semen en diversas especies de animales de granja, sin embargo, las técnicas de recolección y procesamiento de semen se han mantenido a lo largo de los años, sobre todo en la especie porcina. Técnicas de recolección como la estimulación manual del animal es comúnmente usada, una vez se obtiene la muestra, el semen es procesado con la finalidad de eliminar impurezas y para proteger a las células espermáticas. Varias investigaciones sobre todo en equinos, sugieren que la centrifugación de la muestra podría ser un método que ayude a separar la fracción espermática del plasma seminal, por lo que se eliminarán las impurezas de la muestra permitiendo que haya una concentración de células mayor.

En el Ecuador al igual que en el resto de países Latinoamericanos, el procedimiento de semen en verracos incluye técnicas comunes que hasta hoy no se han perfeccionado, métodos como la dilución y el envasado de pajuelas son técnicas usadas sin prestar atención en las eficiencias reproductivas que puede generar dosis con altas concentraciones espermáticas generando tasas de concepción altas mejorando el número de las camadas, por lo cual, esta investigación hizo énfasis en la centrifugación de las muestras seminales para así generar dosis cuya concentración espermática sea alta tratando de mantener una buena viabilidad espermática.

Incluir la centrifugación en el procesamiento de semen, puede tener un alto impacto en la calidad seminal y el número de células que se generará al implementar este método se elevará, es de vital importancia comprender que la muestra seminal se comportará distinto dependiendo de la fuerza de centrifugación a las que son sometidas. Por lo que, si conseguimos la fuerza centrífuga idónea, lograremos que la muestra se divida de forma más homogénea para lograr tener la fracción rica en espermatozoides, lo que no los

abstendría de sufrir algún tipo de daño en la motilidad o en la estructura de las células espermáticas, sin embargo, se podría generar un método de procesamiento de semen de verraco la cual en su mayoría mantenga su integridad y la funcionalidad en las células espermáticas

CAPITULO I. MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

En la reproducción porcícola es de suma importancia generar buenos índices de concepción, por lo que, generalmente se busca emplear técnicas de recolección y almacenamiento de semen ya que el semen de un solo macho servirá para inseminar varias hembras y es primordial el análisis de la muestra seminal antes y después del manejo ya que, nos dará una pauta general de la calidad seminal mediante pruebas de laboratorio **(Rodríguez-Martí Nez, n.d.).**

Según **Rugeles-Pinto et al. (2013),** hay diversos métodos de recolección y conservación de semen de verraco los que generan una alta capacidad reproductiva que en consecuencia genera más lechones por camada. La refrigeración del semen con dilutor es un método que nos ayudará a maximizar los índices reproductivos y así sacar el máximo provecho a este método, además, hay que asegurarse de usar un diluyente de buena calidad. En términos generales, al usar esta biotecnología se podría mejorar la producción de lechones por año, triplicando las concepciones en comparación de los nacidos por monta natural.

De los métodos para separar la porción rica en espermatozoides del resto del plasma seminal, la más elegida en animales de reproducción ha sido la centrifugación de semen, es una buena elección para obtener dosis con mayor número de células espermáticas. En la investigación de **Restrepo et al. (2016),** en donde se usó fuerzas de 600, 1000 y 1800 g, las dosis con menores daños en las células espermáticas fueron las sometidas a 600 g, no obstante, los espermatozoides tienden a no sufrir daños estructurales en la membrana plasmática en fuerzas de centrifugación por debajo de los 1800g.

Según **Varela et al. (2015),** en su investigación verifica métodos para separación seminal en equinos, el método de centrifugado puede generar daños estructurales y funcionales en el espermatozoide tales como vitalidad espermática, motilidad progresiva y total, cabe recalcar que, dichos resultados fueron obtenidos cuando se usó fuerzas de centrifugación de 1000 g, además, menciona que en los bovinos cuando se usan fuerzas mayores a los 700 g de centrifugación, podría afectar al ADN de las células y también a su membrana plasmática reduciendo su funcionalidad.

Valverde y Madrigal (2019), indica que la concentración espermática en los eyaculados de verraco es el valor de mayor importancia a la hora de su conservación y su posterior uso. Si solo se decide estimar dicho factor, podemos tener reducciones significativas en la fertilidad y en consecuencia el retorno del estro también aumentará mientras que, el número de la camada y las tasas de parto disminuirán. La mayoría de las veces la concentración espermática se ve alterada, a lo mejor por añadir fracciones de diluyentes inadecuados modificando el número de dosis y las concentraciones celulares de las mismas.

Según **Ochoa (2016),** la centrifugación de semen se ha vuelto un paso de mucha importancia en las biotecnologías de la reproducción, el fin de dicho método es extraer el plasma seminal separándolo del resto de la muestra, sin embargo, la centrifugación generará peroxidación lipídica dañando las membranas de los espermatozoides, siendo así, se deberá tener precaución con la fuerza de la centrifugadora.

Por lo general se busca aprovechar la zona rica en espermatozoides del plasma seminal, lo que permitirá métodos biotecnológicos como inseminación artificial o crioconservación, siendo imperativo que en un laboratorio se cumpla con ciertas características, una de ellas, el tener una concentración espermática alrededor de los 200-

300 millones de células espermáticas por cada ml de semen **(Hernández y Domínguez, 2013).**

En la investigación de **Gosalvez et al. (2002),** el acrosoma del espermatozoide resulta dañado por la centrifugación, pero también, estimula la hipercinesis generando que las células espermáticas tengan una mayor actividad motora, para lo cual, es recomendable emplear fuerzas G distintas para evitar estos efectos que pueden resultar buenos o perjudiciales para la muestra.

Hernández-Corredor et al., (2013) en su investigación efectuada en caprinos concluyó que la centrifugación es una alternativa que ayudará al congelamiento seminal, resultando en una mejor calidad seminal sobre todo cuando en el proceso se utiliza diluyentes que tengan leche descremada o yema de huevo ya que, no se mezclarán con los fosfolípidos retirados previamente por la centrifugación evitando así la generación de sustancias tóxicas que afectarán a los espermatozoides.

1.2 Marco Teórico

1.2.1 Características Reproductivas del Verraco

- **Edad**

La madurez sexual en el verraco se da a las 30 semanas de edad. Cuando el verraco cruza esta edad, el sistema endocrino genera características sexuales como el lívido, además el verraco tendrá un aumento en el volumen de eyaculado y en la concentración espermática. Mientras que todos los factores reproductivos comienzan a descender a partir de la semana 48 **(Rodríguez-Martínez, n.d.).**

- **Raza**

En el caso de los verracos, se ha comprobado que razas como Large White, Yorkshire, Landrace (razas blancas) tienden a generar mayor volumen y concentración espermática en el eyaculado en comparación con razas como Pietrain o Duroc (razas oscuras) **(Sanglard et al., 2019).**

- **Condición corporal**

Es indispensable que el lívido de los verracos se mantenga alta, para lo cual, se debe mantener una condición corporal excelente en el verraco, además, si anhelamos que la producción espermática crezca, una alimentación a base de proteína y energía en altas cantidades es idóneo **(Sanglard et al., 2019).**

- **Tamaño testicular**

Los verracos con tamaño testicular por encima de los 17 cm^2 producirán eyaculados con mayor concentración y motilidad espermática **(Hafez, 2003).**

1.2.2 Extracción de semen

La extracción de semen de verraco se colectará de forma manual, con la mano enguantada y con la ayuda de un potro metálico para facilitar la extracción. El semen recolectado se depositará en primera instancia en bolsas de plástico y para ser transportadas al laboratorio se lo hará en un termo o en un medio a 36°C. En la bolsa se obtendrá dos sustancias, la primera es translucida, proveniente de la próstata y de excreciones de las glándulas

bulbouretrales y la otra sustancia denominada la rica en espermatozoides, generalmente de color blanco lechoso **(Izquierdo et al., 2015).**

1.2.3 Centrifugación de semen

La centrifugación de semen es un procedimiento que ha ido en auge en la reproducción de especies de granja ya que, dicho método ayuda a mejorar la calidad y motilidad espermática. Lo que busca esta técnica es separar la parte más rica en espermatozoides de los demás componentes del semen haciéndolos más resistentes a los medios a los que sea expuesto, además, el centrifugado elimina los espermatozoides muertos aumentando las tasas de fertilidad, sin embargo, las muestras seminales son sometidas a fuerzas de centrifugado altas o inestables, lo que puede resultar perjudicial para los espermatozoides afectando motilidad y funcionalidad **(Betacourt et al., 2016).**

1.2.4 Manejo de las muestras

A la hora de la extracción de semen, hemos de ser cuidadosos de no contaminar la muestra final para que la vitalidad de los espermatozoides no se vea alterada. Antes de ser llevada al laboratorio se tendrá listo un baño de agua a 36°C para mantener la temperatura de la muestra mientras se analiza en el laboratorio la calidad seminal **(INIFAP, 2009).**

1.2.5 Tipos de Diluyentes

El diluyente es un factor de suma importancia en la conservación de semen de verraco porque proveerá de nutrientes a los espermatozoides, que les permitirá tener vitalidad,

además, en caso de que se requiera enfriar o congelar, brindará protección a las bajas temperaturas y regulará el pH (6.9-7.1) **(Acuña, 2018).**

El diluyente permitirá que las células espermáticas mantengan su capacidad de fertilizar debido a que ayudará a conservar sus características funcionales. El diluyente deberá prometer diversas características entre las cuales se destacará: brindar nutrientes a las células espermáticas permitiendo su metabolismo, garantizar buenos índices de fertilidad y vida. Algunos diluyentes están hechos a base de yema de huevo, lactosa, etc. El diluyente Nutrixcell es usado para el almacenamiento y enfriamiento de semen de verraco además de proporcionar tasas de no retorno y de concepción relativamente altas **(Bravo, n.d.).**

1.2.6 Calidad Seminal

Para analizar la calidad seminal, tendremos que ver primero la cantidad de semen obtenida del eyaculado (150-250 ml), es importante que el semen obtenido debe estar a más de 35°C para que así los espermatozoides mantengan su vitalidad, si la muestra seminal es expuesta a condiciones adversas, la viabilidad se reducirá. Todo material que vaya a estar en contacto directo con la muestra deberá estar esterilizado y precalentado a 35°C. En el laboratorio se podrá valorar la motilidad y morfología, además, de forma inmediata se valorará el color y olor que podría indicar que hay alguna anomalía en la muestra **(Klein, 2014).**

De manera general, podemos decir las valoraciones consideradas óptimas para procesar una muestra seminal:

Color: El color del semen de carnero debe ser blanco lechoso, si hay algún tipo de color anormal, se deberá descartar la muestra.

Volumen: El volumen normal del carnero es de 150- 250 ml.

Olor: El olor es comúnmente inoloro (Sui generis).

Morfología: El semen de verraco debe tener una motilidad mayor al 75%, mientras que el porcentaje de espermatozoides anormales debe ser menor al 10%.

Motilidad Masal: Aquí se valorará de forma subjetiva la calidad de movimientos de los espermatozoides de una misma muestra en el microscopio, la motilidad masal e individual será medido desde 0, siendo la peor valoración, hasta 4, que es la mejor valoración.

Espermatozoides Anómalos: En la muestra el total de espermatozoides con algún tipo de anormalidad no deberá ser mayor al 10% pero, si la muestra presenta más de 20% la fertilidad del verraco deberá ser valorada a profundidad **(Tapia, 2014).**

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

- Evaluar semen porcino centrifugado de raza Pietrain para la obtención de dosis con alta concentración espermática

1.3.2 Objetivos Específicos

- Centrifugar a 1200, 2200 y 3200 g, por 10 minutos muestras de semen porcino de raza Pietrain para el procesamiento de dosis con alta concentración espermática.

- Evaluar la calidad seminal de muestras procesadas de forma convencional frente a muestras de alta concentración espermática obtenidas mediante centrifugación.

CAPITULO II. METODOLOGÍA

2.1 Ubicación del estudio

Esta investigación se llevó a cabo en la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de ciencias Agropecuarias en el cantón Cevallos en la provincia de Tungurahua. Ubicado a 2865 msnm. Coordenadas geográficas: 01°22´02" de latitud Sur y 78°36´20" latitud Oeste **(Geta Map, 2023).**

2.2 Características del lugar

Tabla 1: *Características meteorológicas*

Parámetros	Valor
Altitud, msnm	2865
Humedad, %	70.7
Temperatura, °C	13-16
Precipitación, mm/mes	27.17

Fuente: **(Geta Map, 2023)**

2.3 Equipos y Materiales

2.3.1 Equipos

- Microscopio
- Vortex
- Baño de agua caliente

- Centrifugadora

2.3.2 Materiales

- Agua bidestilada
- Balanza
- Probetas
- Vasos de precipitación
- Micropipeta y micropuntas
- Papel aluminio
- Termómetro de agua
- Termómetro común
- Guantes
- Alcohol
- Diluyente

2.3.3 Materiales de oficina

- Calculadora
- Marcador indeleble
- Papel filtro

2.4 Factores de estudio

2.4.1 Factor 1

- Método de centrifugado

2.4.2 Factor 2

- Calidad seminal de las dosis centrifugadas

2.5 Manejo del experimento

2.5.1 Extracción de semen

Las dosis seminales fueron extraídas a través del método de presión manual, para lo cual, se necesitó que los verracos cuenten con entrenamiento posterior para que las extracciones sean más fáciles, gracias a esto, los verracos usados para la extracción no tuvieron problemas para montar el caballete, con ayuda de una bolsa se tomó la extremidad espiralada del verraco haciendo una ligera presión. El eyaculado se recogió en bolsas de extracción las cuales estaban en un medio a unos 36°C, la bolsa tuvo porciones las que ayudaron a filtrar las fracciones seminales, luego se llevó la muestra al laboratorio para su análisis. Fueron transportadas en un medio a 36°C.

2.5.2 Manejo y dilución de semen

Una vez recolectado el semen, se lo transportó al laboratorio en el cual, previamente se dejó un baño de agua a unos 36°C en donde reposó el semen hasta que se mezcló con el dilutor NUTRIXcell® y luego se analizó las muestras mediante pruebas de laboratorio.

La muestra seminal se dividió en 4 fracciones iguales (5 ml) en tubos eppendorf.

El primer tubo con muestra seminal fue diluido a porciones de 1:3 respectivamente para finalmente ser analizado realizando las pruebas de laboratorio

El segundo frasco con semen, fue centrifugado a fuerzas de 1200 g durante 10 minutos, luego con la ayuda de una micropipeta se retiró el plasma seminal dejando únicamente la

fracción rica en espermatozoides, se añadió el diluyente a fracción de 1:3 respectivamente, se mezcló el tubo y se analizó la muestra para determinar la calidad seminal.

El tercer tubo con líquido seminal fue llevado a centrifugar a fuerza de 2200 g durante 10 minutos, luego se extrajo el plasma seminal dejando únicamente la fracción rica en espermatozoides, se añadió el diluyente a fracción de 1:3 y se realizó pruebas para determinar la calidad seminal.

El cuarto tubo con líquido seminal fue sometido a centrifugación a fuerza de 3200 g, luego se extrajo el plasma seminal separándolo de la fracción rica en espermatozoides, se añadió el diluyente a fracción 1:3 respectivamente y se determinó la calidad seminal en pruebas de laboratorio.

Una vez se obtuvo las muestras diluidas, se realizó pruebas morfológicas para comprobar las anormalidades que podría generar el método de centrifugación para cada una de las 4 muestras, con ayuda de una micropipeta se recolectó 5 µl de una muestra en un portaobjetos en conjunto con una gota de eosina y se realizó un frotis por todo el portaobjetos, con la ayuda de un cubreobjetos y de un microscopio con un lente x100, se contó al menos 100 células espermáticas independientemente si tenga lesiones o no, se sacó el porcentaje de los espermatozoides con anormalidades morfológicas en contraste con los normales y finalmente se contó las células espermáticas vivas o muertas con ayuda de la tinción eosina nigrosina, este procedimiento se lo realizó a cada muestra.

5.3.3 Concentración Espermática

Para obtener la concentración espermática de cada muestra, se utilizó la cámara de Neubauer, en la cual, se contaron las células espermáticas en cada uno de los cuatro

cuadrantes, se sumó los 64 resultados obtenidos y se los multiplicó por 2.5 y el resultado obtenido fueron los millones de células espermáticas ($x10^6$) en ml de muestra seminal.

2.6 Variable Respuesta

- **Morfología espermática**: la morfología espermática fue evaluada a través de las lesiones primarias y secundarias en los espermatozoides y fue cuantificada por cada 100 células.

- **Motilidad masal:** La motilidad masal fue evaluada por medio de un microscopio, la actividad en masa fue agrupada de acuerdo con la escala de la siguiente tabla:

Tabla 2: *Tabla de porcentaje de aceptación para la motilidad masal*

Grupo	Tipo de movimiento	Porcentaje de aceptación
1	De remolino	+70%
2	De onda	-40%
3	Oscilatorio	41-60%
4	Sin movimiento	61-75%

Fuente: **Tríbulo et al., (2014)**

- **Motilidad individual**: La motilidad individual fue evaluada mediante microscopia, la motilidad progresiva de cada espermatozoide fue cuantificada de acuerdo al siguiente cuadro:

Tabla 3: *Tabla de porcentaje de aceptación para la motilidad individual*

Grupo	Tipo de movimiento	Porcentaje de aceptación
1	Rectilíneo de avanzada progresiva	71-100%
2	Rectilíneos con fracciones de tiempo interrumpidas	61-70%
3	Circulares	41-60%
4	Estático	<40%

Fuente: **Tríbulo et al., (2014)**

CAPITULO III. RESULTADO Y DISCUSIÓN

3.1 Resultado Objetivo General

***Tabla 4**: Características de semen de cerdo en fresco*

Variables						
Color	**Olor**	**Volumen**	**Concentración Espermática**	**morfología**	**mov individual**	**mov masal**
Blanco lechoso	Sui generis	147.33 ml	621 $x10^6$/ml	88.31%	95.16%	98%

Los resultados obtenidos en esta investigación, reportados en la Tabla 3 sobre los parámetros como el olor y el color de semen, concuerda con lo mencionado por **Izquierdo et al. (2015)** en su investigación, sin embargo, en parámetros como el volumen y la concentración espermática hay variaciones. Según menciona **Klein (2014),** el volumen promedio del eyaculado de un verraco es de 150-250 ml, siendo levemente superior los 140 ml promedios obtenidos en la presente investigación. En cambio, la concentración espermática obtenida fue de 621 $x10^6$/ml, el doble de lo mencionado por **Klein (2014),** en su libro, la concentración espermática normal tiene un rango de 200-300 $x10^6$/ml. Sin embargo, la investigación de **Acosta et al. (2008),** arrojó resultados similares en los parámetros de movilidad masal e individual, teniendo un promedio de 77.15%. **Valle Rodríguez (2017)**, en su estudio, menciona que la motilidad aceptada se encuentra en un rango de 60-85%.

Todos estos parámetros son indicadores para determinar la función reproductiva de los verracos usados en el experimento, pero también, podemos estimar la capacidad de fertilizar del espermatozoide y de la calidad seminal general, en este caso, podemos determinar que la calidad seminal con la que se trabajó en esta investigación fue excelente.

3.2 Resultado Objetivo Específico 1

Tabla 5: *Características de semen de cerdo centrifugado a distintas fuerzas*

Variables	Tratamientos				E.E	p-Valor
	Tx0	Tx1	Tx2	Tx3		
Morfología Normal %	77.33 [a]	70.19 [a]	77.72 [a]	77.50 [a]	3.27	0.9663
Anormalidades%	22.14 [a]	29.80 [a]	22.18 [a]	22.48 [a]	3.25	0.9793
Concentración espermática spzx/ml	1199 $x10^6$/ml [a]	2620 $x10^6$/ml [a]	4601 $x10^6$/ml [b]	6253 $x10^6$/ml [c]	415 $x10^6$/ml	<0.0001
Vivos %	80.47 [a]	70.65 [a]	78.62 [a]	77.24 [a]	3.02	0.1370
Muertos %	19.51 [a]	29.34 [a]	21.07 [a]	22.24 [a]	3.02	0.1366
Motilidad masal %	94.50 [a]	90.16 [a]	91.16 [a]	89.83 [a]	3.27	0.7034
Motilidad individual %	93.16 [a]	89.66 [a]	91.33 [a]	90.66 [a]	2.54	0.7917

[a-b-c] las medias con letras distintas entre columnas representan diferencias significativas, cuando P<0.05. Tx0: tratamiento control, sin centrifugación. Tx1: tratamiento centrifugado a 1200g. Tx2: tratamiento centrifugado a 2200 g. Tx3: tratamiento centrifugado a 3200g. E.E: Error estándar de la media.

El método de centrifugado se estima que puede generar daños mecánicos durante dicho proceso, al experimentar fuerzas mecánicas y a cambios de presión, dichos eventos pueden generar que la membrana plasmática del espermatozoide se vea afectada, sin embargo, la Tabla 4 indica los resultados obtenidos en la investigación, los cuales no muestran variaciones significativas entre muestras centrifugadas a diferente fuerza, excepto para la variable de concentración espermática. En este sentido, si analizamos los parámetros evaluados, los resultados obtenidos son positivos. En la morfología, el promedio logrado para las muestras centrifugadas a fuerzas de 1200 g (Tx1) fue de 70.19%, mientras que para las muestras sometidas a 2200 g (Tx2) fue de 77.72% y finalmente para aquellas sometidas a fuerzas de 3200 g (Tx3) fue de 77.50%, siendo porcentajes relativamente normales ya que lo aceptado en una muestra es 75%, mientras que, los porcentajes de anormalidades comúnmente aceptados es mínimo 25%, en esta investigación el mayor valor numérico de anormalidades es de las muestra centrifugada a 1200 g (Tx 1) 29.80%, sin embargo, las muestras son iguales estadísticamente. Por el contrario, en la investigación de **Gosalvez et al. (2002),** hay registros del 59% en muestras centrifugadas a 250 g y el mayor porcentaje recogido fue 71.2%, similar al porcentaje registrado en la presente investigación en centrifugaciones de 1200 g (Tx1), pero los datos a 2200 (Tx2) y 3200 g (Tx3) son numéricamente mayores.

Los porcentajes de espermatozoides vivos y muertos son un indicativo crucial para determinar la calidad seminal final. Obviamente, mientras mayor sea el porcentaje de células vivas frente al porcentaje de células muertas, la calidad seminal será mejor. Con la ayuda del método de centrifugación se espera que los espermatozoides muertos sean suspendidos durante el proceso para que sean eliminados junto con el plasma seminal y así las células espermáticas vivas se concentren en la fracción rica en espermatozoides. En todos los tratamientos de este estudio se obtuvieron datos positivos, teniendo el menor porcentaje registrado (70%) de espermatozoides vivos en las muestras centrifugadas a 1200 g, mientras que, su porcentaje de muertos fue de 30%, dichos porcentajes son similares para las muestras centrifugadas a 2200 (Tx2) y 3200 g (Tx3), así por ejemplo, con la centrifugación a 2200 g (Tx2) se obtuvieron resultados de 78% vivos y 22%

muertos, en cambio, para las muestras de 3200 g los resultados de vivos y muertos fueron 77% y 23% respectivamente, finalmente, la muestra con mayor porcentaje numérico de espermatozoides vivos en relación a los muertos fue de la muestra control (Tx0) registrando porcentajes de 80% vivos y 20% muertos. Datos que concuerdan con los obtenidos por **Ortiz et al., (2014)** donde, las muestras seminales sometidas a centrifugación, generaron variaciones significativas, entre las cuales, los parámetros a destacar fueron: porcentaje de espermatozoides vivos de 71.1%, mientras que, para los espermatozoides con morfología normal el porcentaje fue de 87%, resultados similares a los obtenidos en este estudio.

En cuanto a la motilidad masal, esta investigación obtuvo datos similares, sin embargo, la muestra que mejor porcentaje numérico registró, fue el tratamiento control (Tx0), logrando 94.5% de motilidad, al contrario, los tratamientos sometidos a 1200 (Tx1), 2200 (Tx2) y 3200 g (Tx3) obtuvieron 90.16%, 91.16% y 89.83% respectivamente, siendo estadísticamente iguales, pero si plasmamos estos porcentajes en la tabla de aceptación de motilidad, los ubicamos en el grupo 1, teniendo en su mayoría movimientos de remolino. Según **Olivia et al. (2017)**, las razones por las cuales el método de centrifugación causaría una reducción en la motilidad, se debería al estrés producido sobre la membrana plasmática del espermatozoide y a la producción de material reactivo de oxígeno. Por otra parte, en la investigación de **Len et al., (2010)** en la centrifugación de las muestras seminales en equinos, sometidos a fuerzas de 400, 900 y 4500 g, se comprobó que el método de centrifugado podría afectar de manera negativa a la viabilidad y motilidad espermática de la muestra, por otro lado, la muestra que se halló con más efectos negativos de centrifugación fue la del semen diluido y centrifugado a 4500 g por 10 minutos, dicho efecto negativo fue resultado de la fuerza elevada a la que se sometió las muestras seminales, a pesar de esto, no se logró apreciar dichos efectos en el semen de cerdo ya que los datos arrojados en esta investigación fueron los siguientes: se registraron 4 promedios de motilidad individual, para el tratamiento control (Tx0) que es de semen sin centrifugar, los resultados arrojaron un 93.16%, mientras que para las muestras centrifugadas a 1200 g (Tx1) el resultado fue de 89.66%, para las muestras de 2200 g

(Tx2) fueron de 91.33% y finalmente para aquellas centrifugadas a 3200 g (Tx3) el resultado fue de 90.66%.

En contraste con los datos obtenidos por **Gosalvez et al., (2002)**, la motilidad individual con mayor porcentaje fueron las muestras centrifugadas a 250 y 1010 g logrando porcentajes alrededor de 45%, mientras que, para las muestras control (Tx0) fueron numéricamente mayores, generando un 51.8% de motilidad individual que no deja de ser mucho menor a los resultados obtenidos en esta investigación, en los cuales, el menor porcentaje registrado fue de 89%, colocándolo en la tabla de porcentajes de aceptación, estará promediado en el grupo 1, concuerda con lo mencionado por **Zemjanis (1987)**, quien indica que el semen centrifugado durante 15, 10 o 5 minutos se clasificarían como una motilidad individual muy buena.

Por otro lado, las concentraciones espermáticas comerciales aceptadas son de 2000-3000 $x10^6$/ml coincidiendo la concentración registrada en (Tx1), pero, para los tratamientos (Tx2) y (Tx3), las fuerzas centrifugas aumentaron numéricamente las células espermáticas por cada ml de muestra logrando obtener dosis espermáticas ultraconcentradas cuyos valores rondan los 4000-6000 $x10^6$ spzx/ml, resultando más del doble que las concentraciones de dosis seminales comerciales, no obstante, las muestras ultraconcentradas requieren menos volumen lo que podría facilitar la administración intrauterina precisa y por consiguiente, la probabilidad de que los espermatozoides alcancen y fertilicen el óvulo es mucho mayor, las tasas de concepción pueden elevarse al igual que la eficiencia reproductiva, lo que podría generar en tasas de preñez similares o mayores a técnicas más complejas, como la fecundación in vitro o la inyección intracitoplasmática de espermatozoides, en términos generales, aplicar I.A con dosis seminales ultraconcentradas puede ser un método favorable no solo para la industria porcícola, si no también lo puede ser para la industria pecuaria en general.

3.3 Resultado Objetivo Específico 2

Tabla 6: *Anormalidades halladas en el semen de cerdo centrifugado a distintas fuerzas*

Anormalidades	Tratamientos				E.E	p-Valor
	Tx0	Tx1	Tx2	Tx3		
Cabeza Suelta %	13.21[a]	12.32[a]	8.93[a]	8.75[a]	3.19	0.6742
Defectos de cola %	4.89[a]	4.51[a]	4.88[a]	5.32[a]	1.61	0.9878
Cabeza piriforme %	3.08[a]	3.38[a]	8.44[a]	8.24[a]	2.24	0.1914
DAG %	0.11[a]	0[a]	0[a]	0[a]	0.06	0.4133

[a] las medidas con letras iguales suponen que no existe alguna diferencia significativa, por lo que $p < 0.05$. Tx0: tratamiento control, sin centrifugación. Tx1: tratamiento centrifugado a 1200g. Tx2: tratamiento centrifugado a 2200 g. Tx3: tratamiento centrifugado a 3200g. E.E: Error estándar de la media.

La presente investigación también evaluó los distintos tipos de anormalidades de lesiones halladas entre las cuales existen: cabezas sueltas, cabezas piriformes, defectos de cola, DAG (Tabla 5). Se contaron mediante microscopia 100 células y se promediaron en dependencia de la existencia o no de anormalidades. Para los daños en el acrosoma se tomó en cuenta las lesiones de cabeza ya mencionadas; para las cabezas sueltas, en el tratamiento que no se centrifugó (Tx0), se halló un promedio de 13.21%, mientras que para los tratamientos centrifugados a 1200 (Tx1), 2200 (Tx2) y 3200 g (Tx3) los resultados fueron 12.32%, 8.93% y 8.75% respectivamente. En cambio, para las cabezas piriformes se hallaron en un porcentaje de 3.08% en muestras sin centrifugar (Tx0), mientras que, para para las muestras centrifugadas, la menor registrada es con fuerzas de 1200g (Tx1) con un porcentaje de 3.38%, las otras dos fuerzas de centrifugación (2200 y 3200 g) registraron porcentajes de 8.44 y 8.24%.

Los defectos de cola tales como: cola enrollada, doblada o rota fueron tomadas en cuenta en un solo parámetro, teniendo presente que, los defectos de cola suelen afectar la motilidad de la prueba. Los resultados para las muestras sin centrifugar (Tx0) fueron de 4.89%, las muestras centrifugadas no mostraron resultados con variaciones significativas para ser consideradas, en fuerzas de 1200 g (Tx1) se obtuvo un 4.51% en defectos de cola, para las fuerzas 2200 (Tx2) se registró un 4.88% y finalmente para las muestras de 3200 g (Tx3) el porcentaje de defectos de cola fue un 5.32%.

De todas las muestras analizadas, la anormalidad adicional que se detectó fue el defecto DAG, sin embargo, dicho defecto solo fue registrado en muestras que no se sometieron a centrifugación (Tx0) registrando datos de 0.11%, en las demás muestras no se registraron estos defectos.

En la investigación de **Gosalvez et al., (2002)**, se tomó en cuenta los daños acrosomales generales, en los resultados para las tres fuerzas usadas en la investigación (250, 1010, 2250g), ninguna de las 3 muestras resultó con variación significativa, teniendo un mayor porcentaje la centrifugación a 1010 g resultando en 53.1% y la centrifugación a 2250 g mostró el menor porcentaje 49.4%, en comparación con los datos recogidos en la actual investigación son relativamente mayores, sin embargo, en contraste con los datos del autor antes mencionado, hay que señalar que su estudio también registró datos para estimar espermatozoides con cresta apical normal generando un mayor porcentaje (71.2%) para las fuerzas 1010g.

3.4 Comprobación de la hipótesis

En base a los resultados obtenidos en esta investigación, se rechaza la hipótesis alternativa ya que no hubo variación significativa en los parámetros analizados, exceptuando la concentración espermática, que es el parámetro que más se logró potencializar, logrando muestras con excelentes concentraciones espermáticas por cada ml de muestra seminal.

CAPITULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

Se concluye que el método de centrifugación es una alternativa idónea para lograr maximizar la concentración espermática por cada ml en una muestra seminal, logrando así variaciones significativas entre muestras centrifugadas, de forma general, en las muestras sometidas a 3200 g se logró duplicar el número de espermatozoides por ml en comparación a las concentraciones espermáticas comerciales.

La centrifugación de semen es un factor que no genera cambios extremos en la muestra, tampoco afecta a la calidad seminal final. La fuerza de centrifugación usada y las anormalidades halladas no guardan relación entre sí, por lo que al centrifugar a 1200, 2200 y 3200 g se obtendrán resultados estadísticamente similares en todos los parámetros, exceptuando la concentración espermática que tendrá variaciones numéricas y estadísticas en dependencia a la fuerza empleada.

4.2 Recomendaciones

Usar tubos para centrifugación redondos ya que, en los tubos cónicos usados se halló parte de la muestra seminal centrifugada precipitada al final del tubo.

Centrifugar muestras seminales entre 2200 y 3200 g para lograr aumentar las dosis seminales por inseminación, además se disminuirá los espermatozoides anómalos por lo que se podría obtener camadas más numerosas y sanas.

REFERENCIAS

Acosta, J., Perdigón, R., & Resumen, M. R. (2008). Valoración de indicadores de calidad seminal porcina, utilizando la fracción rica del eyaculado* Valuation of seminal quality indicators in boars, using the rich fraction of the Ejaculated 1 1. In *Rev. Unell. Cienc. Tec* (Vol. 26).

Acuña, D. (2018). *Comportamiento de la cinética folicular en ovejas sincronizadas con diferentes hormonas liberadoras de gonadotropinas*. Universidad Técnica de Ambato.

Bravo, M. V. O. 2015. (n.d.). *Sitio Argentino de Producción Animal MANEJO DEL SEMEN PARA LA PRODUCCIÓN DE DOSIS*. www.produccion-animal.com.ar

Elizabeth Varela, G., Juan Esteban Duque, C., Mónica Ramírez, H., Daniel Ocampo, V., Juan David Montoya, P., & Giovanni Restrepo, B. (2015). Effect of four sperm separation methods on quality and in vitro fertilizing capacity of cryopreserved stallion spermatozoa. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, *26*(3), 451–461. https://doi.org/10.15381/rivep.v26i3.11188

Gosalvez, L., Valdelvira, J., Alvariño, J., Averos, X., & Babot, D. (2002). Quality of frozen semen from crossbred boars (Ibérico × Landrace) related to centrifugation methodology. In *J Swine Health Prod* (Vol. 12, Issue 2). http://www.aasv.org/shap.html.

Hafez. (2003). *Capítulo 3: Manejo del verraco en IA Porcina Anatomía del Sistema Reproductor del Macho*.

Hernández-Corredor, L., Nivia-Osuna, A., Hernández-Villamizar, D., Rubio-Parada, J., & Quintero-Moreno, A. (2013). *Evaluación de la motilidad espermática a través del sistema c.a.s.a de semen caprino criopreservado bajo diferentes medios diluyentes motility sperm evaluation system through c.a.s.a goat semen under different media Diluents*.

INIFAP. (2009). *Comparación de dos diluyentes comerciales para preservar semen bovino*.

Izquierdo, C., Pérez Gutiérrez, ;, Méndez Hernández, ;, Mancera, V., & Crispín, H. (2015). Obtención, evaluación y manipulación del semen de verraco en una unidad de producción mexicana. In *Rev vet* (Vol. 26, Issue 1). www.vet.unne.edu.ar

Karen, A., & Domínguez, H. (2013). *"Viabilidad y función espermática de semen descongelado de porcino adicionado con plasma seminal homólogo."*

Klein, B. G. (2014). *Cunningham. Fisiología Veterinaria*. https://doi.org/10.1016/B978-84-9022-317-8/00056-7

Len, J. A., Jenkins, J. A., Eilts, B. E., Paccamonti, D. L., Lyle, S. K., & Hosgood, G. (2010). Immediate and delayed (after cooling) effects of centrifugation on equine sperm. *Theriogenology*, *73*(2), 225–231. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.09.003

Ochoa, A. (2016). *Evaluación de diferentes tiempos y fuerzas g en semen equino. Caracterización del sobrenadante*.

Olivia, B., Rae, V., León, J., Peluche, K., & Kirkwood, R. (2017). *Comunicación corta Efectos de la centrifugación y eliminación del plasma seminal. sobre la motilidad del esperma fresco de verraco*.

Ortiz, I., Dorado, J., Ramírez, L., Morrell, J. M., Acha, D., Urbano, M., Gálvez, M. J., Carrasco, J. J., Gómez-Arrones, V., Calero-Carretero, R., & Hidalgo, M. (2014). Effect of single layer centrifugation using Androcoll-E-Large on the sperm quality parameters of cooled-stored donkey semen doses. *Animal*, *8*(2), 308–315. https://doi.org/10.1017/S1751731113002097

Restrepo Betacourt, G., Cantero Naclares, J. M., & Montoya Paez, J. D. (2016). Efecto de la centrifugación sobre la integridad y la funcionalidad de espermatozoides equinos. *Biotecnoloía En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, *14*(1), 119. https://doi.org/10.18684/BSAA(14)119-125

Rodríguez-Martí Nez, H. (n.d.). *Manejo reproductivo del verraco*.

Rugeles-Pinto, C., Caicedo-Toro, R., Almentero-Suárez, C., Linares-Arias, J., & Vergara-Garay, O. (2013). *Viabilidad de semen porcino refrigerado con diluyente mra ®. nota técnica viability of porcine semen preserved with mra ® diluent. technical note: Vol. XXIII*.

Sanglard, L. P., Leach, R. J., Gomez-Léon, V. E., & Serão, N. V. L. (2019). Relationship between the testis size in male pigs and reproductive traits in their progeny. *Livestock Science, 228*, 72–75. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.08.002

Tapia, L. (2014). *Valoración seminal en ovinos de raza corriedale y mestizos en la parroquia Cochapamba del cantón Saquisilí"*. Universidad Técnica de Cotopaxi.

Tríbulo, H., Barth, A., Bo, G., Carcedo, J., Brogliatti, G., Tríbulo, R., (2014). *Evaluación de toros y calidad seminal*. Instituto de Reproducción Animal Córdoba.

Valle Rodríguez, D. (2017). *Evaluación de la calidad espermática de sementales porcinos utilizados en la monta natural-Evaluation of boar sperm quality for natural mating*. http://www.veterinaria.org/revistas/redvet2017Volumen18Nº10-http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101017.html

Valverde, A., & Madrigal, M. (2019). *Viabilidad en los métodos de estimación de la concentración espermática en verracos*.

Zemjanis, R. 1987. Reproducción Animal. Diagnósticos y técnicas terapéuticas. Trad. D. Pacheco. D.F. México. Ed. LIMUSA, S.A. 253 p.

ANEXOS

Anexo 1. Gráfico de semen en fresco

Peso

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Peso (ml)	24	0.00	0.00	25.65

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.00	3	0.00	0.00	>0.9999
trt	0.00	3	0.00	0.00	>0.9999
Error	28563.41	20	1428.17		
Total	28563.41	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=61.06923

Error: 1428.1707 gl: 20

trt	Medias	n	E.E.	
3	147.33	6	15.43	A
2	147.33	6	15.43	A
1	147.33	6	15.43	A
0	147.33	6	15.43	A

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

Concentración espermática

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Concentracion espermatica ..	24	0.00	0.00	5.25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.00	3	0.00	0.00	>0.9999
trt	0.00	3	0.00	0.00	>0.9999
Error	213333333333333300.00	20	10666666666666670.00		
Total	213333333333333300.00	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=52777246.15267

Error: 10666666666666.3800 gl: 20

trt	Medias	n	E.E.	
3	621666666.67	6	13333333.33	A
2	621666666.67	6	13333333.33	A
1	621666666.67	6	13333333.33	A
0	621666666.67	6	13333333.33	A

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

Motilidad Masal

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Mot. Masal en fresco (%)	24	0.00	0.00	0.86

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.00	3	0.00	0.00	>0.9999
trt	0.00	3	0.00	0.00	>0.9999
Error	14.00	20	0.70		
Total	14.00	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.35201

Error: 0.7000 gl: 20

trt	Medias	n	E.E.	
3	97.50	6	0.34	A
2	97.50	6	0.34	A
1	97.50	6	0.34	A
0	97.50	6	0.34	A

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

Anexo 2. Gráfico de semen centrifugado a distintas fuerzas

Morfología

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
morfologia (%)	24	0.01	0.00	10.27

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	16.77	3	5.59	0.09	0.9663
trt	16.77	3	5.59	0.09	0.9663
Error	1282.27	20	64.11		
Total	1299.04	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=12.93918

Error: 64.1134 gl: 20

trt	Medias	n	E.E.	
0	77.08	6	3.27	A
3	77.51	6	3.27	A
2	77.89	6	3.27	A
1	79.31	6	3.27	A

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

Anormalidades

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Anormalidades (%)	24	0.01	0.00	36.42

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	11.77	3	3.92	0.06	0.9793
trt	11.77	3	3.92	0.06	0.9793
Error	1269.33	20	63.47		
Total	1281.10	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=12.87374

Error: 63.4665 gl: 20

trt	Medias	n	E.E.	
1	20.68	6	3.25	A
0	22.15	6	3.25	A
2	22.18	6	3.25	A
3	22.48	6	3.25	A

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

Vivos

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Vivos (%)	24	0.24	0.12	9.62

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	339.86	3	113.29	2.07	0.1370
trt	339.86	3	113.29	2.07	0.1370
Error	1096.88	20	54.84		
Total	1436.73	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=11.96730

Error: 54.8438 gl: 20

trt	Medias	n	E.E.	
1	70.65	6	3.02	A
3	77.75	6	3.02	A
2	78.92	6	3.02	A
0	80.48	6	3.02	A

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

Muertos

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Muertos (%)	24	0.24	0.12	32.16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	340.66	3	113.55	2.07	0.1366
trt	340.66	3	113.55	2.07	0.1366
Error	1098.02	20	54.90		
Total	1438.68	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=11.97355

Error: 54.9011 gl: 20

trt	Medias	n	E.E.	
0	19.52	6	3.02	A
2	21.04	6	3.02	A
3	22.25	6	3.02	A
1	29.34	6	3.02	A

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

Motilidad Masal

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Mot Masal (%)	24	0.07	0.00	8.76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	91.13	3	30.38	0.47	0.7034
trt	91.12	3	30.37	0.47	0.7034
Error	1279.83	20	63.99		
Total	1370.96	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=12.92689

Error: 63.9917 gl: 20

trt	Medias	n	E.E.	
3	89.50	6	3.27	A
1	90.00	6	3.27	A
2	91.17	6	3.27	A
0	94.50	6	3.27	A

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

Motilidad Individual

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Mot Individual (%)	24	0.05	0.00	6.83

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	40.33	3	13.44	0.35	0.7917
trt	40.33	3	13.44	0.35	0.7917
Error	775.00	20	38.75		
Total	815.33	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=10.05931

Error: 38.7500 gl: 20

trt	Medias	n	E.E.	
1	89.67	6	2.54	A
3	90.50	6	2.54	A
2	91.33	6	2.54	A
0	93.17	6	2.54	A

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

Concentración espermática

Concentracion espermatica (x10*6/ml

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Concentracion espermatica	24	0.81	0.78	27.76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8.84943087916666E19	3	2.94981029305555E19	28.44	<0.0001
trt	8.84943087916667E19	3	2.94981029305556E19	28.44	<0.0001
Error	2.07455951666667E19	20	1.03727975833333E18		
Total	1.09239903958333E20	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1645812343.93028

Error: 1.0372797583333345 3E0018 gl: 20

trt	Medias	n	E.E.	
0	1199500000.00	6	415788359.29	A
1	2620333333.33	6	415788359.29	A
2	4601500000.00	6	415788359.29	B
3	6253833333.33	6	415788359.29	C

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

Anexo 3. Gráfico de anormalidades en semen centrifugado a distintas fuerzas

Cabezas sueltas

Cbs %

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Cbs %	24	0.07	0.00	72.23

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	94.78	3	31.59	0.52	0.6742
txt	94.78	3	31.59	0.52	0.6742
Error	1218.18	20	60.91		
Total	1312.95	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=12.61166

Error: 60.9088 gl: 20

txt	Medias	n	E.E.	
3	8.76	6	3.19	A
2	8.93	6	3.19	A
1	12.32	6	3.19	A
0	13.21	6	3.19	A

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

Cabezas Piriformes

Cbs Piri %

Variable	N	R²	R² Aj	CV
Cbs Piri %	24	0.21	0.09	94.76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	156.90	3	52.30	1.74	0.1914
txt	156.90	3	52.30	1.74	0.1914
Error	601.66	20	30.08		
Total	758.56	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=8.86325

Error: 30.0830 gl: 20

txt	Medias	n	E.E.	
0	3.09	6	2.24	A
1	3.38	6	2.24	A
3	8.24	6	2.24	A
2	8.44	6	2.24	A

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

Defectos de cola

Def col %

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
Def col %	24	0.01	0.00	80.41

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.01	3	0.67	0.04	0.9878
txt	2.01	3	0.67	0.04	0.9878
Error	310.84	20	15.54		
Total	312.85	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=6.37067

Error: 15.5419 gl: 20

txt	Medias	n	E.E.	
1	4.51	6	1.61	A
2	4.88	6	1.61	A
0	4.89	6	1.61	A
3	5.33	6	1.61	A

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

Defectos DAG

dag %

Variable	N	R^2	R^2 Aj	CV
dag %	24	0.13	0.00	489.90

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.06	3	0.02	1.00	0.4133
txt	0.06	3	0.02	1.00	0.4133
Error	0.42	20	0.02		
Total	0.48	23			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.23420

Error: 0.0210 gl: 20

txt	Medias	n	E.E.	
3	0.00	6	0.06	A
2	0.00	6	0.06	A
1	0.00	6	0.06	A
0	0.12	6	0.06	A

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

Anexo 4. Extracción de semen





Anexo 5. Procesamiento de semen



Anexo 6. Centrifugación de semen



Anexo 7. Análisis de semen

