



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

FACULTAD DE INGENIERÍA ZOOTECNIA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA ZOOTECNIA

Uso del test de termorresistencia para evaluar la viabilidad del
semen congelado de los toros del banco nacional de semen

TESIS

Para optar el título profesional de Ingeniera Zootecnista

AUTORA:

Bach. Karesly Jackeline Farroñan Chapoñan

ASESOR:

Ing. Coter Apaza Beatriz Del Pilar, MSc. (0000-0001-8388-0098)

Lambayeque, 24 de noviembre de 2021

**Uso del test de termorresistencia para evaluar la viabilidad del semen
congelado de los toros del banco nacional de semen**

TESIS

Para optar el título profesional de:

INGENIERA ZOOTECNISTA

AUTORA

Bach. Farroñan Chapoñan Karesly Jackeline

Aprobada por el siguiente jurado

**Ing. Alejandro Flores Paiva
Presidente**

**Ing. Benito Bautista Espinoza, MSc.
Secretario**

**Ing. Sergio Rafael B. Del Carpio Hernández, MSc.
Vocal**

**Ing. Beatriz Del Pilar Colter Apaza, MSc.
Patrocinador**



UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO

FACULTAD DE INGENIERÍA ZOOTECNIA



ACTA DE SUSTENTACION VIRTUAL N° 024 - 2021/FIZ

Siendo las 9:00 am. del día miércoles 24 de noviembre de 2021, de acuerdo a lo dispuesto en la Resolución N° 212-2021-VIRTUAL-FIZ/D, de fecha 22 de noviembre de 2021, que autoriza la sustentación virtual del trabajo de tesis: "USO DEL TEST DE TERMORESISTENCIA PARA EVALUAR LA VIABILIDAD DEL SEMEN CONGELADO DE LOS TOROS DEL BANCO NACIONAL DE SEMEN", presentado por la Bachiller Karesly Jackeline Farroñán Chapoñán, se reunieron vía plataforma virtual: <https://meet.google.com/wzt-dpov-dvt> los miembros de jurado designados a través de la Resolución N° 016-2019-CF/FIZ, de fecha 14 de febrero de 2019, se nombró el Jurado del proyecto de tesis titulado: "TEST DE TERMORESISTENCIA EN POSTDESCONGELAMIENTO DE LAS PAJILLAS DE SEMEN DE TOROS DE RAZA HOLSTIEN Y BROWN SWISS DEL BANCO NACIONAL DE SEMEN, LIMA", designando a los Ingenieros, Ing. Alejandro Flores Paiva (Presidente), Benito Bautista Espinoza (Secretario), Sergio Rafael B. Del Carpio Hernández (Vocal) y Beatriz Del Pilar Colter Apaza, M. Sc. (Patrocinadora), presentado por la señorita Bachiller Karesly Jackeline Farroñán Chapoñán, habiéndose modificado el nombre del título y aprobado con Resolución N° 299-2019-FIZ/D de fecha 24 de octubre de 2019, quedando de la siguiente manera: "POST DESCONGELAMIENTO DE LAS PAJILLAS DE SEMEN DE LOS TOROS DEL BANCO NACIONAL DE SEMEN, UTILIZANDO EL TEST DE TERMORESISTENCIA";

Concluida la sustentación de la tesis por parte de la sustentante, absueltas las preguntas realizadas por los miembros del jurado, así como las aclaraciones del señor patrocinador, los miembros del Jurado se reunieron vía plataforma virtual <https://meet.google.com/faq-daxx-nxm> para deliberar y calificar la sustentación del trabajo de tesis: "POST DESCONGELAMIENTO DE LAS PAJILLAS DE SEMEN DE LOS TOROS DEL BANCO NACIONAL DE SEMEN, UTILIZANDO EL TEST DE TERMORESISTENCIA" presentada por la bachiller KARESLY JACKELINE FARROÑÁN CHAPOÑÁN; habiendo acordado APROBAR la tesis con la nota en escala vigesimal de 18 equivalente al calificativo de **MUY BUENO** recomendando incluir en la redacción del informe final las sugerencias dadas durante la sustentación.

Por lo tanto, la Bachiller en Ingeniería Zootecnia, Karesly Jackeline Farroñán Chapoñán se encuentra **APTA** para recibir el Título Profesional de Ingeniero Zootecnista de acuerdo a la ley Universitaria N° 30220 y normatividad vigente de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo y de la Facultad de Ingeniería Zootecnia.

Siendo las 11:20 horas se dio por concluido el presente acto académico firmando en señal de conformidad los miembros de jurado.

Ing. Alejandro Flores Paiva.
Presidente

Ing. Benito Bautista Espinoza. M. Sc.
Secretario

Ing. Sergio Del Carpio Hernández. M. Sc.
Vocal

Ing. Beatriz Colter Apaza, M. Sc.
Asesora

DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD

Yo, Bach. Karesly Jackeline Farroñan Chapoñan investigadora principal, e Ing. Beatriz Del Pilar Colter Apaza, MSc. asesora del trabajo de investigación: “Uso del test de termorresistencia para evaluar la viabilidad del semen congelado de los toros del banco nacional de semen”, declaramos bajo juramento que este trabajo, no ha sido plagiado, ni contiene datos falsos. En caso se demostrara lo contrario, asumo responsablemente la anulación de este informe y por ende el proceso administrativo a que hubiera lugar. Que puede conducir a la anulación del grado o título emitido como consecuencia de este informe.

Lambayeque, 6 de enero de 2022

Bach. Karesly Jackeline Farroñan Chapoñan
Autor

Ing. Beatriz Del Pilar Colter Apaza,
Asesor

DEDICATORIA

A Dios por permitirme llegar hasta aquí.

A Mis Padres

Manuel Farroñan Bances y Armandina Chapoñan Mori
Por su amor infinito y apoyo
incondicional.

A Mis Hermanos

Jim Alex, Evelin Dali, Maryori Katherine,
Danny Daniela y Manuel Alexander.

AGRADECIMIENTOS

Mi profundo agradecimiento a la PhD. Amalia Del Pilar Gallegos Cárdenas jefe en aquel momento del Banco Nacional De Semen de la Universidad Nacional Agraria la Molina por su calidad humana, por brindarme la oportunidad y así mismo ser el mentor en el desarrollo de este trabajo de investigación, sin ella no hubiera sido posible la realización de esta investigación.

A la Ing. Beatriz Colter MSc. Apaza por su apoyo, aportes y así mismo ser el patrocinador del presente trabajo.

A mis amigos y amigas que fueron parte y con quienes compartí momentos gratos de la vida universitaria:

Miguel Tequen Cruzado

Daniel López Ramos

Luigi Requejo Rojas

Onelia Baldera Cisneros

Elizeth Azcurra Montenegro

Jesús Suclupe Carrillo (+)

Daniela Santisteban Yanayaco

Juan Alberca Vega

Ing. Ivan Curay Veliz

CONTENIDO

	Página
Resumen/Abstract	ix
INTRODUCCION	1
I. DISEÑO TEORICO	4
1.1 Antecedentes Bibliográficos	4
1.2 Bases teóricas	4
II. ANALISIS DEL OBJETO DE ESTUDIO	15
2.1 Tipo y Diseño de Estudio	15
2.2 Lugar y duración	15
2.3 Tratamientos evaluados	15
2.4 Materiales	15
2.5 Instalaciones y equipo	16
2.6 Técnicas experimentales	17
2.7 Variables evaluadas	19
2.8 Evaluación de la información	19
III. RESULTADOS Y DISCUSION	21
3.1 Motilidad espermática progresiva	21
3.2 Motilidad espermática rápida.	23
3.3 Motilidad espermática lenta.	24
3.4 Motilidad espermática circular	25
3.5 Evaluación de espermatozoides inmóviles	27
IV. CONCLUSIONES	29
V. RECOMENDACIONES	30
BIBLIOGRAFIA CITADA	31
ANEXOS	37
INDICE DE TABLAS	
Tabla 1. Análisis de varianza del diseño completamente al azar (DCR)	20

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Escala Basada En el Porcentaje de Células Móviles y criterio Evaluativo	6
Cuadro 2. Evaluación de la Subjetiva de la densidad	7
Cuadro 3. Escala basada en el porcentaje de células móviles	10
Cuadro N° 4. Motilidad espermática progresiva en toros Holstein y Brown Swiss (%)	22
Cuadro N° 5. Motilidad espermática progresiva rápida en toros Holstein y Brown Swiss (%)	23
Cuadro N° 6. Motilidad espermática lenta	25
Cuadro N° 7. Motilidad espermática circular en toros Holstein y Brown Swiss	26
Cuadro N° 8. Análisis de espermatozoides inmóviles en toros Holstein y Brown Swiss	28

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico N° 1 Tendencia de la motilidad espermática progresiva en función del tiempo	22
Gráfico N° 2 Tendencia de la motilidad espermática rápida	24
Gráfico N° 3 Tendencia de la motilidad espermática lenta	25
Gráfico N° 4 Motilidad espermática rápida en sementales según raza (%)	27
Gráfico N° 5 Tendencia de movilidad espermática	28

Uso del test de termorresistencia para evaluar la viabilidad del semen congelado de los toros del banco nacional de semen

Resumen

En el Banco Nacional del Semen de la UNALM Lima, del 5 al 20 de octubre de 2018, se evaluó el semen de cuatro sementales de dos razas de toros (Holstein y Brown Swiss) con el objetivo de determinar la viabilidad del semen mediante la motilidad espermática en función de tiempo post descongelado utilizando el test de termorresistencia (TT) para lo cual se utilizó 4 sementales y dos razas: América, Vichama, Anibal y Bolt perteneciendo los dos primeros a la Holstein y los dos últimos a Brown Swiss. Las variables evaluadas fueron: motilidad espermática progresiva (MP), rápida (MR), lenta (ML) y circular (MC) en función de 4 tiempos post descongelado: 15, 30, 60 y 120 minutos; también se determinó el porcentaje de espermatozoides vivos post descongelamiento a los 60 y 120 minutos. Se realizaron 10 colecciones de semen por toro y 02 pajillas de semen por colección por toro, las cuales fueron descongeladas e incubadas a 38°C. Se empleó el Diseño de Bloques al Azar (DBA) con sub muestreos y la prueba de F.

El análisis de varianza (ANAVA) a nivel de MP encontró diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos presentando mayor MP los sementales América y Vichama de la Raza Holstein entre los cuales no hubo diferencia estadística ($p > 0.05$). En MR y MC también se hallaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre tratamientos siendo mayor en el semental América América. A nivel ML se halló diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$) siendo mayor en el semental Vichama.

El ANAVA aplicado a la motilidad espermática entre razas evaluadas halló diferencias estadísticas entre tratamientos ($p < 0.05$) presentando mejores porcentajes la raza Holstein.

Respecto a la MP según tiempo post descongelación de semen el ANAVA halló diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre tiempos evaluados siendo mayor entre 0, 15 y 30 minutos no habiendo diferencias estadísticas entre ellos ($p > 0.05$).

A nivel de MR el ANAVA halló diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre los tiempos evaluados siendo mayor a 0, 15 y 30 minutos post descongelado no habiendo diferencias estadísticas ($p > 0.05$) entre estos tiempos. Esta motilidad tiende a decrecer en función del tiempo post descongelado del semen.

A nivel de ML el ANAVA no halló diferencias estadísticas ($p > 0.05$) entre los tiempos evaluados y a diferencia de las otras motilidades evaluadas aquí la tendencia porcentual se incrementa con el transcurrir del tiempo post descongelado.

A nivel de MC el ANAVA encontró diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre los tiempos evaluados siendo mayor entre 0, 15 y 30 minutos post descongelado no habiendo diferencias estadísticas ($p > 0.05$) entre estos tiempos. Esta motilidad tiende a decrecer en función del tiempo post descongelado del semen.

Para las variables de porcentaje de inmóviles y de espermatozoides vivos el ANAVA no halló diferencias significativas entre los sementales ($p < 0.05$); sin embargo el semental América presentó el mejor resultado entre estas dos variables.

En conclusión, el test de termo resistencia permitió distinguir que el semental con mejor motilidad: progresiva, rápida y circular fue América y el semental con menor porcentaje de estas motilidades espermáticas fue Bolt. La raza con mejores respuestas de motilidad

espermática fue la Holstein. La mejor motilidad espermática progresiva, rápida y circular en función del tiempo post descongelación de semen se logró a los 0, 15 y 30 minutos entre los cuales no se halló diferencias estadísticas ($p < 0.05$) pero en la motilidad lenta no se hallaron diferencias estadísticas ($p > 0.05$) entre todos los tiempos evaluados. Para las variables de porcentaje de inmóviles y de espermatozoides vivos no se halló diferencias significativas entre los sementales ($p < 0.05$)

Palabras clave: Motilidad, Vitalidad, Test, Termorresistencia

Use of the thermoresistance test to evaluate the viability of frozen semen from bulls from the national semen bank

Summary

In the National Semen Bank of UNALM Lima, from October 5 to 20, 2018, the semen of four stallions of two bull breeds (Holstein and Brown Swiss) was evaluated with the objective of determining the viability of the semen through motility. sperm as a function of post-thawing time using the thermoresistance test (TT) for which 4 stallions and two breeds were used: América, Vichama, Anibal and Bolt, the first two belonging to Holstein and the last two to Brown Swiss. The variables evaluated were: progressive (MP), fast (MR), slow (ML) and circular (MC) sperm motility based on 4 post-thaw times: 15, 30, 60 and 120 minutes; The percentage of live sperm post thawing was also determined at 60 and 120 minutes. 10 semen collections per bull and 02 semen straws per collection per bull were made, which were thawed and incubated at 38°C. Random Block Design (DBA) was used with sub-sampling and the F test.

The analysis of variance (ANAVA) at MP level found statistically significant differences ($p < 0.05$) between treatments, with America and Vichama stallions of the Holstein breed presenting higher MP, between which there was no statistical difference ($p > 0.05$). Statistical differences ($p < 0.05$) between treatments were also found in MR and MC, being higher in the América América stallion. At the ML level, statistical differences were found between treatments ($p < 0.05$), being higher in the Vichama stallion.

The ANAVA applied to sperm motility between evaluated breeds found statistical differences between treatments ($p < 0.05$), with the Holstein breed presenting better percentages.

Regarding the MP according to time after semen thawing, the ANAVA found statistical differences ($p < 0.005$) between evaluated times, being greater between 0, 15 and 30 minutes, with no statistical differences between them ($p > 0.05$).

At the MR level, the ANAVA found statistical differences ($p < 0.005$) between the times evaluated, being greater than 0, 15 and 30 minutes post thawing, with no statistical differences ($p > 0.05$) between these times. This motility tends to decrease depending on the post thawing time of the semen.

At the LM level, the ANAVA did not find statistical differences ($p > 0.05$) between the evaluated times and, unlike the other motilities evaluated here, the percentage trend increases with the passing of the post-thawing time.

At the MC level, the ANAVA found statistical differences ($p<0.05$) between the evaluated times, being greater between 0, 15 and 30 minutes post-thawing, with no statistical differences ($p>0.05$) between these times. This motility tends to decrease depending on the post thawing time of the semen.

For the variables of percentage of immotile and live spermatozoa, the ANAVA did not find significant differences between the stallions ($p<0.05$); however, the stallion América presented the best result between these two variables.

In conclusion, the thermoresistance test made it possible to distinguish that the stallion with the best motility: progressive, fast and circular was America and the stallion with the lowest percentage of these sperm motilities was Bolt. The breed with the best sperm motility responses was the Holstein. The best progressive, fast and circular sperm motility as a function of the time after semen thawing was achieved at 0, 15 and 30 minutes, between which no statistical differences were found ($p<0.05$), but in slow motility no statistical differences were found. ($p>0.05$) between all the times evaluated. For the variables of percentage of immobile and live spermatozoa, no significant differences were found between the stallions ($p<0.05$).

Keywords: Motility, Vitality, Test, Thermoresistance

INTRODUCCION

La inseminación artificial (IA) es la técnica más utilizada para el mejoramiento genético en vacas ya que permite el uso de toros de genética superior Emerick et al., (2011). A pesar de los avances de los programas de transferencias de embriones en vacunos, IA aún representa la principal forma de asistencia reproductiva en ganado siendo una de las estrategias de más bajo costo para incrementar el mérito genético en los establos. La Inseminación artificial tiene muchas ventajas comparadas con la monta natural, así tenemos, el control de enfermedades infecciosas, mejoras en el manejo reproductivo y un estricto control de las características zootécnicas y económicas del ganado (Sá Filho et al., 2010).

Por otro lado, la tasa de fertilidad que se puede conseguir con la IA es un fenómeno multiparamétrico que se basa en diversos factores que debe ser manejados y controlados por el ganadero, por ejemplo, la detección del celo, el momento exacto de la IA en relación al estro, el manejo correcto de las pajillas congeladas y el empleo correcto de la técnica Pelaez et al., (2016). Sin embargo, es responsabilidad de los centros de producción de semen, como el Banco Nacional de Semen (BNS), suministrar pajillas que contengan espermatozoides de buena viabilidad y que produzcan tasas de concepción aceptables si todas las otras variables se controlan correctamente.

Los centros de producción de semen realizan ensayos in vitro de pajillas de semen descongeladas para evaluar el efecto de la técnica de crio preservación en la estructura y funcionalidad del espermatozoide. Los principales parámetros evaluados son motilidad, integridad de membrana citoplasmática y la morfología del acrosoma. Sin embargo, ciertas técnicas utilizadas en la evaluación de estos parámetros no podrían proporcionar una estimación precisa de la calidad Peláez et al., (2006). De hecho, varios estudios han demostrado claramente que los parámetros espermáticos convencionales no se correlacionan con la fertilidad in vivo Berger et al. (1994); Brahmkshtri et al. (1999), o no pueden explicar las diferencias en la capacidad fertilizante in vitro. Martínez et al. (1993); Xu y col. (1998).

Por lo tanto, se desarrolló un método computarizado para el análisis de semen (Análisis de Semen Asistido por Computadora - CASA), para brindar estandarización, calidad y precisión. Este método requiere un microscopio, una cámara digital y una computadora con un software especializado. Este método ofrece objetividad en el análisis, eliminando el factor subjetivo, que está sujeto a errores (entrenamiento y experiencia). Así mismo, el test de termorresistencia (TT) de semen fresco o después de la descongelación se realizan para evaluar la viabilidad del semen. La prueba fue desarrollada por Dimitropoulos (1967) y el procedimiento consiste en incubar muestras de semen descongeladas a 38 ° C durante 5 h (prueba lenta) o a 46 ° C durante 30 minutos (prueba rápida).

Después de cualquiera de las pruebas, el semen descongelado debe tener al menos un 15% de motilidad para ser considerado de buena calidad y el semen fresco debe tener al menos un 70% de motilidad para ser considerado de buena calidad. Talini et al., (2019).

La motilidad del semen es el parámetro más utilizado para determinar la calidad y viabilidad del semen después de la descongelación. Rodríguez, (2003). Varias publicaciones han asociado la motilidad del semen in vitro con la fertilidad en el campo, pero existen divergencias en los resultados. Mientras que para algunos autores existe correlación positiva entre la motilidad y la fertilidad en el campo. Amann (1989); Farrell et al., (1998) otros autores reportaron que no encontraron correlación. Emerick et al., (2011); Nagy et al., (2015).

Talini et al., (2019) modificó los protocolos de los TT y empleó 3 pruebas de termorresistencia lenta (STT1, 60min / 38 ° C; STT2, 180min / 38 ° C; y STT3, 300min / 38°C). En este estudio no se encontró una correlación positiva entre la viabilidad espermática y la fertilidad en campo, los autores indicaron que una de las razones para este resultado sería el tiempo largo de incubación (más de tres horas) utilizado al realizar el TT.

En este estudio se planteó utilizar el TT y realizar evaluaciones de motilidad al post descongelamiento a los 15 minutos, 30 minutos, 1 hora y 2 horas. Así mismo se empleó el TT para evaluar la vitalidad al descongelamiento a la hora y dos horas de iniciado el TT. Siendo la primera vez que se emplea este test en la en el BNS, se utilizará el TT en 04 toros del BNS para evaluar el efecto del tiempo de incubación en sus diferentes porcentajes de motilidad y vitalidad, así como determinar cuál de los toros no manifiesta cambios detrimentales en sus porcentajes de motilidad y vitalidad en los diferentes tiempos de incubación. Por lo que es pertinente plantearse la siguiente interrogante:

Formulación del problema

Se ha formulado la siguiente interrogante ¿Se podrá evaluar la viabilidad del semen congelado del Banco nacional de semen con el uso del Test de termorresistencia?

Hipótesis

Se plantea la siguiente hipótesis

El uso del Test de termorresistencia podrá evaluar los parámetros de motilidad y vitalidad del semen congelado del banco nacional de semen (UNALM).

Justificación del estudio

El estudio se justifica porque podrá determinarse la viabilidad del semen post congelado mediante el test de termo resistencia

Objetivos

Al ejecutar el presente proyecto de investigación se busca:

planteándose los siguientes objetivos: como objetivo general:

Evaluar la viabilidad del semen congelado de toros de raza Holstein y Brown Swiss utilizando el test de termoresistencia.

Objetivos específicos:

- a) Determinar y evaluar la relación de la motilidad progresiva en función del tiempo. Post descongelamiento.
- b) Determinar y evaluar la motilidad progresiva rápida y lenta entre razas y de forma individual (semental) post descongelamiento
- c) Determinar el porcentaje de motilidad circular en las razas post descongelamiento y
- d) Determinar y evaluar la vitalidad espermática entre razas y por sementales post descongelamiento.

I. DISEÑO TEORICO

1.1 Antecedentes Bibliográficos

“En la investigación de Kozumplík, J.(1985) dice que La mejor capacidad de fertilización espermática se obtuvo en los eyaculados que retuvieron el movimiento progresivo en el 40% de los espermatozoides después de dos horas de exposición a la prueba de termorresistencia. De las 1496 vacas inseminadas, 971 (es decir, 64,9%) quedaron en ternero, mientras que después de la inseminación de 4216 vacas con semen donde solo el 30% de los espermatozoides se movieron progresivamente al final de la prueba, el número de hembras preñadas fue de 2403, es decir 56,98%; esta diferencia es estadísticamente significativa ($p < 0.05$). Con una menor actividad de los espermatozoides en la prueba, la fertilidad después de la primera inseminación fue aún menor. Aunque hubo alguna diferencia en la fertilidad individual de los toros (54 a 67%), se registró una relación positiva entre los resultados de la prueba de termorresistencia y la fertilidad en todos los toros. En otro estudio se buscó como objetivo del estudio determinar si existe o no correlación entre las pruebas de termorresistencia (TT) después de la descongelación del semen y la tasa de preñez (PR) después de la inseminación artificial de tiempo fijo (FTAI)., donde La motilidad espermática media (%) en RTT y STT fue $19,84 \pm 6,13$, $28,55 \pm 10,48$, $17,62 \pm 5,87$ y $8,63 \pm 3,46$, respectivamente, y TP en los tres DG 61,86%, 57,67% y 55,81%, respectivamente. A través de la prueba de Person se encontró una correlación negativa significativa ($P < 0.05$) entre STT2 y PR a los 60 días ($r = -0.644$) y entre STT3 y todos los TPs ($r = -0.774, -0.752, 0.748$). Se concluyó que los parámetros de TT no pueden determinar la correlación entre la calidad del semen y el TP” (TALINI, R. *et al.*, 2019).

1.2 Bases teóricas

1.2.1 El espermatozoide

“Es la célula reproductora sexual masculina. es una célula haploide, por lo que contiene 23 cromosomas, los espermatozoides constan de 3 regiones: una cola o flagelo que les ayuda a movilizarse y una cabeza o núcleo que contiene toda la información genética que el padre va a heredar a su hijo (TORO, A.I., 2009).

“1. Partes del Espermatozoide Cabeza: Contiene el núcleo haploide cubierto por el acrosoma y un par de centriolos detrás del núcleo. El acrosoma contiene enzimas y la acrosina que facilitan la penetración del espermatozoide al ovocito como la hialuronidasa; Segmento intermedio o cuerpo: Región que une la cabeza con la cola y que contiene la carga mitocondrial que prevé la energía necesaria (ATP) para la movilidad del espermatozoide; Cola o flagelo: Da la movilidad al espermatozoide, también llamada motilidad progresiva o no progresiva.

Motilidad Espermática: Para que un espermatozoide sea capaz de fecundar a un ovocito ha de reunir una serie de requisitos, entre ellos, tener motilidad progresiva. La característica más utilizada para valorar la calidad de un eyaculado o dosis seminal. El movimiento activo de los espermatozoides es importante para la colonización del oviducto durante la fase de transporte sostenido en el tracto genital de la hembra en el momento óptimo, para que tenga lugar la fecundación. Además, la motilidad es una manifestación de viabilidad espermática y de integridad celular” (HOLT y VAN LOOK, 2004).

“La buena motilidad es sólo uno de los requisitos que ha de reunir un espermatozoide para ser capaz de fecundar a un ovocito. A pesar de ser una variable que no siempre se relaciona con la capacidad fecundante, ha sido y todavía es el parámetro más utilizado para valorar la calidad de un eyaculado o de la dosis refrigerada o congelada” (MUIÑO, 2005).

“La motilidad permite predecir la fertilidad o habilidad para congelar, ya que la motilidad post - descongelación es frecuentemente usada para ajustar la concentración de espermatozoides por pajilla, cuando el semen se designa para Inseminación Artificial la motilidad progresiva también puede ser evaluada siguiendo la velocidad de movimiento o grado de movimiento y se hace bajo la siguiente escala. Escala Basada en la Velocidad de Movimiento de las Células Móviles: 0 Sin movimiento; 1 Leve movimiento de cola sin desplazamiento progresivo; 2 Lento movimiento de cola con algo de movimiento progresivo; 3 Movimiento progresivo a velocidad lenta; 4 Movimiento progresivo rápido; 5 Movimiento progresivo rápido donde es difícil de seguir la célula determinada (HOZBORT, 2011)

Mecanismo que permite la motilidad espermática

“La cola del espermatozoide de los mamíferos está formada por varios componentes funcionalmente dependientes. Aunque el tamaño y forma de estos componentes varía de unas especies a otras, La cola del espermatozoide puede dividirse en cuatro porciones anatómicas:

el cuello o pieza de unión, la pieza intermedia, la pieza principal, y el segmento o pieza terminal, todas ellas rodeadas por una membrana plasmática común” (GAGNON, 1995).

“El movimiento rotacional que experimenta el flagelo se transmite a la cabeza del espermatozoide a través del cuello. Este movimiento rotacional de la cabeza es lo que, en última instancia, otorga progresividad al movimiento espermático” (MORTIMER, 2000)

Cuadro 1. Escala Basada En el Porcentaje de Células Móviles y criterio Evaluativo

VALOR DESCRIPTIVO	ASPECTO DEL MODELO	%DE CELULAS MOVILES	CRITERIO EVALUATIVO
MUY BUENA	Movimiento en ondas vigoras y en remolinos rápidos	80-90 %	++++
BUENA	Remolinos y ondas más lentos	60-80 %	+++
REGULAR	Sin remolinos, pero con oscilaciones generalizadas	40-60%	++
MALA	Escasa o ninguna motilidad	0-40%	+ o -

Fuente: Tomado de” Pruebas de Calidad en Semen Hozbor (2011)

Evaluación de la Motilidad Espermática

“La motilidad espermática normalmente se valora de forma subjetiva, mediante la observación visual de una muestra de semen en un microscopio de contraste de fases y platina a 37°C. En los eyaculados de los rumiantes, por su alta concentración espermática, se puede valorar la motilidad masal, definida como el movimiento en remolinos del total de espermatozoides de la muestra. Las dosis descongeladas con una motilidad progresiva menores al 40% se descartan para su uso en Inseminación Artificial” (CURBELO, 2013).

“La valoración de la motilidad como único parámetro de calidad seminal no es suficiente para predecir la capacidad fecundante del semen. Liu y Foote, (1998), es uno de los requisitos que debe cumplirse, de ahí que la correlación existente entre la motilidad de una muestra de semen y su fertilidad real, aunque significativa, sea baja” (KJAESTAD y col., 1993).

Evaluación macroscópica del semen.

“Inmediatamente después de la colección debe hacerse un examen macroscópico del semen eyaculado. Dicho examen comprende la anotación de la densidad, volumen, aspecto, olor, color, pH y cuerpos extraños” (TORO, A.I. 2009).

Cuadro 2. Evaluación de la Subjetiva de la densidad

Cremoso	1.000.000 esp./mm ³ o mas
Lechoso	De 500.000 a 800.000 esp./mm ³
Aguachento	De 100.000 a 300.000 esp./mm ³

Toro, A.I., (2009)

Volumen

“Se tiene un amplio rango que va de 2-6ml. Se debe tener en cuenta que para toros mayores de 2 años el mínimo esperable son 4ml, en los animales jóvenes y en los de menor talla dentro de una especie son los que producen menor volumen de semen, a esto se le llama aspermia que es la ausencia de eyaculado, hipospermia cuando se trata de un volumen reducido e hiperespermia al volumen aumentado” (CURBELO, 2013).

“La capacidad de producción de semen por gramo de tejido testicular y la producción diaria de espermatozoides, (PDE) está directamente correlacionada con la circunferencia escrotal en toros jóvenes. En los toros que están sometidos a un régimen periódico de colección de semen, el volumen y la concentración espermática son indicadores de la capacidad para producir espermatozoides” (BARACALDO, 2007).

Aspecto

“Es un líquido denso, cremoso, ligeramente amarillento, que contiene una suspensión de espermatozoides en un medio llamado plasma seminal” (BARACALDO, 2007).

Olor

“El olor natural es bastante característico de cada especie animal y en general no es muy intenso, donde el semen puede tomar un olor a orine si se mezcla con orina y un olor más o menos intensamente alterado, de putrefacción, cuando se mezcla con productos purulentos y

trozos necróticos. Toma el mismo olor cuando el orificio prepucial está lesionado y supura, por grietas descuidadas, y por escasa limpieza” (TORO, A.I., 2009)

Color

“En general el semen es de color blanco cremoso, que más o menos tiende al tono marfil, en relación con la cantidad de espermatozoides contenidos. Puede ser blanco grisáceo o también puede tener una coloración blanquecina o ligeramente amarillenta y su opacidad se halla en función de la concentración espermática. El color amarillo es un carácter normal del semen de muchos toros, que no altera la funcionabilidad de las células espermáticas y que carece de influencia en la fertilidad. Se piensa que es un lipocromo derivado del epitelio de la ampolla, pero no está influido por el tipo de alimentos ingeridos. Los toros pueden producir semen de color amarillo debido a la presencia de riboflavina por las glándulas vesiculares y ampollas del conducto deferente” (TORO, A.I., 2009)

PH

“El pH del semen de toro recientemente eyaculado depende las proporciones variables de las diversas secreciones implicadas. La mayoría de las muestras normales se hallan en el lado ácido de la neutralidad, oscilando desde pH 6,5 al de 6,9, con una media de 6,75. Aunque el pH varía en un rango amplio, desde, alrededor de 6,0 o más bajo a 8,0 o ligeramente mayor” (TORO, A.I., 2009)

El semen de mala calidad contiene una cantidad proporcionalmente mayor de líquido procedente de las glándulas uretrales y accesorias. Puesto que los espermatozoides descomponen la fructosa del semen en ácido láctico en las condiciones anaerobias que generalmente existen en los estrechos tubos de recogida, el pH del semen disminuye con el tiempo transcurrido entre la recogida y la determinación” (TORO, A.I., 2009)

Cuerpos extraños

“La muestra debe estar libre de polvo, tierra, pasto, heces, pelo y otros contaminantes. Debe desecharse el semen con fragmentos de material extraño; estos generalmente decantan al fondo del tubo. La presencia de alguno de estos contaminantes es indicadora de una mala técnica de extracción de semen” (TORO, A.I., 2009)

Evaluación Microscópica del semen.

Motilidad en masa microscópica

“El movimiento en masa depende de tres factores: concentración, porcentaje de células con movimiento progresivo y velocidad de movimiento de los espermatozoides. Cuando uno de estos tres factores se encuentra disminuido, las ondas rápidas en remolinos esperadas son severamente deprimidas o eliminadas” (TORO, A.I., 2009)

Motilidad individual microscópica

La valoración de la motilidad implica la estimación subjetiva de la viabilidad de los espermatozoides y calidad de la motilidad. La adquisición de la capacidad de movilidad progresiva, coincide con la adquisición de la Evaluación Microscópica. (TORO, A.I., 2009)

Cuadro 3. Escala basada en el porcentaje de células móviles

	Porcentaje de Motilidad Individual
5/5	80 y 100 % spz con movimiento rectilíneo uniforme
4/5	60 y 80 % spz con movimiento rectilíneo uniforme
3/5	40 y 60 % spz con movimiento rectilíneo uniforme
2/5	20 y 40 % spz con movimiento rectilíneo uniforme
1/5	20 % o menos de spz con movimiento rectilíneo Uniforme

Hafez, (2000)

Motilidad

Motilidad individual progresiva

Consiste en estimar el porcentaje (0-100%) de espermatozoides con movimiento progresivo lineal en una muestra de semen diluido en una solución isosmótica: Muy Buena (MB): 80 - 100% con motilidad progresiva; Buena (B): 60 - 79% con motilidad progresiva; Regular (R): 40 - 59% con motilidad progresiva y pobre (P): < 40% con motilidad progresiva” (ELHORDOY, 2003).

Evaluación de la Morfología Espermática

“Las células espermáticas son translúcidas y se ven transparentes al observarlas con microscopía de campo claro. Por lo tanto, es necesario usar la microscopía de contraste de fase o el uso de tinciones celulares para poder analizar la morfología de los espermatozoides. La tinción eosina-nigrosina es usada comúnmente como tinción de vitalidad celular para la determinación de espermatozoides "vivos y muertos" y también puede ser usada para evaluar la morfología espermática diferencial detallada (TORO, 2009)

Concentración espermática

“La determinación exacta del número de espermatozoides y el volumen del eyaculado define el número de hembras que pueden ser inseminadas. La concentración del eyaculado es de 2×10^8 espermatozoides/ml en toros jóvenes, a $1,8 \times 10^9$ espermatozoides/ml en los maduros” (TORO, A.I., 2009).

“Este parámetro no solo está influenciado por la edad, sino por el método de colección, la condición corporal, desarrollo sexual, madurez del toro, la alimentación, estado de salud reproductiva, tamaño de los testículos y la estación del año. La concentración espermática se puede medir usando cámara de Neubauer, turbimetría o espectrofotómetro. En el caso del hematocitómetro la cantidad de espermatozoides por cámara se cuenta manualmente, lo cual, pese a tomar mucho tiempo, es muy exacto” (BARACALDO, 2007).

Viabilidad

“La rotura de la membrana plasmática está claramente asociada con la pérdida de viabilidad celular, pero una membrana plasmática intacta no siempre indica que la célula sea viable. El procesamiento del semen, incluida su crio preservación, es "estresante" para el espermatozoide y afecta, principalmente a sus membranas. Los daños que pueden producirse en éstas pueden ser modificaciones en su organización, permeabilidad y composición lipídica” (BARACALDO, 2007).

“La crio preservación, cuyo propósito es garantizar la supervivencia del semen, causa daños irreversibles en la membrana plasmática, lo que conlleva la muerte de un gran número de

espermatozoides o, en los supervivientes, cambios similares a los observados durante la capacitación espermática, que provoca un acortamiento de su período de vida útil. La evaluación morfológica de la integridad de la membrana plasmática se realiza usando la óptica de contraste de fases, la óptica de contraste diferencial de interferencia o de Nomarski o las tinciones supravitales, como el verde rápido/eosina o la eosina/azul de anilina, el tripán azul/Giemsa o el amarillo de naftol/eritrosina (QUINTERO-MORENO et al., 2004).

Test de termorresistencia

“Un semen de buena calidad recientemente descongelado, generalmente tiene entre un 40 a 50% de espermatozoides con motilidad progresiva y un vigor de 3-4. Luego de dos horas de incubación estos valores disminuyen en un diez a quince por ciento y un punto, respectivamente” (CATENA y CABODEVILA, 1999).

Evaluación de la Motilidad Espermática mediante el uso de Sistema CASA

“La motilidad espermática es uno de los indicadores más evaluados antes y después de la crío preservación, en cuanto a calidad y capacidad fertilizante. La presente revisión proporciona información compleja sobre los posibles efectos negativos en los resultados del análisis de espermatozoides por computadora (CASA) y también refleja una posible conexión de estos resultados de campo con la fertilidad del toro. Recientemente, ha habido un interés creciente en la evaluación de la motilidad de los espermatozoides por CASA para determinar el movimiento de los espermatozoides de forma más precisa y objetiva que mediante una evaluación subjetiva. Los sistemas CASA se han utilizado en la mayoría de los laboratorios de investigación y también con tendencia creciente en el caso de los centros de inseminación. Sin embargo, la objetividad y la comparación de los resultados de CASA a través de laboratorios pueden verse impactadas desfavorablemente. Esto es en particular debido a la ausencia de estandarización para la evaluación de la motilidad del espermatozoide de toro y la presencia de inconvenientes en la forma de factores humanos y no humanos. Los investigadores han recurrido recientemente a la posible asociación de los resultados de CASA con la predicción de la fertilidad de los toros. Sin embargo, los estudios adolecen de discrepancias, por lo que existe una clara relación que aún no ha sido confirmada. Combinaciones específicas de parámetros de motilidad con determinación precisa de espermatozoides en subpoblaciones podrían representar otra parte en el complejo sistema de proporcionar la capacidad de predecir la fertilidad en vivo. La tarea de los trabajos futuros debería ser establecer una estandarización con respecto a la evaluación de la motilidad de los espermatozoides de los animales, además de la configuración y algoritmos de

los sistemas CASA. Además, las salidas de CASA de valor predictivo a la fertilidad de los toros exigen una investigación más extensa dirigida a una definición más precisa de esta relación” (SIMONIK, 2015).

“El análisis de espermatozoides asistido por computadora (CASA) es una herramienta poderosa para la evaluación objetiva de la motilidad de los espermatozoides y, por lo tanto, se usa con frecuencia para evaluar la calidad del semen. Varios factores influyen en la elección del citómetro para el análisis de espermatozoides. Numerosos centros de producción de semen (RCP) utilizan la evaluación subjetiva del semen mediante microscopía convencional. El aspecto multifactorial de la fertilidad puede resultar en una mala evaluación de la calidad del semen cuando se evalúan solo unos pocos parámetros. Los análisis multiparamétricos del semen producido por SPC con CASA y citometría de flujo demuestran un potencial predictivo muy alto para la calidad del semen y la fertilidad” (SHELLEY, 2021).

“Un sistema CASA consta de varias unidades interdependientes: un microscopio de contraste de fases conectado a una cámara de vídeo, que envía la imagen desde el microscopio a un monitor de TV. Posteriormente, la imagen es enviada desde el monitor a un ordenador, donde un analizador digital de imagen captura varias fotografías seriadas de cada campo microscópico seleccionado, normalmente en menos de 1 segundo” (ARBAIZA, 2017).

“El equipo CASA permite el cálculo del conteo total de una muestra seminal, la cantidad de espermatozoides móviles y la concentración, así como también todos los valores de velocidad, movimiento lateral, progresivo y linealidad de la trayectoria espermática” (BROGLIATTI, 2008).

“Hay muchos factores que influyen en la calidad del semen de toro utilizado en artificiales inseminación y dificulta la predicción de la fertilidad. El objetivo del presente estudio fue analizar in vitro calidad de los parámetros de los toros Flackvieh-Simmental incluyendo diferentes tipos de motilidad (asistida por computadora análisis de espermatozoides), viabilidad, integridad del acrosoma y actividad mitocondrial (citometría de flujo), funcional integridad (prueba de hinchazón hipoosmótica y prueba de termorresistencia) e integridad del ADN (fragmentación del ADN índice) para comparar con la fecundidad (tasa de no retorno, NRR). Después de 1.235 inseminaciones artificiales con el semen de 10 toros, el porcentaje de NRR difiere significativamente ($P < 0,0001$) entre novillas y vacas. La motilidad total ($r = 0.8788$, $P < 0.01$), velocidad en línea recta ($r = 0.6485$, $P < 0.05$) y trayectoria promedio de velocidad ($r =$

0,6848, $P < 0,05$) se correlacionaron significativamente con NRR. No hay otras correlaciones entre la fertilidad del toro y análisis de espermatozoides asistido por computadora motilidad, viabilidad, acrosoma e integridad de la membrana del espermatozoides, ADN. Se observó integridad y actividad mitocondrial. En cuanto a los resultados de la prueba de termorresistencia, observamos una tendencia de disminución lenta de la motilidad del semen durante el período de incubación (de 82 a 69,5%) sin diferencia significativa (ZAHAN, 2018).

II. ANALISIS DEL OBJETO DE ESTUDIO

2.1 Tipo y Diseño de Estudio

El presente estudio es de tipo experimental, y se utilizó un Diseño completamente al azar el cual según Padrón (2009) se caracteriza por suponer que las unidades experimentales son muy homogéneas.

2.2 Lugar y duración

El Presente trabajo se realizó en las instalaciones y laboratorio del Banco nacional de semen de la Universidad Nacional La Molina, ubicado en el Distrito de la Molina, Provincia y Departamento de Lima, a una altitud de 243 m.s.n.m, donde se realizó la colección, procesamiento y congelación de semen. La parte experimental tuvo una duración de 5 meses entre los meses de junio –noviembre del 2019.

2.3 Tratamientos evaluados

Se implementaron 2 tratamientos respecto a 2 razas evaluadas y 4 sementales:

T1: Evaluación de la viabilidad espermática de toros de las razas Holstein con el test de termoresistencia en función del tiempo

T2: Evaluación de la viabilidad espermática de toros de la raza Brown Swiss con el test de termoresistencia en función del tiempo

A cada tratamiento se le asignaron dos sementales y diez pajillas de semen de cada uno.

2.4 Materiales

1. Vagina artificial de vacuno
2. Tubos de ensayo graduado de 0. 1ml.a 12ml
3. Fundas de látex recto y cónico, funda protectora
4. Pajuelas de 0.5ml, Mod IMV
5. Peines de aspiración, Mod IMV
6. Clips de distribución de pajillas, Mod IMV

7. Matraces
8. Probetas graduadas
9. Tubos eppendorf
10. Laminas porta y cubre objetos
11. Termo
12. Reloj
13. Platina eléctrica para tubos con temperatura graduable
14. Pipetas de 100y 200 ul graduable a 10ul
15. Platina para tubos eppendorf
16. Gradilla

2.5 Instalaciones y equipo

Los toros permanecieron todo el tiempo en los boxes individuales, los cuales están constituidos de material noble y madera, provisto de sombras, así como una adecuada iluminación y ventilación con comedero para el suministro del alimento y bebedero.

Para la colección de semen, se contó con un brete de monta cuyas dimensiones son: largo 3.0m, ancho 1.50m y alto 1.80m.

La evaluación del eyaculado y dilución del mismo, se realizó en el laboratorio de Investigación del Banco nacional de semen de la UNALM, quien brindo los siguientes equipos y materiales acorde a las exigencias técnicas que el caso requiere.

Los equipos utilizados fueron los siguientes:

1. Reloj
2. Refrigeradora
3. Tanque criogénico de almacenamiento de pajillas
4. Microscopio de contraste de fases con platina temperada
5. Estufa de desecación y esterilización
6. Baño maría

2.6 Técnicas experimentales

Trabajo previo a la investigación:

La alimentación de los toros está basada en forraje verde picado de maíz chala, el cual se les proporciona de forma diaria 50 kilos y lo suplementan con 4 kilos de concentrado por animal día y agua ad libitum. El aporte nutricional fue: Proteína cruda 14.0%; fibra cruda 17.5% y NDT 68.5% que corresponde a rumiantes en actividad reproductiva constante.

La metodología de colección y evaluación de las muestras seminales, fue la misma para cada una de las muestras de semen de los toros empleados en el presente trabajo de investigación:

1. Un día antes de la colección se llevó a cabo la esterilización y preparación de materiales de laboratorio: preparación de vagina artificial, tubos de ensayo, matraces, bandejas, clips impresos con los respectivos nombres del toro a coleccionar.
2. Al día siguiente se lleva a cabo la colección del semen con vagina artificial, la cual consta de un armazón grueso de caucho, que lleva una funda de látex en el interior del armazón, doblada y asegurada en los extremos de este, un cono látex es sujetado en un extremo del armazón al cual se le sujeta un tubo de ensayo de vidrio esterilizado., en el interior de la vagina artificial debe llenarse con agua caliente a una temperatura promedio de 45°C. Para hacer la colección seminal, antes se realizó una asepsia del toro, que consistía en lavar el prepucio con agua y secado del mismo con papel toalla, para evitar la contaminación.
3. Después de estimular al toro se lo lleva al brete para que haga el salto con golpe de riñón asemejando a la monta, ahí el técnico desvía el pene hacia la vagina artificial para obtener el eyaculado correspondiente. Tras la colección el eyaculado se traslada al laboratorio, manteniéndose en todo momento a una temperatura de 38 °C
4. Una vez llegada la muestra al laboratorio de procesamiento de semen, se colocó dentro del baño maría, el cual se encontraba a 34°C.
5. Previo a la colecta de la muestra seminal, nos cercioramos que tanto la platina caliente como el baño de María, se encontrasen a una temperatura de 37°C, ya que el semen es muy sensible a los cambios de temperatura. Dentro del baño de María se colocaron tubos de ensayo que contenían el semen.
6. Se evaluó volumen del eyaculado, color, motilidad individual, estas características macroscópicas se realizaron por observación directa, concentración espermática que se realiza mediante el equipo fotométrico y las diferentes motilidades de los eyaculados seleccionados para la congelación que fueron analizados con el sistema CASA Sperm Class Analyze. Por cada semental.

7. Las motilidades evaluadas para el presente trabajo de investigación fueron: motilidad progresiva, motilidad rápida, motilidad lenta, motilidad circular, motilidad local e inmóviles.
8. Así mismo en el laboratorio de investigación se trabajó con la tinción eosina/nigrosina en las diferentes muestras de semen, para corroborar el % de vivos y muertos con la motilidad espermática.

Trabajo en laboratorio

Teniendo todo ya preparado y con las exigencias que el banco nacional requiere: materiales, temperatura del laboratorio 23°C se procedió a descongelar la pajilla de 0.5cc en agua a 38°C, por 20 segundos, secada la pajilla con papel toalla, se corta y el contenido de la muestra se introdujo en el Tubos eppendorf los cuales se encontraban en la platina para tubos eppendorf a 37°C, los cuales tenían el nombre del toro a evaluar.

Se procedió a pipetear la muestra para que se homogenice y se extraía 10ul de semen para ser colocados en la lámina porta objeto y cubre objetos y se colocó en el microscopio, el cual se encontraba temperado y se procedió a evaluar en el sistema computarizado de análisis seminal CASA, dando como resultado todas las motilidades descritas: motilidad progresiva, motilidad progresiva rápida, motilidad lenta, motilidad circular, motilidad local e inmóviles.

Este procedimiento de evaluación seminal de test de termorresistencia se realizó a las cero horas ,15 minutos, media hora, una hora y dos horas.

Las repeticiones para el presente trabajo fueron 10, utilizando pajillas de semen de cada colección.

Para la observación de las células espermáticas se utilizó la coloración eosina-nigrosina, con la cual los espermatozoides muertos aparecen teñidos de rojo o rosa, mientras que los vivos quedan sin teñirse (transparentes). Para ello se hizo un frotis y se observó al microscopio de campo claro (aumento 40X), en los cuales se contó el número de espermatozoides vivos presentes, dicho valor se sumó y se estimó el número total de células. Este parámetro se expresó en porcentaje (%) de espermatozoides vivos.

Para la evaluación de la viabilidad se procedió a tener todo el material preparado y a temperatura optima.y luego de descongelar la pajilla el semen se colocó en los tubos eperdonf la cual se encontraba en la platina para tubo temperada, inmediatamente se procedió a extraer 10ul de semen con una pipeta y se colocó en la lámina porta objetos con otro tips se extraía 10 ul de eosina y nigrosina, se procedía a mezclar la muestra de semen con las mismas.

Inmediatamente se colocó una pequeña muestra de 10ul en la lámina porta objetos y se siguió con otra lamina para hacer el delgado frotis, que se dejaba en la platina caliente para el secado por 5-10 segundos., inmediatamente se procedió a contar en número de espermatozoides vivos y muertos en el microscopio a 40X de aumento, a la hora cero, una hora y dos horas.

2.7 Variables evaluadas

La información obtenida permitió generar y evaluar las siguientes variables:

- Motilidad espermática progresiva
- Motilidad espermática rápida
- Motilidad espermática lenta
- Motilidad espermática circular
- Espermatozoides inmóviles

2.8 Evaluación de la información

Por tratarse de un estudio experimental en el que se consideró la evaluación de cuatro tratamientos se procedió a realizar el siguiente planteamiento estadístico de hipótesis:

Ho: $\mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

Ha: Al menos una media difiere del resto

Para contrastar las hipótesis se utilizó un Diseño de Bloques al Azar (DBA) con igual número de repeticiones (10 por tratamiento), cuyo modelo aditivo lineal según PADRON (2009) es:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \beta_j + E_{ij}$$

Donde:

μ = media general.

T_i = Efecto del i-ésimo semental.

β_j = Efecto del J-ésima raza.

e_{ij} = Error experimental

E_{ij} = Error experimental en la j-ésima bandeja del i-ésimo tratamiento.

Se realizó el Análisis de varianza (Tabla1) para determinar si había diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) entre tratamientos y se utilizó la prueba de F.

Tabla 1. Análisis de varianza del diseño completamente al azar (DBA)

Fuente de variación	GL
Bloques	1
Tratamientos	3
Error	35
Total	39

III. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Motilidad espermática progresiva

Al evaluar la motilidad espermática progresiva en función al tiempo de descongelamiento que se aprecia en el cuadro N° 4 se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) presentando los mejores porcentajes de motilidad espermática de 77.33%; 77.64% y 76.52% con los tiempos de 0, 15 y 30 minutos respectivamente entre los cuales no hubo diferencia estadística significativa ($p > 0.05$); en segundo lugar de motilidad espermática progresiva se ubicó el tiempo de 60 minutos con 74.39% y finalmente se ubicó la motilidad espermática más baja con 120 minutos reduciéndose a 69.04%.

A nivel de toros también se hallaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) presentando mejor motilidad espermática los toros de raza Holstein América y Vichama con 79.11% y 78.35% de motilidad progresiva respectivamente en entre los cuales no hubo diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) superando al toro Anibal de raza Brown swiss que presentó una motilidad espermática progresiva de 73.57% y en último lugar se ubicó el toro Bolt de esta misma raza con 68.90% de motilidad espermática.

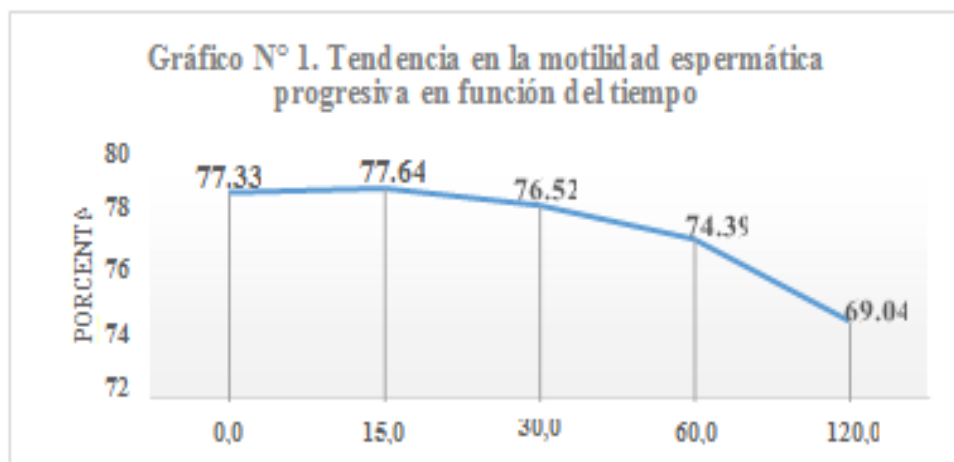
A nivel de raza también se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) presentando mayor motilidad espermática progresiva los toros de raza Holstein con 78.73% y en segundo lugar la raza Brown Swiss con 73.57%.

Cuadro N° 4. Motilidad espermática progresiva en toros Holstein y Brown Swiss (%)

Tiempo (minutos)	Razas				Prom/tiempos
	Holstein		B. Suiss		
	América	Vichama	Bolt	Aníbal	
0	82.22	78.61	73.04	75.43	77.33 ^a (± 3.4)
15	81.46	81.57	71.70	75.84	77.64 ^a (± 4.1)
30	80.55	79.96	70.44	75.11	76.52 ^a (± 4.1)
60	80.51	77.30	67.91	71.85	74.39 ^b (± 4.9)
120	70.79	74.33	61.41	69.64	69.04 ^c (± 4.7)
Prom./toro	79.11 ^a (± 4.2)	78.35 ^a (± 2.5)	68.90 ^c (± 4.1)	73.57 ^b (± 2.4)	
Prom./raza	78.73 ^a		71.24 ^b		

a, b, c_/ exponenciales indicando diferencias estadísticas entre medias (p<0 .05)

En el gráfico 1 se aprecia la tendencia de la motilidad espermática promedio con respecto al tiempo la cual tiende a disminuir desde 77.33% (0 minutos) a 69.04% a 120 minutos significando una disminución de 8.29%, diferencia que se halla debajo del rango reportado por Catena y Cabodevila (2002) quienes indican que “el semen descongelado de buena calidad normalmente tiene 40-50% de espermatozoides con motilidad progresiva y después de 120 minutos de incubación estos valores disminuyen un 10-15%”



3.2 Motilidad espermática rápida.

Al evaluar la motilidad espermática rápida en función al tiempo de descongelamiento que se aprecia en el cuadro N° 5 se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) presentando los mejores porcentajes de motilidad espermática de 36.67%; 35.64% y 35.65% con los tiempos de 0, 15 y 30 minutos respectivamente entre los cuales no hubo diferencia estadística significativa ($p > 0.05$); en segundo lugar de motilidad espermática rápida se ubicó el tiempo de 60 minutos con 31.99% y finalmente se ubicó la motilidad espermática rápida más baja a 120 minutos reduciéndose a 27.56%.

A nivel de toros también se hallaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) presentando mejor motilidad espermática el toro de raza Holstein América con 38.67% seguido por Vichama de raza Holstein y Anibal de raza Brown Swiss con 32.02% y 35.56% de motilidad rápida respectivamente entre los cuales no hubo diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) y la motilidad espermática rápida más baja del estudio lo presentó el toro Bolt de raza Brown swiss con 29.77% de motilidad espermática rápida en promedio.

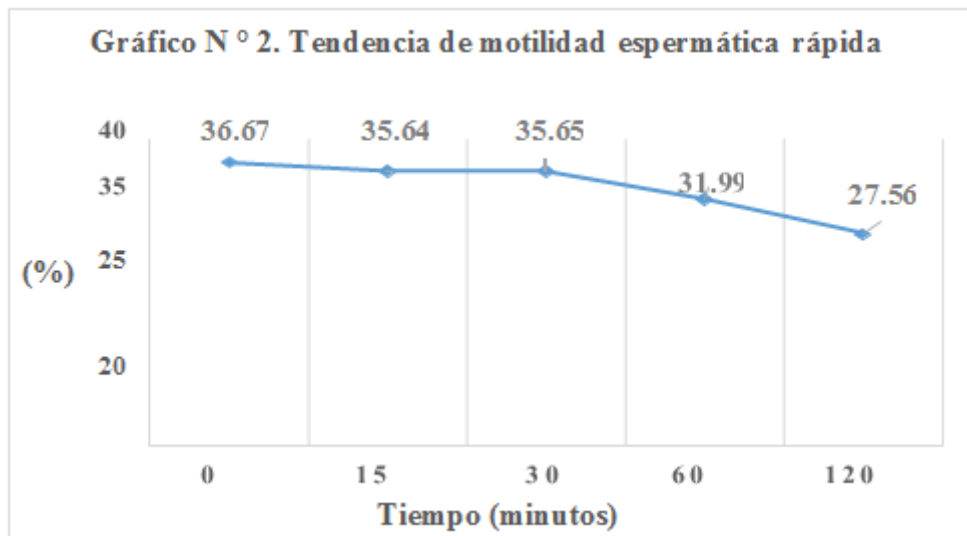
A nivel de raza también se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) presentando mayor motilidad espermática rápida a los toros de raza Holstein con 78.73% y en segundo lugar la raza Brown swiss con 73.57%.

Cuadro N° 5. Motilidad espermática progresiva rápida en toros Holstein y Brown Swiss (%)

Tiempo (minutos)	Razas				Prom/tiempos
	Holstein		B. Swiss		
	América	Vichama	Bolt	Aníbal	
0	44.05	35.57	30.63	36.43	36.67 ^a (± 4.8)
15	41.48	33.01	30.30	37.73	35.64 ^a (± 4.3)
30	38.85	35.33	30.26	38.17	35.65 ^a (± 3.4)
60	38.88	29.04	26.27	33.78	31.99 ^b (± 4.8)
120	30.07	27.13	21.38	31.67	27.56 ^c (± 3.9)
Prom./toro	38.67 ^a (± 4.7)	32.02 ^b (± 3.4)	29.77 ^c (± 3.6)	35.56 ^b (± 2.5)	
Prom./raza	35.35 ^a		32.67 ^b		

a, b, c_/ exponenciales indicando diferencias estadísticas entre medias ($p < 0.05$)

En el grafico N° 2 se aprecia la tendencia de la motilidad espermática rápida promedio con respecto al tiempo la cual tiende a disminuir desde 36.67% (0 minutos) a 27.56% en 120 minutos significando una disminución de 9.11%.



3.3 Motilidad espermática lenta

Al evaluar la motilidad espermática lenta en función al tiempo de descongelamiento que se aprecia en el cuadro N° 6 no se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre tratamientos pero numéricamente el porcentaje de motilidad lenta fue incrementándose de 39.93%; 38.80%; 40.76% y 40.97% con los tiempos de 0, 15, 30, 60 y 120 minutos respectivamente.

A nivel de toros si se hallaron diferencias estadísticas ($p<0.05$) presentando mayor motilidad espermática lenta el toro de raza Holstein Vichama con 45.15% seguido por Bolt de raza Brown Swiss con 40.27% y luego se ubicaron con menores porcentajes promedio de 36.86% y 36.90% de motilidad lenta los toros América de raza Holstein y Anibal de raza Brown Swiss respectivamente entre los cuales no hubo diferencias estadísticas significativas ($p>0.05$).

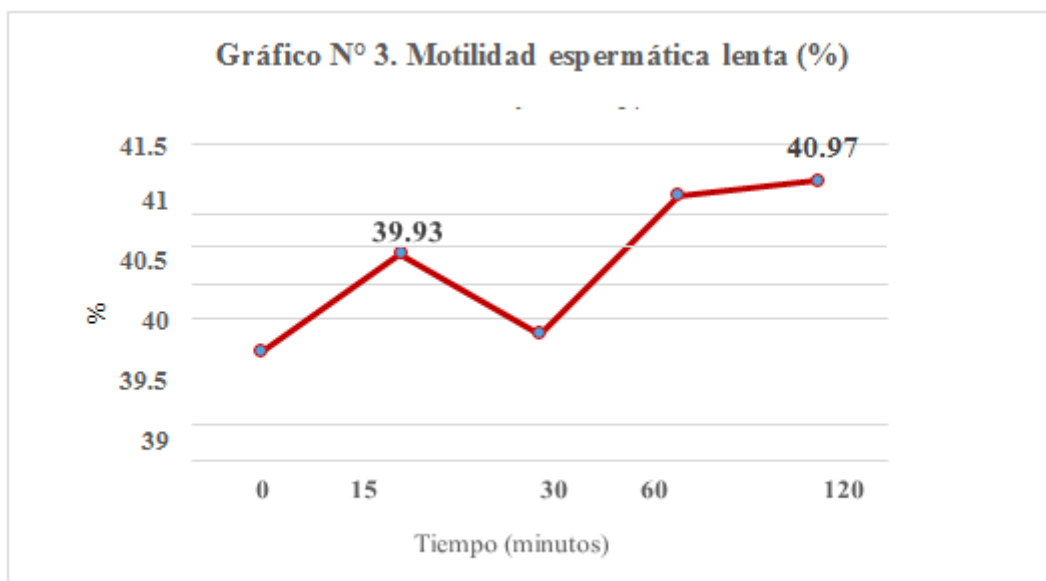
A nivel de raza también se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p<0.05$) presentando mayor motilidad espermática lenta los toros de raza Holstein con 41.01% y en segundo lugar la raza Brown Swiss con 38.59%.

Cuadro N° 6. Motilidad espermática lenta

Tiempo (minutos)	Razas				Prom/tiempos
	Holstein		B. Swiss		
	América	Vichama	Bolt	Aníbal	
0	34.24	41.74	41.28	36.85	38.53 ^a (± 3.1)
15	35.51	46.98	40.22	37.02	39.93 ^a (± 4.4)
30	37.35	42.92	39.09	35.83	38.80 ^a (± 2.6)
60	36.92	47.69	41.03	37.40	40.76 ^a (± 4.3)
120	40.28	46.44	39.73	37.41	40.97 ^a (± 3.3)
Prom./toro	36.86 ^c (± 2.0)	45.15 ^a (± 2.4)	40.27 ^b (± 0.8)	36.90 ^c (± 0.6)	
Prom./raza	41.01a		38.59b		

a, b, c_/ exponenciales indicando diferencias estadísticas entre medias ($p<0.05$)

En el grafico 3 se aprecia la tendencia de la motilidad espermática lenta promedio con respecto al tiempo la cual tiende a aumentar desde 39.50% (0 minutos) a 40.97% en 120 minutos significando un incremento de 1.47% en este intervalo de tiempo siendo una tendencia inversa a la motilidad espermática rápida.



3.4 Motilidad espermática circular

Al evaluar la motilidad espermática circular en función al tiempo de descongelamiento que se aprecia en el cuadro N° 7 se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre los tiempos evaluados presentando mayor porcentaje de motilidad circular con 2.15%; 2.03% y 2.03% con los tiempos de 0, 15 y 30 minutos respectivamente, entre los cuales no hubo diferencias estadísticas; en segundo lugar se ubicó la motilidad espermática circular de 60 minutos de tiempo con 1.57% y la menor motilidad circular se presentó con 120 minutos post descongelamiento.

A nivel de toros si se hallaron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) presentando mayor motilidad espermática lenta el toro de raza Holstein América con 3.5% seguido por Vichama de la misma raza con 1.17% y Anibal de raza Brown Swiss con 1.10% de motilidad circular entre los cuales no hubo diferencia estadística ($p > 0.05$) y en último lugar se ubicó el toro Bolt de raza Brown Swiss con 0.84% de motilidad circular.

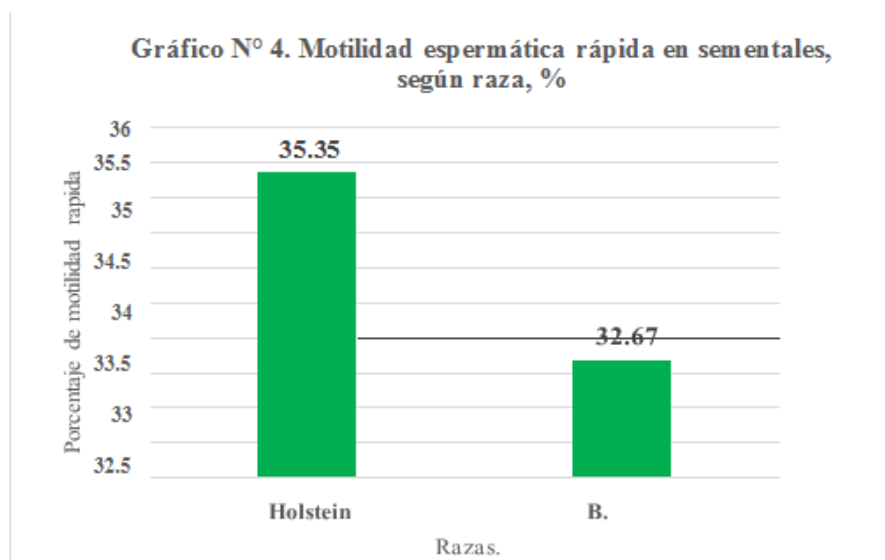
A nivel de raza también se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) presentando mayor motilidad espermática circular los toros de raza Holstein con 2.34% y en segundo lugar la raza Brown Swiss con 0.97%.

Cuadro N° 7. Motilidad espermática circular en toros Holstein y Brown Swiss

Tiempo (minutos)	Razas				Prom/tiempos
	Holstein		B. Swiss		
	América	Vichama	Bolt	Aníbal	
0	3.93	1.34	1.15	2.17	2.15 ^a (± 1.1)
15	4.40	1.58	1.16	0.97	2.03 ^a (± 1.4)
30	4.32	1.67	0.99	1.14	2.03 ^a (± 1.3)
60	4.41	0.56	0.65	0.65	1.57 ^b (± 1.6)
120	0.44	0.69	0.26	0.57	0.49 ^c (± 0.2)
Prom./toro	3.5 ^a (± 1.5)	1.17 ^b (± 0.5)	0.84 ^c (± 0.3)	1.10 ^b (± 0.6)	
Prom./raza	2.34 ^a		0.97 ^b		

a, b, c_/ exponenciales indicando diferencias estadísticas entre medias ($p < 0.05$)

En el grafico 4 se aprecia la tendencia de la motilidad espermática circular promedio con respecto al tiempo la cual tiende a disminuir desde 2.15% (0 minutos) a 0.49% en 120 minutos significando un decrecimiento de 1.66% en este intervalo de tiempo.



3.5 Evaluación de espermatozoides inmóviles

El análisis de inmovilidad espermática explica el nivel de espermatozoides sin movimiento y que se referirá a la masa espermática muerta y al evaluar el porcentaje de espermatozoides inmóviles en función al tiempo de descongelamiento que se aprecia en el cuadro N° 8 se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p > 0.05$) entre los tiempos evaluados presentando mayor porcentaje de espermatozoides inmóviles de

30.94% con el tiempos de 120 minutos seguido por el tiempo de 60 minutos que presentó un 25.03% de inmovilidad espermática y entre los tiempos de 30, 15 y 0 minutos post descongelamiento no se hallaron diferencias estadísticas ($p>0.05$) con una inmovilidad espermática de 23.67%; 22.57% y 22.67% respectivamente.

A nivel de toros se hallaron diferencias estadísticas ($p<0.05$) presentando mayor inmovilidad espermática el toro Bolt de raza Brown Swiss con 31.11% seguido por Anibal de la misma raza con 26.18%. En tercer lugar se ubicaron los toros América y Vichama de la Raza Holstein con 20.94% y 21.67% de inmovilidad espermática respectivamente y entre los cuales no hubo diferencia estadística significativa ($p>0.05$).

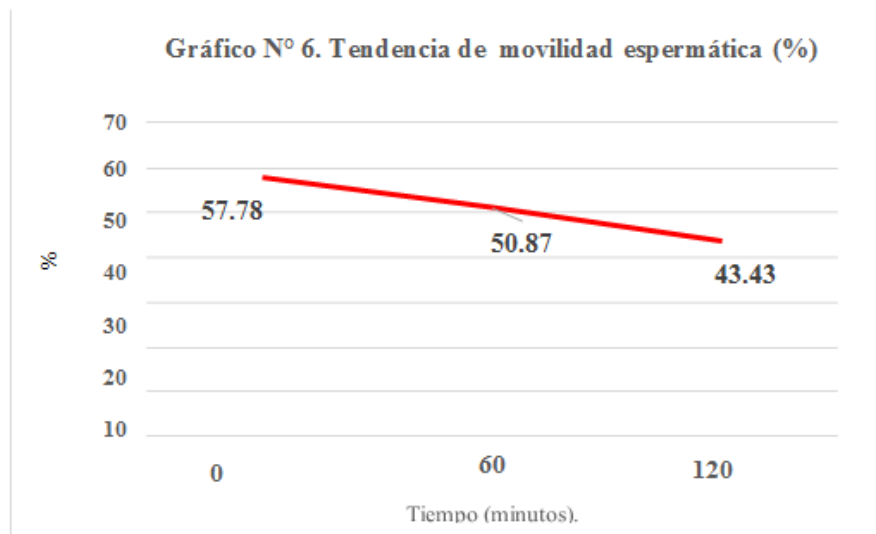
A nivel de raza también se hallaron diferencias estadísticas significativas ($p<0.05$) presentando mayor inmovilidad espermática los toros de raza Holstein con 21.31% y en segundo lugar la raza Brown Swiss con 28.65%.

Cuadro N° 8. Análisis de espermatozoides inmóviles en toros Holstein y Brown Swiss

Tiempo (minutos)	Razas				Prom/tiempos
	Holstein		B. Suiss		
	América	Vichama	Bolt	Aníbal	
0	17.79	21.37	26.96	24.57	22.67 ^c (± 3.4)
15	19.15	18.56	28.30	24.26	22.57 ^c (± 4.0)
30	19.40	20.05	29.56	25.67	23.67 ^c (± 4.2)
60	19.17	22.70	32.09	26.15	25.03 ^b (± 4.8)
120	29.20	25.67	38.63	30.25	30.94 ^a (± 4.8)
Prom./toro	20.94 ^c (± 4.2)	21.67 ^c (± 2.4)	31.11 ^a (± 4.1)	26.18 ^b (± 2.1)	
Prom./raza	21.31 ^b		28.65 ^a		

a, b, c / exponenciales indicando diferencias estadísticas entre medias ($p<0.05$)

En el grafico 5 se aprecia la tendencia de la inmovilidad espermática promedio con respecto al tiempo la cual tiende a aumentar desde 22.67% (0 minutos) a 30.94% en 120 minutos significando un incremento de 8.27% en este intervalo de tiempo.



IV. CONCLUSIONES

Bajo condiciones en las que se realizó el presente trabajo de investigación y teniendo en cuenta sus ventajas y limitaciones se llegó a las siguientes conclusiones:

El test de termo resistencia permitió distinguir que el semental con mejor motilidad: progresiva, rápida y circular fue América y el semental con menor porcentaje de estas motilidades espermáticas fue Bolt.

La raza con mejores respuestas de motilidad espermática fue la Holstein.

La mejor motilidad espermática progresiva, rápida y circular en función del tiempo post descongelación de semen se logró a los 0, 15 y 30 minutos entre los cuales no se halló diferencias estadísticas ($p < 0.05$) pero en la motilidad lenta no se hallaron diferencias estadísticas ($p > 0.05$) entre todos los tiempos evaluados.

Para las variables de porcentaje de inmóviles y de espermatozoides vivos no se halló diferencias significativas entre los sementales ($p < 0.05$)

V. RECOMENDACIONES

El uso de la dosis de semen de los toros de raza Holstein sobre todo al toro AMERICA por tener la mayor resistencia post descongelación, mejor motilidad espermática y la menor masa de espermatozoides inmóviles entre los toros y entre raza, podrá Lograr mejores resultados en las inseminaciones Artificiales a nivel nacional.

Difundir la información a los profesionales del área como a los ganaderos para que puedan evaluar las características seminales de estos 4 sementales, tanto de raza Holstein como de la Brown Swiss, por los resultados obtenidos en el presente trabajo.

Usar el test de termorresistencia en los centros de inseminación de producción de semen como parte de la evaluación seminal.

Los centros de investigación de semen deben usar el test de termorresistencia cada cierto tiempo.

Utilizar el test de termorresistencia agregando como variable respuesta el % de fertilidad en vacas de campo.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Amann R. & Pickett B. (1987). Principles of cryopreservation and a review of cryopreservation of stallion spermatozoa. *Equine Veterinary Science* 7: 145-176.
- Amann, R. and Hammerstedt, R. (1980). Validation of a system for computerized measurements of spermatozoal velocity and percentage of motile sperm. *Biology of Reproduction*. 23: 647-656.
- Anchordoguy T. J., Rudolph A. S., Carpenter J. F. & Crowe J. H. (1987). Modes of interaction of cryoprotectants with membrane phospholipids during freezing. *Cryobiology* 24: 324-331.
- Andrade, A. C. (2005). Influencia en la calidad espermática de la adición de distintas concentraciones de Crioprotectores para la conservación del semen canino. Tesis doctoral Universidad Complutense de Madrid
- Arbaiza, M. (2020). Efecto de la criopreservación en fragmentación del ADN, viabilidad, motilidad y cinética espermática en toros Brown Swiss empleando sistema casa. Repositorio Institucional Universidad Nacional Agraria La Molina. Published. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/4297>
- Arrieta, R., Fernandez, J., & Menchaca, J. (2014). Métodos de Extracción de Semen Bovino. *REDVET*, 15, 1–8. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63633881001.pdf>
- Baca L. (1998). Evaluación del tiempo Óptimo de equilibrado con tres dilutores en el congelamiento del semen de alpacas. Tesis Ing. Zoot. UNSAAC. Cuzco-Peru Pag.102
- Barnabe, V.H., Barnabe, R.C., Visintin, J.A., Viana, W.G., Casagrande, J.F.
- Almeida, C.A.,(1980). Estudio comparativo entre as provas rápida e lenta de termoresistência para avaliacao de sêmen congelado. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 4 (3-4), 6–12
- Berger, T' E.Z-. Drobnis,' L. Foley,' J.K. Metzler' and M. Horton'.(1992). Evaluation of relative fertility of cryopreserved goat sperm: *Theriogenology* 41:711-717, 1994.
- Brahmkshtri a,P.B., M.J. Edwin b, M.C. John c, A.M. Nainar d, A.R. Krishnan b.(1998). Relative efficacy of conventional sperm parameters and sperm penetration bioassay to assess bull fertility in vitro: *Animal Reproduction Science* 54 _1999. 159– 168.
- Brogliatti, M. (2008). Inseminación artificial a tiempo fijo: el porqué de los intentos fallidos. Centro de Inseminación Artificial La Argentina Chica. 10: 22-25. www.produccion-animal.com.ar
- Callata, P. (2019). Analisis del semen bovino. SCRIBD. Recuperado 26 de octubre de 2021, de <https://es.scribd.com/document/437047121/Hh?cv=1>
- Caione, J. (2019). Evaluación de semen congelado. Laboratorio 9 de julio. Published. <https://www.lab9dejulio.com.ar/2019/09/10/evaluacion-del-semen-congelado/>

- Cardozo C.J. (2000). Evaluación Reproductiva y de Fertilidad de Toros, y su Utilización para Aumentar la Eficiencia Reproductiva en Sistemas del Trópico Bajo, Regional 1 C.I. Tibaitatá, Chile
- Coulter, G.H., Foote, R.H. (1974). The motility, acrosomal morphology and oxygen uptake of bull spermatozoa during processing and after freezing in straws. *A. I. Digest* 22, 12–15.
- Curbelo M. & Rodríguez Z. (2013). Relevamiento de laboratorios de procesamiento de semen bovino en Uruguay. [tesis para optar el grado de doctor]. Universidad de la Republica- Uruguay.
- Decuadro, G., & Virbac, H. (2012). Factores que influyen en la congelación del semen de toros. Engormix. Published.
<https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/factores-influyen-congelacion-semen-t29628.htm>.
- Dimitropoulos A , E., (1967). La signification du test de la thermoresistance dans l'appréciation de valeur fécondante du sperme congelé. *Ann. Méd. Vet.* 4, 215–224.
- Emerick L. L 1, Dias J. C 2, Ribeiro do vale filho. V 3, De Almeida M , Silva .E 3, De andrade V 3, Guimarães leite. T 1, Martins M J.A. 4 (2011). Avaliação da integridade de membrana em espermatozóide bovino criopreservado para prever o índice de prenhez: doi: 10.5216/cab.v12i3.9739 .
- Ezequiel Etcheber, R.M. Larsen; 2006, Análisis de semen congelado- descongelado en bovinos. Cs. Veterinarias – UNCPBA *
- Farrell P.B, Presicce G.A. , Brockett C.C. and Foote R.H. .(1997). Quantification of bull sperm characteristics measured by computer-assisted sperm analysis (casa) and the relationship to fertility. *Theriogenology* 49 871-879, 1998.
- Gatti McArthur S, Alberati D, and Bartfai T. (2007) Thermotolerance, thermoresistance, and thermosensitivity. thermoregulation see: Febrile response; thermotolerance, thermoresistance, and thermosensitivity. volume 3, pp 585–594, ã , Elsevier Inc.
- Hafez, E.S.E and Hafez, B. 2000. Espermatozoides y Plasma Seminal. En: Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 7ª edición. Interamericana McGraw - Hill. México. Pp. 98-100.
- Hernández, R., Fernández, C., & Bautista, P. (2010). Metodología de la Investigación.
- Hidalgo, C. O., & Tamargo, C. (2005). Análisis del semen bovino. Tecnología Agroalimentaria, 2. <http://www.serida.org/publicacionesdetalle.php?id=1495>
- Hube, A. (1978). Influencia del toro sobre el movimiento progresivo y el porcentaje de acrosomas normales en semen congelado y test de termorresistencia. *archivos de medicina veterinaria*, x(2), 188.
<https://books.google.com.pe/books?id=0fiQYfw7xA8C&pg=PA188&lpg=PA188&dq=tesis+en+termorresistencia+en+semen+de+vacunos&source=bl&ots=DiQSigRQCW&sig=>

- J Peláez¹, E Breininger², B Alegre¹, FJ Pen¹ and JC Domínguez¹. (2006). In vitro Evaluation of the Quality and Fertilizing Capacity of Boar Semen Frozen in Kozumplik, J. (1985). The thermoresistance test of spermatozoa and fertility in bulls.
- Europe PMC. Published. <https://europepmc.org/article/med/3927562>
Lawrence, T.; Fowler, (1997). Compensatory Growth. In: Growth of farm animals. CAB International, cap. 219-246. 5ta edición. McGraw-Hill/ Interamericana Editores S.A. de C.V. Impreso
- Martínez, E.; Vázquez J.M., Matas C., Rota J., Coy P. and Gadea J. (1992). Evaluation of boar spermatozoa penetrating capacity using pig oocytes at the germinal vesicle stage: Theriogenology 40:547-557, 1993.
- Medina, Sánchez, Velasco, & Cruz, P. (2007). Crioconservación de semen bovino usando un congelador programable (CL-8800) y determinación de su calidad post descongelación por medio un sistema de análisis espermático asistido por computador (CASA). ORINOQUIA, 11, 75–86. <https://www.redalyc.org/pdf/896/89611108.pdf>
- Muñoz R. (2008). Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas casa y citometría de flujo: identificación de subpoblaciones espermáticas [Tesis para optar el grado de doctor] Universidad de Santiago de Compostela.
- Nagy A^{1*}, Tassos Polichronopoulos¹, Aspárdy A², László Solti¹ and Sándor Cseh¹. (2015)- Correlation between bull fertility and sperm cell velocity parameters generated by computer-assisted semen analysis. *acta veterinaria hungarica* 63 (3), pp. 370–381 (2015): doi: 10.1556/004.2015.035.
- Nagy, S., Hallap, T., Johannisson, A., Martínez-Rodríguez, H., (2004). Changes in plasma membrane and acrosome integrity of frozen-thawed bovine spermatozoa during a 4 h incubation as measured by multicolor flow cytometry. *Anim. Reprod. Sci.* 80, 225–235.
- Naranjo, P. (2015). Evaluación de los parámetros seminales epididimarios post-mortem en la especie bovina en la Universidad Técnica de Cotopaxi campus Salache. Repositorio digital Universidad Técnica de cotopaxi. Recuperado 27 de octubre de 2021, de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/2858>.
- Navarro, P. (2015). Evaluación de los parámetros seminales epididimarios post-mortem en la especie bovina en la Universidad Técnica de Cotopaxi campus Salache. [tesis de bachiller inédita] Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Ojeda, R. (2018). Propuesta de un plan de bienestar animal para vacunos sementales del Banco Nacional de Semen - UNALM. Repositorio institucional Universidad Nacional Agraria La Molina. Recuperado 27 de octubre de 2021, de <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3286>.

- Olivera, M., Ruiz, T., & Taazona, A. (2006). El espermatozoide, desde la eyaculación hasta la fertilización. *scielo*, 19.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902006000400008
- Pelaez¹, J. Breininger², J Alegre¹, B Pen[~] al FJ and Dominguez¹, J.C..(2006). In vitro evaluation of the quality and fertilizing capacity of boar Semen frozen in Preparations M. Schulzea,*, K. Rüdiger, M. Junga, R. Grossfeldb,(2014), Use of refractometry as a new management tool in AI boar centers for quality assurance of extender preparations. *Animal Reproduction Science* 152 (2015) 77–82.
- Pursel, V.G., Johnson, L.A., Rampacer, G.B., (1972). Acrosome morphology of boar spermatozoa incubated before cold shock. *J. Anim. Sci.* 34, 2.
- Quintero-Moreno, A., Rigaut, T. and Rodríguez-Gil, J.E.(2004). Regression
- Quispe G. (2016). Evaluación Comparativa de la Calidad Seminal y Funcional de Semen Crio Preservado Comercial de Origen Nacional en Bovinos Lecheros de Tres Centros de Colección Seminal, Arequipa, 2016 [tesis para obtener el título profesional de Médico veterinario Zootecnista].
<http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/7327>
- ini¹, L.E. Kozicki², F.R. Gaievski¹, G. Polo¹, L.G.F. Lima¹, J. Santiago³, M.S. Segui², R.R. Weiss⁴, T.G.B. Galan⁵. (2019): <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4162-10994>.
- Rodríguez, H. (2003). Laboratory Semen Assessment and Prediction of Fertility: still Utopia?*. *Reprod Dom Anim* 38, 312–318 (2003)_ 2003 Blackwell Verlag, Berlin ISSN 0936-6768: U.S Clearance Centre Code Statement: 0936768/2003/3804–0312\$15.000/0.
- Rupert P.Amann.(1988). Can the fertility potential of a seminal sample be predicted accurately?*. *Journal Of Andrology*, vol. 10, no.2march/april 1989 copyright c american society of andrology.
- Sá Filho, M.F.; Marques M.O.; Baruselli, P.S. Indução de ciclicidade e iatf em novilhas zebuínas. *biotecnologia da reprodução em bovinos*. in: simpósio internacional de reprodução animal, 4., 2010, londrina. anais... londrina: [s.n], 2010. p.79-100.
- Sánchez Riquelme, A.,(2019). Termorresistencia de espermatozoides caninos en semen fresco diluido. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30, 495–499.
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-1172019000100050&script=sci_abstract
- Santos E.A.A., Sousa P.C., Dias C.E.V., Castelo T.S., Peixoto G.C.X., Lima G.L., Ricarte A.R.F., Simão B.R., Freitas C.I.A. , A.R. Silva* .(2011). Assessment of sperm survival and functional membrane integrity of the six-banded armadillo (*Euphractus sexcinctus*) . *Theriogenology* 76 (2011) 623–629.

- Shelley, P., Dolbec, C., Bouchard, N., & Tom, P. (2021). Bovine Semen Quality Control in Artificial Insemination Centers. Wiley Online Library, 1(Richard M. Hopper DVM, Diplomat ACT,). <https://doi.org/10.1002/9781119602484.ch81>
- Simonik, O., Sichtar, J., Krejcarkova, A., & Rajmon, R. (2015). Computer assisted sperm analysis – the relationship to bull field fertility, possible errors and their impact on outputs: A review. Indian Journal of Animal Sciences, 3–11. https://www.researchgate.net/profile/Ondrej-simonik/publication/271464638_Computer_assisted_sperm_analysis_-_The_relationship_to_bull_field_fertility_possible_errors_and_their_impact_on_outputs_A_review/links/54c8a4720cf22d626a39d9ec/Computer-assisted-sperm-analysis-The-relationship-to-bull-field-fertility-possible-errors-and-their-impact-on-outputs-A-review.pdf
- Suarez, C. (2015). Fertilidad de semen congelado de toros nacionales Holstein usando los dilutores leche-yema, tris-yema y triladyl. [Tesis para optar el grado de Magister Scientiae en producción animal]. Universidad Nacional Agraria La Molina
- Talini, R., Kozicki, L. E., & Gaieuski, F. R. (2019). Bovine semen thermoresistance tests and their correlation with pregnancy rates after fixed-time artificial insemination. SciELO. Published. <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/5zW3qsTh8PMvQcLMv3By5gy/?lang=en&format=html>
- Tools in boar semen quality analysis. Theriogenology. 61: 673-690.
- Toro A.I. (2009). Espermograma. Medicina & Laboratorio 2009, 15:145-169, Modulo 14 (Tecnología), numero 11. Editora medica Colombiana S.A.
- Tríbulo L.,(2001). Evaluation reproductive de toros. La Voz del Campo. Córdoba Argentina.
- Vera Castillo, C. A. (2011). Evaluación de la validéz de la cría y análisis de semen para predecir la fertilidad del toro (Bachelor's thesis). Retrieved from <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/3054>
- Vejarano, O., Sanabria, L., & Trujillo, L. (2005). Diagnóstico de la capacidad reproductiva de toros en ganaderías de tres municipios del alto Magdalena. Revista MVZ Córdoba. Published. <https://doi.org/10.21897/rmvz.469>
- Veracruz, L. (2014). Aportaciones a la crioconservación de gametos masculinos de la raza bovino murciana Levantina: recongelación de espermatozoides. [Tesis para obtener el grado de Doctor] Universidad de Murcia.
- Vianna, F.P. Papa*, F.O. Zahn, F.S. Melo, C.M. Dell'Aqua J.A. Jr. (2008). Thermoresistance sperm tests are not predictive of potential fertility for cryopreserved bull semen. Animal Reproduction Science 113 (2009) 279–282: 0378-4320/\$ – see front matter © 2008 Elsevier B.V. All rights reserved: doi:10.1016/j.anireprosci.2008.06.009

- Xu X, Pommier S, Arbov T, Hutchings B, Sotto W and Foxcroft G.R., J ANIM SCI 1998, 76:3079-3089 (1999). In vitro maturation and fertilization techniques for assessment of semen quality and boar fertility: Journal of Animal Science • January <http://jas.fass.org/content/76/12/3079>.
- Zahan, M., Pall, E., Cenariu, M., Miclea, I., & Dascal, A. S. (2018). Relationship between in vitro semen parameters and bull fertility. ABAH BIOFLUX, 10, 156–163. <https://www.abah.bioflux.com.ro/>
- Zootec. 52: 15-23. Alvarez J . G. & Storey B. T. (1983).Taurine, hypotaurine, epinephrine and albumin inhibit lipid peroxidation in rabbit spermatozoa and protect against loss of motility. Biol. Reprod. 29: 548-555.

ANEXOS

Cuadro 1A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva en sementales
Holstein y Brown Swiss. 0 minutos

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	381.924	1	381.924	16.44	* *
Tratamientos (Sementales)	475.645	3	158.55	6.83	* *
Error Experimental	813.106	35	23.23		
TOTAL	1670.675	39			

C.V. = 6.23%

Cuadro 2A. Análisis de varianza para motilidad espermática rápida en sementales
Holstein y Brown Swiss. 0 minutos

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	394.384	1	394.384	5.35	*
Tratamientos (Sementales)	922.136	3	307.379	4.17	*
Error Experimental	2580.844	35	93.74		
TOTAL	3897.364	39			

C.V. = 11.20%

Cuadro 3A. Análisis de varianza para motilidad espermática lenta en sementales Holstein y Brown Swiss. 0 hrs.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	11.556	1	11.556	0.30	N S
Tratamientos (Sementales)	390.931	3	130.31	2.94	*
Error Experimental	1551.812	35	44.34		
TOTAL	1954.299	39			

C.V. = 17.28%

Cuadro 4A. Análisis de varianza para motilidad espermática circular en sementales Holstein y Brown Swiss. 0 hrs.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	9.506	1	9.506	2.12	N S
Tratamientos (Sementales)	48.249	3	16.083	3.62	*
Error Experimental	156.644	35	4.476		
TOTAL	1670.675	39			

C.V. = 34.42%

Cuadro 5A. Análisis de varianza para espermatozoides inmóviles en sementales Holstein y Brown Swiss. 0 hrs.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	282.542	1	282.542	10.78	* *
Tratamientos (Sementales)	475.185	3	158.395	6.05	* *
Error Experimental	917.072	35	26.202		
TOTAL	1674.799	39			

C.V. = 22.58%

Cuadro 6A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva en sementales Holstein y Brown Swiss. 15 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	599.850	1	599.850	23.72	* *
Tratamientos (Sementales)	685.609	3	228.536	9.04	* *
Error Experimental	885.259	35	25.293		
TOTAL	2170.718	39			

C.V. = 6.48%

Cuadro 7A. Análisis de varianza para motilidad espermática rápida en sementales Holstein y Brown Swiss. 15 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	132.133	1	132.133	2.70	N S
Tratamientos (Sementales)	709.959	3	236.653	4.84	* *
Error Experimental	1710.528	35	48.87		
TOTAL	2552.620	39			

C.V. = 19.73%

Cuadro 8A. Análisis de varianza para motilidad espermática lenta en sementales Holstein y Brown Swiss. 15 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	68.906	1	68.906	1.31	N S
Tratamientos (Sementales)	777.908	3	259.304	4.93	* *
Error Experimental	1840.894	35	52.597		
TOTAL	2687.708	39			

C.V. = 18.16 %

Cuadro 9A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva circular en sementales Holstein y Brown Swiss. 15 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	37.056	1	37.056	27.25	* *
Tratamientos (Sementales)	76.999	3	25.666	18.87	* *
Error Experimental	47.445	35	1.36		
TOTAL	161.499	39			

C.V. = 57.45%

Cuadro 10A. Análisis de varianza para espermatozoides inmóviles en sementales Holstein y Brown Swiss. 15 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	551.306	1	551.306	18.58	* *
Tratamientos (Sementales)	634.655	3	211.552	7.47	* *
Error Experimental	1038.547	35	29.673		
TOTAL	2224.508	39			

C.V. = 24.14%

Cuadro 11A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva en sementales Holstein y Brown Swiss. 30 minutos

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	559.504	1	559.504	17.67	* *
Tratamientos (Sementales)	670.289	3	223.430	7.06	* *
Error Experimental	1108.258	35	31.665		
TOTAL	2238.051	39			

C.V. = 7.35%

Cuadro 12A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva rápida en sementales Holstein y Brown Swiss. 30 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	82.656	1	82.656	0.61	N S
Tratamientos (Sementales)	457.449	3	152.483	1.13	N S
Error Experimental	4737.415	35	135.355		
TOTAL	5277.520	39			

C.V. = 32.63%

Cuadro 13A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva lenta en sementales Holstein y Brown Swiss. 30 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	71.556	1	71.556	3.40	N S
Tratamientos (Sementales)	279.819	3	93.273	4.43	* *
Error Experimental	737.415	35	21.070		
TOTAL	1088.790	39			

C.V. = 11.83%

Cuadro 14A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva circular en sementales Holstein y Brown Swiss. 30 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	37.249	1	37.249	11.79	* *
Tratamientos (Sementales)	72.474	3	24.158	7.64	* *
Error Experimental	110.461	35	3.16		
TOTAL	220.184	39			

C.V. = 87.57%

Cuadro 15A. Análisis de varianza para espermatozoides inmóviles en sementales Holstein y Brown Swiss. 30 inmóviles.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	622.521	1	622.521	22.86	* *
Tratamientos (Sementales)	700.294	3	233.431	8.42	* *
Error Experimental	970.129	35	27.72		
TOTAL	2292.944	39			

C.V. = 22.12%

Cuadro 16A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva en sementales Holstein y Brown Swiss. 60 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	814.506	1	814.506	36.47	* *
Tratamientos (Sementales)	943.645	3	314.548	14.08	* *
Error Experimental	781.657	35	22.222		
TOTAL	2539.808	39			

C.V. = 6.35%

Cuadro 17A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva rápida en sementales Holstein y Brown Swiss. 60 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	154.842	1	154.842	2.72	N S
Tratamientos (Sementales)	920.971	3	306.99	5.39	* *
Error Experimental	1992.435	35	56.927		
TOTAL	3068.248	39			

C.V. = 23.59%

Cuadro 18A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva lenta en sementales Holstein y Brown Suiss. 60 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	95.481	1	95.481	1.61	N S
Tratamientos (Sementales)	741.330	3	247.11	4.18	*
Error Experimental	2070.645	35	59.16		
TOTAL	2907.456	39			

C.V. = 18.87

Cuadro 19A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva circular en sementales Holstein y Brown Suiss. 60 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	39.442	1	39.442	6.19	*
Tratamientos (Sementales)	125.637	3	41.88	6.57	* *
Error Experimental	222.973	35	6.37		
TOTAL	388.052	39			

C.V. = 153.61%

Cuadro 20A. Análisis de varianza para inmovilidad de espermatozoides en sementales Holstein y Brown Suiss. 60 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	669.942	1	669.942	15.41	* *
Tratamientos (Sementales)	908.665	3	302.888	6.97	* *
Error Experimental	1521.773	35	43.48		
TOTAL	3100.380	39			

C.V. =26.34%

Cuadro 21A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva en sementales Holstein y Brown Suiss. 120 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	494.910	1	494.910	10.88	* *
Tratamientos (Sementales)	896.233	3	298.74	6.57	* *
Error Experimental	1591.373	35	45.47		
TOTAL	2982.516	39			

C.V. = 9.77%

Cuadro 22A. Análisis de varianza para motilidad espermática rápida en sementales Holstein y Brown Swiss. 120 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	43.056	1	43.056	1.37	* *
Tratamientos (Sementales)	615.948	3	205.232	6.52	* *
Error Experimental	1101.510	35	31.47		
TOTAL	1760.514	39			

C.V. = 20.35%

Cuadro 23A. Análisis de varianza para motilidad espermática lenta en sementales Holstein y Brown Swiss. 120 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	229.396	1	229.393	6.32	*
Tratamientos (Sementales)	446.046	3	148.682	4.10	*
Error Experimental	813.106	35	36.30		
TOTAL	1945.866	39			

C.V. = 14.71%

Cuadro 24A. Análisis de varianza para motilidad espermática circular en sementales Holstein y Brown Swiss. 120 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	0.225	1	0.225	0.21	N S
Tratamientos (Sementales)	1.018	3	0.339	0.32	N S
Error Experimental	37.133	35	1.061		
TOTAL	38.376	39			

C.V. = 210%

Cuadro 25A. Análisis de varianza para espermatozoides inmóviles en sementales Holstein y Brown Swiss. 120 minutos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	497.730	1	497.730	10.96	* *
Tratamientos (Sementales)	902.827	3	300.94	6.63	* *
Error Experimental	1589.297	35	45.41		
TOTAL	2989.854	39			

C.V. = 21.77%

Cuadro 26A. Análisis de varianza para motilidad espermática progresiva en sementales Holstein y Brown Swiss, según sementales y tiempos

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (sementales)	321.9252	3	107.31	43.1	* *
Tratamientos (tiempos)	194.0264	4	48.51	19.5	* *
Error Experimental	29.8858	12	2.49		
TOTAL	545.8374	19			

C.V. = 2.1%

Cuadro 27A. Análisis de varianza para motilidad espermática rápida en sementales Holstein y Brown Swiss. Según tiempos y sementales.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (sementales)	329.8638	3	109.95	35.93	* *
Tratamientos (tiempos)	225.8796	4	56.47	18.45	* *
Error Experimental	36.7695	12	3.06		
TOTAL	592.5129	19			

C.V. = 5.22%

Cuadro 28A. Análisis de varianza para motilidad espermática lenta en sementales Holstein y Brown Swiss. Según tiempos y sementales

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (sementales)	229.6409	3	76.55	27.04	* *
Tratamientos (tiempos)	19.6823	4	4.92	1.74	N S
Error Experimental	33.9663	12	2.83		
TOTAL	283.2895	19			

C.V. = 4.23%

Cuadro 29A. Análisis de varianza para motilidad espermática circular en sementales Holstein y Brown Swiss. Según sementales y tiempos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (sementales)	23.0508	3	7.68	12.20	* *
Tratamientos (tiempos)	7.5472	4	1.89	3.00	*
Error Experimental	7.6016	12	0.63		
TOTAL	1670.675	19			

C.V. = 48.10%

Cuadro 30A. Análisis de varianza para espermatozoides inmóviles en sementales Holstein y Brown Swiss. Según sementales y tiempos.

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	331.2691	3	110.42	42.63	* *
Tratamientos (Sementales)	193.4190	4	48.35	18.67	* *
Error Experimental	31.0244	12	2.59		
TOTAL	555.7125	19			

C.V. = 6.42%

Cuadro 31A. Análisis de varianza para espermatozoides vivos en Holstein y Brown Suiss, según sementales a las 0,0 horas

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (razas)	479.5563	1	479.56	3.09	N S
Tratamientos (sementales)	500.1329	3	166.71	1.07	N S
Error Experimental	5437.4650	35	155.36		
TOTAL	6417.1542	39			

C.V. = 21.57%

Cuadro 32A. Análisis de varianza para espermatozoides vivos en Holstein y Brown Swiss, según sementales a los 60,0 minutos

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	378.3480	1	378.35	2.59	N S
Tratamientos (Sementales)	461.4686	3	153.82	1.05	N S
Error Experimental	5115.0448	35	146.14		
TOTAL	5954.8614	39			

C.V. = 23.76%

Cuadro 33A. Análisis de varianza para espermatozoides vivos en Holstein y Brown Swiss, según sementales a los 120,0 minutos

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Bloques (Razas)	169.5381	1	169.5381	1.10	N S
Tratamientos (Sementales)	283.3681	3	94.46	0.61	N S
Error Experimental	5421.9063	35	154.91		
TOTAL	5954.8614	39			

C.V. = 28.66%

Cuadro 33A. Análisis de varianza para espermatozoides vivos en Holstein y Brown Swiss, según tiempos pos descongelado

Fuentes de variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrado Medio	Fc	Signif.
Tratamientos (tiempos)	413.4757	2	206.74	14.86	* *
Error Experimental	125.2002	9	13.91	1.05	
TOTAL	538.6759	11			

C.V. = 7.36%

**VOLUMEN Y CONCENTRACION DE LOS TOROS DEL BANCO NACIONAL
DE SEMEN -2019**

TOROS	N	N° DE COLECCIONES										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	PROM
Aníbal	Volumen (CC)	8	5	7	6	12	6	4	7.5	7	6	6,25±2.16
	Concentración (MILL)	700	700	1100	900	1400	600	1000	1000	1000	1500	990±292
Bolt	Volumen (CC)	9.5	5	5	8	5.5	6	8	4	7	8	6,6±1.76
	Concentración (MILL)	1100	700	950	1000	1400	600	800	1100	1000	1000	965±1.01
America	Volumen (CC)	6	7	7.5	6.5	8	4.5	7	5.5	6	6.5	6,45±1.01
	Concentración (MILL)	1600	1600	1300	1100	800	1800	1800	1700	1600	1600	1490±324
Vichama	Volumen (CC)	5	8.5	5	10.5	5.5	6	4.5	5	5	4.5	5,95±1.98
	Concentración (MILL)	1100	1300	1200	1300	1600	1500	1600	1200	1300	1500	1360±177

Fuente: Banco Nacional de Semen

ANEXOS FOTOS



FOTO N°1 Toros listos para colecta de semen.



FOTO N°2 Colección de semen toro -América



Foto N°3 Dilutor en baño María



FOTO N°4 Fotómetro – materiales esterilizados antes de la evaluación seminal



niFOTO N.º 5

FOTO N°5. Platina caliente para tubos eppendorf



FOTO N°. 6 dosis seminal

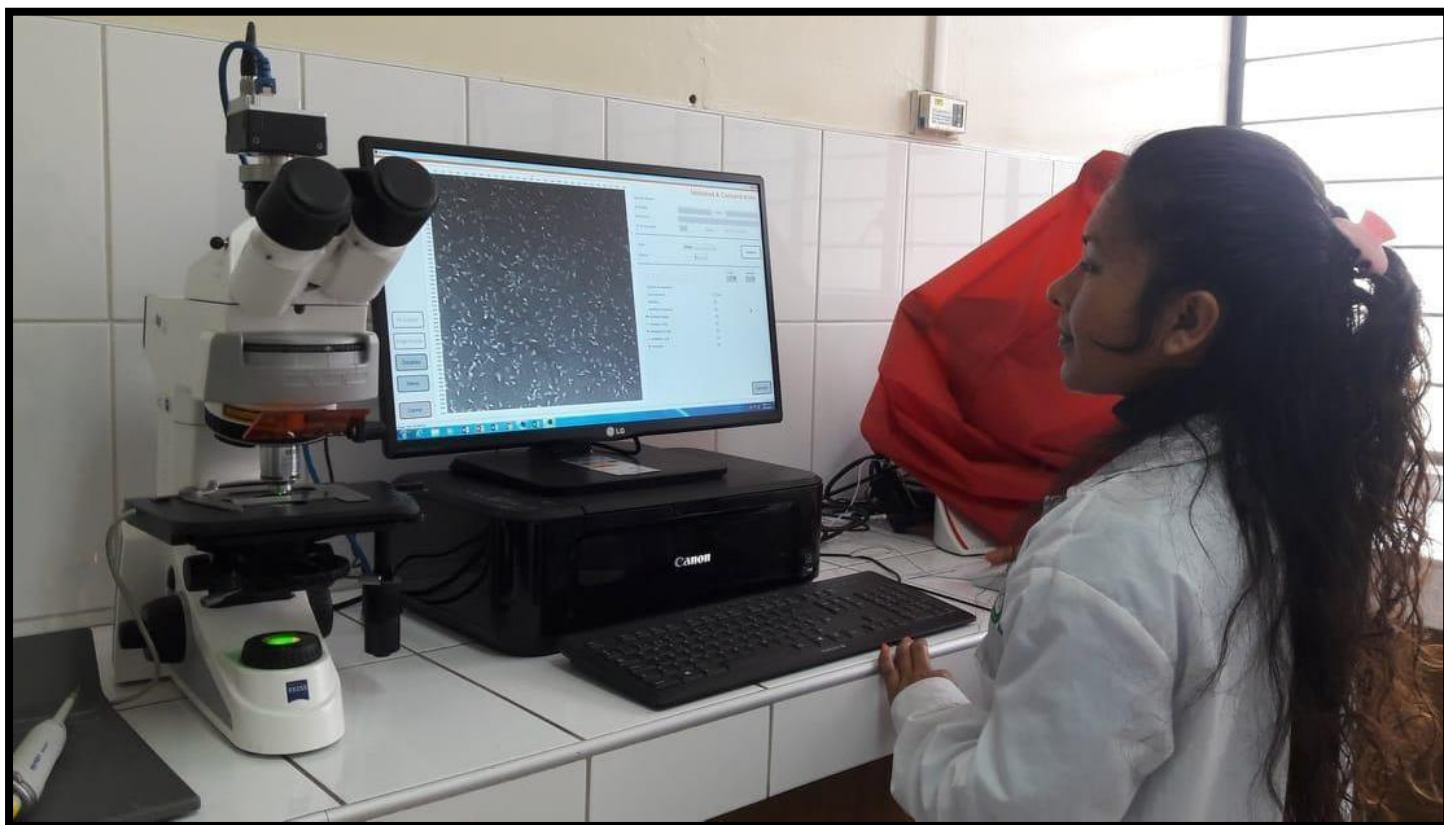


FOTO N.º 7 Evaluación seminal, en el C.A.S. A

