



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA  
DE AMAZONAS**

**EPG**   
ESCUELA DE POSGRADO

**ESCUELA DE POSGRADO**

**TESIS PARA OBTENER  
EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN  
PRODUCCIÓN ANIMAL**

**EFEECTO DE DOS DILUTORES DE CRIO  
PRESERVACIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS  
MICROSCÓPICAS DEL ESPERMATOZOIDE POST  
DESCONGELAMIENTO, DE REPRODUCTORES  
BOVINOS DE LAS RAZAS SIMMENTAL, ABERDEEN  
ANGUS, JERSEY Y BRANGUS.**

**Autor: Bach. César Augusto Maraví Carmen**

**Asesor: Ph.D. Ilse Silvia Cayo Colca**

**CHACHAPOYAS – PERÚ  
2019**



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA  
DE AMAZONAS**

**EPG**   
ESCUELA DE POSGRADO

**ESCUELA DE POSGRADO**

**TESIS PARA OBTENER  
EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN  
PRODUCCIÓN ANIMAL**

**EFFECTO DE DOS DILUTORES DE CRIO  
PRESERVACIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS  
MICROSCÓPICAS DEL ESPERMATOZOIDE POST  
DESCONGELAMIENTO, DE REPRODUCTORES  
BOVINOS DE LAS RAZAS SIMMENTAL, ABERDEEN  
ANGUS, JERSEY Y BRANGUS.**

**Autor: Bach. César Augusto Maraví Carmen**

**Asesor: Ph.D. Ilse Silvia Cayo Colca**

**CHACHAPOYAS – PERÚ  
2019**

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, agradezco a Dios, por la vida, salud y por guiarme en el camino del bien, a lo largo de mi existencia.

A mis hijos Anthony, César, Valeria y Alexandra que son la razón de mi vida, dándome fortaleza para seguir adelante.

A mis padres, Prime y Lali quienes me apoyan en todo, por los consejos valores y principios que me han inculcado.

Al Instituto de Investigación en Ganadería y Biotecnología por permitirme realizar este trabajo de investigación en el Banco de semen y embriones BSE, de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. UNTRM.

Mi más sincero agradecimiento a los compañeros de trabajo de la Facultad de Ingeniería Zootecnista Agronegocios y Biotecnología FIZAB a la cual pertenezco.

Agradezco a mi familia por su comprensión de manera muy especial a mi esposa Marisol quien ha estado a mi lado siempre, compartiendo mis alegrías y angustias, el apoyo incondicional y la ayuda de siempre, en ella encontré las fuerzas necesarias para lograr un objetivo más en mi vida.

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO  
RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

**Dr. POLICARPIO CHAUCA VALQUI**

*Rector*

**Dr. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLÓN**

*Vicerrector Académico*

**Dra. FLOR TERESA GARCÍA HUAMAN**

*Vicerrector de investigación*

**Dr. RAÚL RABANAL OYARCE**

*Director de la EPG-UNTRM*

## **VISTO BUENO DEL ASESOR**

El docente de la UNTRM-A que suscribe, hace constar que ha asesorado la realización de la tesis titulada:

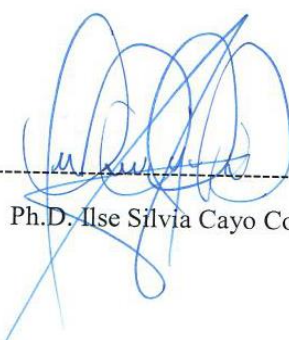
**“EFECTO DE DOS DILUTORES DE CRIO PRESERVACIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DEL ESPERMATOZOIDE POST DESCONGELAMIENTO, DE REPRODUCTORES BOVINOS DE LAS RAZAS SIMMENTAL, ABERDEEN ANGUS, JERSEY Y BRANGUS”**

Del Ingeniero Zootecnista en la Universidad Nacional de Cajamarca:

**Ing. CÉSAR AUGUSTO MARAVÍ CARMEN**

El docente de la UNTRM-A que suscribe, da el visto bueno al informe final de la tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el jurado evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones para su posterior sustentación.

Chachapoyas, enero de 2019



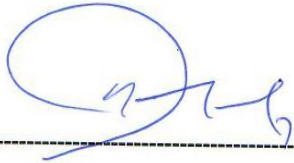
Ph.D. Ilse Silvia Cayo Colca

## **JURADO EVALUADOR**



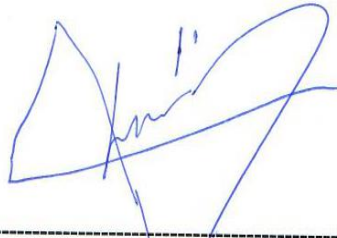
---

**M.Sc. Segundo José Zamora Huamán**  
**PRESIDENTE**



---

**M.Sc. Héctor Vladimir Vásquez Pérez**  
**SECRETARIO**



---

**M.Sc. Wilmer Bernal Mejía**  
**VOCAL**

# DECLARACION JURADA



UNIVERSIDAD NACIONAL  
TORIBIO RODRÍGUEZ DE  
MENDOZA DE AMAZONAS

Secretaría General  
OFICINA DE GRADOS Y TÍTULOS

## ANEXO 6-K

### DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO DE TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO (X) / DOCTOR ( )

Yo CÉSAR AUGUSTO MARAVI CARMEN identificado  
con DNI N° 33417148 estudiante ( )/egresado ( ) de Maestría (X)/Doctorado ( ) en  
CIENCIAS EN PRODUCCIÓN ANIMAL

de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas:

#### DECLARO BAJO JURAMENTO QUE:

1. Soy autor de la Tesis titulada: EFFECTO DE DOS DILUTORES DE CRIOPRESERVACIÓN EN LAS CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DEL ESPERMATOZOIDE POST DESCONGELAMIENTO, DE REPRODUCTORES BOVINOS DE LAS RAZAS ABERDEEN ANGUS, SIMMENTAL, JERSEY Y BRONGUS.

que presento para obtener el Grado Académico de Maestro (X)/Doctor ( ) en: CIENCIAS EN PRODUCCION ANIMAL.

2. La Tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, y para su realización se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. La Tesis presentada no atenta contra derechos de terceros.
4. La Tesis presentada no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. La información presentada es real y no ha sido falsificada, ni duplicada, ni copiada.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo toda responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la Tesis para obtener el Grado Académico de Maestro (X)/Doctor ( ), así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para la UNTRM en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido de la Tesis.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que la Tesis haya sido publicada anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de mi acción se deriven.

Chachapoyas, de MARZO de 2019

  
Firma del(a) Tesisista



# ACTA DE EVALUACION



UNIVERSIDAD NACIONAL  
TORIBIO RODRÍGUEZ DE  
MENDOZA DE AMAZONAS

Secretaría General  
OFICINA DE GRADOS Y TÍTULOS

## ANEXO 6-N

### ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO ( ) / DOCTOR ( )

En la ciudad de Chachapoyas, el día 22 de FEBRERO del año 2019, siendo las 10.00 horas, el aspirante CESAR AUGUSTO MORAN URTEN

defiende en sesión pública la Tesis titulada: EFFECTO DE DOS DILUTORES DE CASO PNEUMONIA EN LAS CARACTERÍSTICAS MICROSCÓPICAS DEL ESPERMATOZOIDE POST DESCONGELAMIENTO, DE REPRODUCTORES BOWEN DE LAS RAZAS SIMMENTAL, ALBADESA ARGUI, TRESSEX Y BRANGUI

para obtener el Grado Académico de Maestro (X)/Doctor ( ) en CIENCIAS EN PRODUCCIÓN ANIMAL a ser otorgado por la

Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: M.Sc. SEGUNDO JOSE ZARON HUAMAN  
Secretario: M.Sc. HECTOR VILASCA VILASCA PEREZ  
Vocal: M.Sc. WILMER BERNAL NETO

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y método, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto, a fin de que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la Tesis de Maestría (X)/Doctorado ( ), en términos de:  
Aprobado (X) Desaprobado ( )

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 12:00 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis de Maestría (X)/Doctorado ( ).

  
SECRETARIO

  
VOCAL

  
PRESIDENTE

  
LEVENTON PASERO CACERES



# ÍNDICE

<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	i
<b>AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS</b> .....	ii
<b>VISTO BUENO DEL ASESOR</b> .....	iii
<b>JURADO EVALUADOR</b> .....	iv
<b>DECLARACION JURADA</b> .....	v
<b>ACTA DE EVALUACION</b> .....	vi
<b>ÍNDICE</b> .....	vii
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	viii
<b>RESUMEN</b> .....	ix
<b>ABSTRACT</b> .....	x
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....	4
<b>2.1. Antecedentes de la investigación</b> .....	4
<b>2.2. Bases teóricas</b> .....	6
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	14
<b>3.1. Hipótesis</b> .....	14
<b>3.2. Variables de estudio</b> .....	14
<b>3.3. Metodología</b> .....	15
<b>3.4. Métodos</b> .....	15
<b>3.5. Procedimiento</b> .....	16
<b>3.6. Análisis de datos</b> .....	17
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	18
<b>4.1. Características del semen en fresco</b> .....	18
<b>4.2. Evaluación del efecto del dilutor en semen de diferentes razas de toros sobre las características del semen pos descongelamiento</b> .....	20
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	26
<b>VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	27
<b>ANEXOS</b> .....	32

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1: Matriz de operacionalización de variables</b> .....	14
<b>Tabla 2: Características de semen en fresco de cuatro razas de bovinos</b> .....	18
<b>Tabla 3: Estadística descriptiva para características de semen en fresco de cuatro razas de bovinos</b> .....	19
<b>Tabla 4: Concentración en el eyaculado total, de acuerdo a la clasificación, con interacción de dilutor (1 Dilutor AndroMed®, 2 dilutor Triladyl®) x raza</b> .....	20
<b>Tabla 5: Concentración en el eyaculado total en base a la raza</b> .....	20
<b>Tabla 6: Concentración en eyaculado total en base al dilutor</b> .....	21
<b>Tabla 7: Estadística descriptiva para concentración de eyaculación total de acuerdo de cuatro razas de bovinos</b> .....	21
<b>Tabla 8: Concentración en millones/mL, de acuerdo a la clasificación, con interacción de dilutor (1 Dilutor AndroMed®, 2 dilutor Triladyl®) x raza</b> .....	23
<b>Tabla 9: Concentración en millones/mL en base a la raza</b> .....	23
<b>Tabla 10: Concentración en millones/mL en base al dilutor</b> .....	23
<b>Tabla 11: Estadística descriptiva para concentración de millones/mL de acuerdo de cuatro razas de bovinos</b> .....	24
<b>Tabla 12: Concentración en %, de acuerdo a la clasificación, con interacción de dilutor (1 Dilutor AndroMed®, 2 dilutor Triladyl®) x raza</b> .....	25
<b>Tabla 13: Concentración en porcentaje en base a la raza</b> .....	25
<b>Tabla 14: Concentración en porcentaje en base al dilutor</b> .....	25
<b>Tabla 15: Estadística descriptiva para concentración en porcentaje de espermatozoides según raza</b> .....	25

## RESUMEN

En los sistemas de producción de ganadería bovina la fertilidad es el factor más importante desde el punto de vista económico, el potencial reproductivo del macho es de incuestionable importancia. El presente estudio se realizó en las estaciones experimentales y en el laboratorio de biotecnología reproductiva de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza con el objetivo de evaluar el efecto de dos dilutores comerciales en las características microscópicas del espermatozoide post descongelamiento de reproductores bovinos de las razas Simmental, Aberdeen angus, Jersey y Brangus; utilizando Andromed y triladyl de acuerdo a las especificaciones del fabricante. La colecta de semen se realizó cada 15 días durante 5 meses por el método de la vagina artificial, en laboratorio se realizó el envasado, refrigeración y congelación de las pajuelas, para su posterior almacenamiento y evaluación post congelación mediante sistema CASA. El análisis de datos se realizó mediante un diseño factorial bajo un diseño en bloques completo al azar y la prueba de tukey ( $p < 0.05$ ). Los resultados indicaron que no hubo diferencia significativa respecto al dilutor en concentración de espermatozoides, sin embargo, se mostraron diferencias en la cantidad de pajillas producidas y proyectadas. La raza Angus son capaces de producir desde 200 a 350 pajillas, siendo superiores a los Simmental, Jersey y Brangus. Se encontró diferencias en cuanto a las características del semen fresco respecto a la raza. Es importante tener en cuenta el sistema de producción del semental para que aporte semen con buenas características y se conserve con cualquier tipo de dilutores que se usaron en el presente estudio.

**Palabras claves:** Dilutor, microscópicas, espermatozoide.

## **ABSTRACT**

In cattle production systems fertility is the most important factor from the economic point of view, the reproductive potential of the male is of unquestionable importance. The present study was carried out in the experimental stations and in the laboratory of reproductive biotechnology of the National University Toribio Rodríguez de Mendoza; Using Andromed and triladyl according to the manufacturer's specifications. The collection of semen was performed every 15 days for 5 months by the artificial vagina method, in the laboratory the packaging, refrigeration and freezing of the straws were made, for its subsequent storage and post-freezing evaluation by CASA system. The data analysis was performed by analysis of variance and the tukey test ( $p < 0.05$ ). The results indicated that there was no significant difference to the dilutor in sperm concentration, however, there were differences in the amount of straws produced and projected. The Angus breed are capable of producing from 200 to 350 straws, being superior to Simmental, Jersey and Brangus. Differences were found regarding the characteristics of fresh semen with respect to the breed. It is important to take into account the production system of the stallion so that it contributes semen with good characteristics and is conserved with any type of diluters that were used in the present study.

**Keywords:** Dilutor, microscopic, sperm.

## I. INTRODUCCIÓN

La criopreservación de semen bovino es una importante biotecnología reproductiva, que busca promover la conservación del germoplasma masculino por tiempo indeterminado. Esta biotecnología, cuando se asocia a la inseminación artificial, representa un mecanismo eficiente para la promoción y difusión de material genético de excelente calidad. La criopreservación de semen proporciona una economía para el productor, al reducir los costos de alimentación y transporte de los reproductores, así como los riesgos de transmisión de enfermedades sexualmente transmisibles (Castelo *et al.*, 2008).

La eficiencia productiva de la ganadería es fundamental para maximizar la utilización de los recursos de dicho sector y así poder obtener el máximo provecho posible, dónde el estudio de los factores que afectan su rendimiento es crucial. La fertilidad potencial del macho en la eficiencia reproductiva y productiva de las explotaciones bovinas es de incuestionable importancia para los sistemas de producción pecuaria (Morillo *et al.*, 2012).

En estos sistemas de producción la fertilidad es el factor más importante desde el punto de vista económico. El objetivo de los productores es conseguir altos índices de gestación en periodos cortos. Sin embargo, esto no ocurre si la habilidad de producción del semental se ve disminuida (Cisneros, 2011).

La importancia de conservar recursos genéticos durante el presente milenio es ampliamente reconocido, considerando que la conservación de espermatozoides es de gran importancia, ya que contribuye con grandes aplicaciones potenciales en biotecnología como: conservación de especies y medicina clínica, apoyando las técnicas de reproducción asistida que presentan numerosas posibilidades para ser empleadas en la propagación y conservación de las distintas especies animales, aunque todavía no se dispone de ningún método o procedimiento que permita determinar por medición directa el poder fecundante de los espermatozoides, se conocen algunas de las características que debe de exhibir el semen de buena calidad, entre estas se encuentran las características morfológicas, los que resultan importantes dentro del análisis seminal, de igual forma lo son la motilidad y la concentración espermática, ya que de ello dependerá el poder fecundante de los gametos. Los espermatozoides están entre las células más frágiles, y

estas no sobreviven por largos periodos fuera del tracto reproductivo del macho, hay que recordar que el epidídimo sirve para la maduración de los espermatozoides, por lo que deben pasar por un período dentro de este para poder adquirir el poder de fecundar al óvulo (Cuaran y Burbano, 2014).

Existen varias situaciones por las que la capacidad reproductiva de un toro puede verse afectada como son: el nivel nutricional, topografía del terreno, número de vacas por semental, edad, fotoperiodo, el medioambiente y enfermedades principalmente. Si los toros están trabajando en sistema de pastoreo con baja producción y calidad de forraje es recomendable un suplemento ya que al momento del empadre demandará mucha energía. Si el semental se encuentra en buenas condiciones esto puede aumentar la producción de becerros y reducir la época de monta (Rosato y Angelino, 2009).

La valoración de la calidad seminal es una de las herramientas de análisis más empleadas en la clasificación de los machos para el servicio por monta directa o programas de inseminación artificial gracias al cual se obtiene información del potencial de fertilidad del toro en ese momento, debido a que la calidad seminal puede cambiar bastante y rápidamente dependiendo de si un toro está pasando o recuperándose de un proceso que afecte la espermatogénesis (Barth, 2008).

La evaluación de semen es un componente importante, complementaria a la exploración clínica para estimar la capacidad potencial de un macho como reproductor. Esta evaluación tiene un valor diagnóstico evaluar la función testicular y epidídimo y/o normalidad del tracto genital del macho que ayuda a identificar casos claros de infertilidad o incluso de potencial sub fertilidad. Además, la evaluación de una muestra de semen puede determinar su potencial capacidad fecundante antes de ser utilizado para inseminación artificial o en fertilización in vitro (Rodríguez, 2006).

La posibilidad de poder mantener el semen congelado ha provocado un alto desarrollo en el campo de la reproducción bovina, especialmente si hablamos de la inseminación artificial. Pero el hecho de mantener semen congelado durante muchos años, no es el punto relevante, sino que la importancia radica en que los espermatozoides pueden sobrevivir y mantener su vitalidad durante muchos años. Es por ello que cuando se pretende criopreservar el semen bovino, se debe poner especial atención en los medios en



los cuales se va a realizar su dilución y los crio protectores que se va a utilizar ya que son la clave para obtener un semen de excelente calidad y en las mejores condiciones para obtener unos altos niveles de fecundación con la inseminación artificial. Además, decimos que la dilución tiene como objetivo aumentar el volumen total de eyaculado, de esta manera es posible que tan solo con un eyaculado podamos obtener un mayor número de pajuelas para la inseminación artificial, para varias hembras; y lo más relevante que les proporciona a los espermatozoides un ambiente óptimo para que conserven su vitalidad y poder de fecundación (Carpio, 2015).

Actualmente la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas viene realizando el proceso de colecta, producción y criopreservación de semen de reproductores importados de la República de Colombia. Sin embargo, existe la necesidad de probar otros dilutores comerciales durante el proceso de congelación debido a la no uniformidad en las características microscópicas que se vienen obteniendo post descongelamiento. En este sentido es necesario evaluar otras alternativas de dilutores para mejorar los resultados actuales de los reproductores de cuatro razas de ganado bovino. La presente investigación pretende mejorar las características microscópicas post descongelamiento del semen, utilizando dilutores comerciales como alternativas que garanticen la fertilidad en la técnica de inseminación artificial. La información generada servirá para mejorar los resultados en las características microscópicas de semen teniendo en cuenta el efecto de los dilutores.

El objetivo general fue evaluar el efecto de dos dilutores comerciales en las características microscópicas del espermatozoide post descongelamiento de reproductores bovinos de las razas Simmental, Aberdeen Angus, Jersey y Brangus.

Los objetivos específicos fueron:

- Evaluar las características del semen en fresco obtenidas de reproductores bovinos de las razas Simmental, Aberdeen Angus, Jersey y Brangus
- Evaluar el efecto raza – dilutor sobre las características microscópicas del semen.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes de la investigación

Para desarrollar programas de mejoramiento genético utilizando la técnica de inseminación artificial y aprovechar las ventajas de la inseminación artificial, es necesario el almacenamiento del semen. Esto se logra con la crio preservación (congelación a  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Permitiendo un almacenamiento indefinido en nitrógeno líquido sin pérdida de la fertilidad. A pesar de esto, existen reproductores cuyos espermatozoides no sobreviven o son dañados durante el proceso de crio preservación. Por lo tanto, se requiere mayor información sobre el efecto de diferentes crioprotectores sobre la calidad espermática post descongelamiento.

Carpio (2015), realizó una investigación que tuvo como finalidad estudiar el semen bovino crio conservado con dos tipos de diluyentes. Para realizar este trabajo se utilizó el semen de un toro donante mestizo Holstein y como diluyentes se utilizó el concentrado estéril comercial Triladyl con yema de huevo (T1) y Triladyl con leche descremada (T2). Se utilizó seis eyaculados recolectados en dos días distintos, y diluidos con los dos tipos de diluyentes, los cuales se empacaron en pajuelas de 0,5 cc y se crio conservaron en nitrógeno líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente se descongelaron las pajuelas que corresponden a las muestras de los tratamientos, siendo 10 pajuelas por cada tratamiento, y en total fueron descongeladas 20 pajuelas. Una vez descongeladas las pajuelas se realizó el análisis microscópico de motilidad individual, determinación de espermatozoides vivos y muertos. Las variables analizadas fueron porcentaje de motilidad individual, y porcentajes de espermatozoides vivos y muertos. Los resultados se analizaron con t de student, observando que con el T1 se lograron los mayores porcentajes de motilidad individual y espermatozoides vivos.

Ribeiro-Peres *et al.*, (2014), realizaron un estudio con el objetivo de comparar los métodos de criopreservación convencional y automatizado de espermatozoides colectados de la cola del epidídimo de toros *post mortem*. Fueron utilizados 22 epidídimos, colectados en una planta faenadora. Los espermatozoides fueron colectados con la técnica de flujo retrogrado utilizando medio diluyente sin

crioprotector (Botubov®I, Botupharma. Botucatu, SP, Brasil), fueron analizados en cuanto a la motilidad, vigor, integridad estructural y funcional de la membrana plasmática, viabilidad, actividad mitocondrial e integridad del ADN. Los espermatozoides fueron separados en dos muestras y diluidos en medio con crioprotector (Botubov®II, Botupharma. Botucatu, SP, Brasil), fueron envasados en pajillas francesas, conteniendo  $50 \times 10^6$  espermatozoides móviles por pajilla. Las pajillas fueron congeladas por los métodos convencional (4 °C, durante 4 horas, en nevera doméstica y 20 minutos por encima de la superficie líquida conteniendo nitrógeno líquido) y automatizado (Cryogen®, Neovet, Uberaba, MG, Brasil). Las muestras de espermatozoides frescos presentaron resultados superiores en todos los parámetros realizados comparados con los métodos de congelación convencional y automatizado, con excepción de los parámetros hipoosmóticos, donde las muestras de espermatozoides frescos no tuvieron alteraciones significativas comparadas con las muestras de espermatozoides criopreservados por el método convencional. La motilidad media de espermatozoides frescos fue de 74%, y de 29 y 25% con los métodos convencional y automatizado respectivamente. Así, aunque las técnicas de criopreservación reducen los parámetros de calidad espermática, se mantiene la viabilidad de los espermatozoides, pudiendo ser utilizada para la preservación espermática.

Núñez *et al.* (2017), realizó una investigación con el objetivo de recabar la principal información de diferentes fuentes e investigaciones sobre los factores que afectan la fertilidad y viabilidad de semen bovino y caprino. En el ganado bovino juega un papel muy importante en la reproducción, por eso se decide establecer criterios de calificación de los sementales tales como: características físicas de un buen semental, tomar medidas de factores que afecta la producción espermática y viabilidad, entre otras cosas; y de igual manera lo es en el ganado caprino. Así mismo se cuenta con la información de cómo los diferentes factores tales como genéticos, nutricionales, medioambientales y de manejo pueden influir en la calidad seminal de estas especies.

## 2.2. Bases teóricas

Por diluyente se entiende a la solución acuosa que permite aumentar el volumen del eyaculado hasta conseguir las dosis necesarias, preservar las características funcionales de las células espermáticas y mantener el nivel de fertilidad adecuado (Gadea, 2005).

Los primeros medios utilizados para diluir el semen fueron principalmente las soluciones salinas o azucaradas para aumentar el volumen del semen para su empleo inmediato más bien que como conservadoras de él (Salisbury, 1982).

Por años se han estado descubriendo, investigando y evaluando muchos medios para la dilución de semen, especialmente bovino los cuales antes de la década de 1950 sólo permitía conservar su viabilidad por 1 o 2 o en ocasiones hasta 4 días a temperaturas de aproximadamente de 4°C en estado líquido o inclusive a temperatura ambiente de 15 a 25° C (Sorensen, 1984); todo esto en gran parte gracias a que se descubrieron los valores de la yema de huevo que presentó un diluyente conservador que reunía las ventajas de disminuir la actividad metabólica de los espermatozoides y prolongar su fertilidad conservándolos aproximadamente a 5° (Salisbury, 1982).

El semen empieza a congelarse exitosamente a principio de los años 50. El semen congelado puede almacenarse por tiempo indeterminado. No es raro escuchar que alguien emplee semen congelado por 10 años o más, proveniente de un semental muerto tiempo atrás. En la actualidad el medio más común de almacenamiento es nitrógeno líquido, el cual tiene una temperatura de -196 °C. Otros medios son los mecánicos en los cuales se almacena aproximadamente a -110° C. Y el hielo seco y alcohol que alcanza una temperatura de -79°C (Sorensen, 1984).

La adición de glucosa y fructuosa a un medio de dilución, parece constituir un elemento que favorece la vitalidad de los zoospermios. Parece, sin embargo, que estos azúcares intervendrían más por su acción física al mantener la presión osmótica y un balance electrolítico conveniente para el medio, que por la energía metabólica que pudiesen proporcionar a los espermatozoides (Derivaux, 1982).

Desde 1941 se puso atención al problema de los contaminantes microbianos en el eyaculado del toro. El número de microorganismos por ml. Puede fluctuar entre no detectables y varios millones; muchos no son patógenos, pero compiten con los espermatozoides por nutrientes y producen compuestos metabólicos que tienen efectos adversos sobre la viabilidad de los espermatozoides. Existe la posibilidad de que se eyaculen algunos patógenos y de que otras fuentes contribuyan a la contaminación.

En 1946 se descubrió el efecto benéfico de añadir antibióticos a los diluyentes de semen. Algunos de los antibióticos empleados en los diluyentes son: sulfonamidas, penicilinas, estreptomicinas, polimixina (Bearden, 1982).

Las características que debe reunir un diluyente: Deben ser isotónicos al semen (tener la misma concentración de iones libres), capacidad amortiguadora (evitar cambios de pH al neutralizar los ácidos producidos por el metabolismo de los espermatozoides), proteger a los espermatozoides de las lesiones producidas por el choque térmico, proporcionar nutrientes para el metabolismo de los espermatozoides, controlar contaminantes microbianos, los espermatozoides deben estar protegidos contra daño durante la congelación y descongelación, debe preservar la vida de los espermatozoides con un mínimo de efecto sobre la fertilidad (Bearden, 1982), los diluyentes deben poseer los puntos antes citados además de ser de preparación fácil, estables y económicos (Salisbury, 1982).

El universal de IMV fabricado en Francia, por la compañía IMV. Este es un concentrado de dos pasos, en el cual hay que preparar la porción glicerada y la no glicerada. El concentrado es llamado concentrado Buffer EUROPHOS bovino y contiene buffer de iones hidrogenados, ácido cítrico y carbohidratos; además de un frasco con antibióticos llamada antibióticos CSS equivalente a 60 mg de tilosina, 300 mg de gentamicina y 180/360 mg de lincospectina; y una botella con glicerol (manual de universal de IMV).

Triladyl, fabricado en Alemania por el laboratorio Minitube; este es un concentrado para la preparación de un diluyente listo para el uso de un solo paso, que está basado en Tris (Hidroximetil, aminometano, un amortiguador sintético)

y además contiene agua bidestilada, glicerol, ácido cítrico, fructuosa y por cada 100 ml contiene los siguientes antibióticos: Tilosina 5 mg gentamicina 25 mg espectinomicina 30 mg y lincomicina 15 mg para su preparación se adicionan tres partes de agua bidestilada, una parte de yema de huevo y una parte del concentrado comercial (Manual de Triladyl).

Diladyl, fabricado en Alemania por el laboratorio Minitube, es para preparación en dos pasos, está constituido en una fracción A, una B con glicerol y una C con antibióticos (catálogo Minitube).

AndroMed, es un diluyente a base de lecitina de soya es de la nueva generación de medio andrológico libre de ingredientes de origen animal, para la conservación de semen bovino.

También existen otros estudios con diluyente a base de soya los cuales revelan a diferencia de los diluyentes a base de yema de huevo, una ligera ventaja en cuanto a la tasa de no retorno con respecto a los elaborados con soya como lo señalan estudios hechos con Biociphos plus, el cual se agrupa dentro del grupo de diluyentes a base de soya (Harina, 2000; Thun, 2002).

Siendo el agua la fuente esencial para las funciones vitales de cualquier organismo, no es raro pensar que la falta o solidificación de esta causa incompatibilidad para la vida. Sin embargo, la permanencia de una célula en un estado de congelación se contrapone a lo anterior, ya que con el método de congelamiento se puede preservar una célula a temperatura extremadamente baja, permitiendo que el metabolismo se reduzca absolutamente, sin que pierda su potencial vital. A temperaturas de  $-196^{\circ}$  C. no hay reacciones bioquímicas ni energía térmica dentro de la célula, aún más no hay evidencia de que puedan haber cambios de índole genético. No obstante, dicha estabilidad solamente puede ser mantenida a temperaturas por debajo de los  $-130^{\circ}$  C, ya que a temperaturas mayores puede haber agua no congelada intracelularmente la cual permite funciones metabólicas, causando degradación de la célula (Palacios, 1994).



Al pensar en criopreservar semen se debe tener claro que el objetivo es mantener los siguientes requerimientos y propiedades de un espermatozoide para poder fertilizar: Metabolismo para llevar a cabo la producción de energía para sus funciones, proteínas necesarias para la sobrevivencia dentro del aparato reproductor femenino, y para la adhesión al ovocito en el momento de la fertilización, enzimas acrosomales útiles para la penetración al ovocito, capacidad de movimientos progresivos (Amann and Pickett, 1987).

Está comprobado que al reducir la temperatura por debajo de los 20°C. El espermatozoide comienza a presentar cambios biofísicos, principalmente en la membrana plasmática, pero no es sino cuando se somete a temperaturas entre los 0° C. y los -20° C. o hasta los -60 °C, que el espermatozoide sufre efectos de descomposición iónica y de líquidos suficientemente graves para causar un choque térmico. Esto se puede detectar al microscopio por la presencia de espermatozoides con la cola doblada, con pérdida de movilidad por la disminución de energía, o realizando movimientos en círculo, lo cual se debe al aumento de la permeabilidad de la membrana plasmática y a la salida de iones y moléculas.

El problema en la criopreservación no es la habilidad del espermatozoide para mantenerse viable a - 196° C, sino sortear el daño que ocurre durante el congelamiento y descongelamiento, al pasar la célula por una zona crítica entre - 15°C y -60°C, durante la cual se producen fenómenos que se derivan del proceso de enfriamiento, tales como formación de cristales intra y extracelularmente, deshidratación y distorsión de la membrana (Daw et al., 1973).

Bajo condiciones normales, el daño que una célula sufra durante el congelamiento depende de la velocidad de enfriamiento a la que ocurra dicho proceso. Mientras disminuya la temperatura, antes de llegar a - 5°C, los líquidos aún no sufren cambios, pero al bajar de esta temperatura, se comienzan a formar cristales extracelularmente de agua pura, logrando que por el mismo fenómeno de cristalización todos los solutos queden separados del cristal, aumentando así la concentración de sales en la porción de agua que aún no se congela (agua pre congelada) (Palacios, 1994). El término pre congelado define al momento umbral antes de que una célula o su ambiente sean congelado (Franks, et al, 1983). Dentro

de la célula también hay agua precongelada, la cual se difunde hacia el exterior de la célula para que la concentración de sales en el interior y el exterior de la misma se equilibren, sucediendo así la deshidratación celular. Si el agua no sale rápidamente hay formación de cristales intracelulares, que dañan mecánicamente a la célula. Si la tasa de enfriamiento es lenta, la alta concentración de sales que queda en la porción no congelada dentro de la célula pueden dañarla, además de deshidratarla, por lo que se hace importante encontrar el ritmo óptimo de enfriamiento. (Amann y Pikett, 1987).

Con la finalidad de entender mejor este proceso se hace necesario remontarse a la fisiología de la membrana espermática. La configuración bilaminar de las cadenas de ácidos grasos de los fosfolípidos, junto con las proteínas integrales y periféricas, conforman una barrera hidrofóbica difícil de atravesar. Los fosfolípidos de la membrana se pueden mover lateralmente en la membrana, por lo que se dice que la membrana es un mosaico fluido. La fluidez de la membrana puede alterarse por varios factores, entre ellos la temperatura. Al bajar esta se produce un reacomodo de las cadenas de fosfolípidos en forma de paquetes, ya sea en forma bilaminar o hexagonal, formándose con esto regiones cristalinas. Sin embargo, hay regiones en las que todavía existen líquidos, y aquellas proteínas que fueron separadas del bloque cristalino se agrupan, de forma que se constituyen brechas de comunicación en la membrana (Palacios, 1994).

Dependiendo del ritmo de enfriamiento los eventos que suceden son distintos. Cuando el ritmo de congelación es rápido (reducción de la temperatura mayor a 10 a 20° C/min) al agua intracelular no le da tiempo de salir, porque se forman cristales que, que al aumentar el ritmo de congelamiento se hacen cada vez más pequeños, hasta hacerse imperceptibles aún con el microscopio electrónico. Esto es saludable para la célula mientras permanezca en este estado. No obstante, esos microcristales son termodinámicamente inestables, por lo que al ser descongelados, tienden a agruparse, (recristalización) y formar cristales más grandes, que si son letales para la célula, por lo que la solución es un ritmo de descongelamiento rápido (Watson, 1986). No se conoce bien como la forma de recristalización daña la célula. Se cree que no es físico el daño, es más se piensa

que directamente es inocuo, pero se genera cambios letales en el sistema celular, los que son de carácter letal.

Con un ritmo de descongelamiento lento (reducción de la temperatura menor a 5° C/min). Se puede evitar el congelamiento celular, porque este ritmo permite que el agua intracelular y extracelular pueda salir continuamente, mientras el exterior se va congelando. Llega un momento en que la célula prácticamente no tiene agua y no se congela. Hay evidencias que indican que cuando aproximadamente el 90 % del agua es removido, el 10 % restante no es capaz de congelarse a ninguna temperatura. Pero ante esta situación la proporción de hielo extracelular es tan grande que le causa daño a la membrana por su lado externo (Mazur, 1984).

Teóricamente se podría hacer más resistente a un espermatozoide reduciéndole el número de poros en la membrana y reduciéndole las funciones ATP dependientes, así como la agregación proteínica y formación de bloques lipídicos. Presumiblemente ésta es la acción de las lipoproteínas de la yema de huevo o de la leche en los diluyentes, y de crioprotectores, como por ejemplo el dimetil sulfoxido, la botaina y el glicerol. Aunque no se tiene bien determinado si la acción del glicerol tiene efectos externos o internos en la célula, hay evidencias de que la presencia de un aditivo crioprotector reduce la concentración de sales intracelulares a una temperatura dada, debido a que incrementa la fracción no congelada en el exterior de la célula. El problema que se presenta con estos crioprotectores es que también produce toxicidad, y que esta toxicidad disminuye la concentración de otros aditivos que pueden ser usados en el diluyente y por lo tanto limita la eficiencia de ellos.

En los diluyentes utilizados, tanto para semen refrigerado como para semen congelado, ha sido necesario incluir leche descremada o yema de huevo, sobre todo esta última. A pesar de haber sido utilizada desde hace varias décadas, lo único que se conoce sobre el efecto de la yema de huevo es que su inclusión mejora la fertilidad del semen. Tiene bondades conocidas pero perjuicios desconocidos, especialmente actividades de tipo enzimático potencialmente dañinas.

Uno de los obstáculos que se presenta para realizar la evaluación del semen es estudios de diluyentes con base en yema de huevo, es la consistencia de la misma, la cual interfiere, tanto por la viscosidad que produce en el diluyente como por la poca nitidez que tiene el campo visual del microscopio. La densidad del diluyente con yema de huevo puede influir en la dirección o movimiento espermático. De hecho, los estudios de viabilidad espermática en humanos requieren efectuar lavado de las células para evitar distorsiones en la medición, aunque esto eventualmente, puede causar pérdida en la movilidad.

Recientemente han surgido investigaciones en las que se utilizan alternativas proteínicas dentro del diluyente en lugar de la yema de huevo, así pues, se ha utilizado albúmina sérica bovina, suero equino, suero bovino, proteína de soya, calostro, alcohol poli vinílico, etc. Todos ellos proveen la oportunidad de hacer estudios in vitro con buena visibilidad ante el microscopio. (Palacios, 1994).

La criopreservación de semen es una importante biotecnología reproductiva, que busca promover la conservación del germoplasma masculino por tiempo indeterminado. Esta biotecnología, cuando se asocia a la inseminación artificial, representa un mecanismo eficiente para la promoción y difusión de material genético de excelente calidad. La criopreservación de semen proporciona una economía para el productor, al reducir los costos de alimentación y transporte de los reproductores, así como los riesgos de transmisión de enfermedades sexualmente transmisibles (Castelo y col 2008).

De esta forma la utilización de espermatozoides congelados, provenientes del eyaculado o del epidídimo, es indispensable para un buen programa de inseminación artificial, ya que la manipulación de espermatozoides frescos o congelados otorga una viabilidad corta del material. El objetivo de congelar células espermáticas es la producción de un banco de las mismas, teniendo a disposición un material sin plazo de vencimiento, potencializando la eficiencia de la reproducción animal (Amirat y col 2004). Sin embargo, el proceso de criopreservación resulta en la disminución de la fertilidad cuando se compara con semen fresco (González 2004).

Una de las cuestiones importantes relacionadas con la eficiencia de las técnicas de criopreservación es la velocidad de reducción de la temperatura durante el congelamiento. El tipo de curva utilizada durante la congelación tiene influencia directa en el grado de las lesiones celulares, debido a procesos de deshidratación y formación de cristales de hielo intracelulares (Moore y col 2006).

Existen básicamente dos métodos de congelación de semen, el convencional y el automatizado. En el método convencional las pajillas son acomodadas en una gradilla de metal y refrigeradas a 4 °C, durante 4 horas, en una nevera doméstica. Luego de este periodo, la gradilla de metal con las pajillas, es transferida para una caja de tecnopor, conteniendo nitrógeno líquido y acomodadas 6 cm por encima de la superficie líquida durante 20 minutos. Finalmente, las pajillas son inmersas en nitrógeno líquido y, posteriormente, almacenadas en un termo de nitrógeno. Por el método automatizado, luego del envase, las pajillas son refrigeradas y congeladas utilizando un equipo congelador de semen automático con un protocolo estándar según recomendaciones del fabricante. Luego de la congelación las pajillas son almacenadas en el termo de nitrógeno líquido (Vasconcelos-Filho 2010).

Generalmente, los técnicos de campo utilizan el método convencional de congelación, utilizando materiales simples como la nevera de la propiedad, para realizar la curva de enfriamiento, y la congelación en la caja de poliestireno con nitrógeno líquido. Esta técnica ha demostrado ser viable, aunque la estandarización de las curvas de enfriamiento y congelación es imprecisa, toda vez que dependen de la calidad del material utilizado, como sellamiento de la nevera, tamaño de la caja de poliestireno y el nivel de nitrógeno. De esta manera, se han desarrollado sistemas electrónicos automatizados portátiles, de bajo costo para el control de las curvas de congelación del semen (González 2004). La estandarización de la curva de enfriamiento y de congelación parece ser una ventaja sobre la otra técnica, ya que durante la técnica manual esa estandarización es difícil, ya que depende de la calidad del material utilizado y existe el riesgo de una posible falla humana; además, la practicidad de tener todas las etapas controladas por un aparato constituye otra ventaja (Vasconcelos-Filho 2010).

González (2004) no observó diferencia significativa entre las técnicas de congelación de semen convencional y la automatizada para los test de motilidad, vigor e integridad de membrana plasmática acrosomal y mitocondrial. Entre tanto Vasconcelos-Filho (2010) obtuvo mejores resultados después de la crioconservación utilizando la técnica automatizada de congelación para motilidad y vigor.

### III. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1. Hipótesis

Existen diferencias significativas en las características microscópicas del semen crio preservado de ganado bovino con el uso de dos dilutores comerciales.

#### 3.2. Variables de estudio

##### Variable dependiente

- Características microscópicas de los espermatozoides post descongelamiento.

##### Variable independiente

- Dilutores comerciales de semen
- Razas de ganado bovino.

**Tabla 1: Matriz de operacionalización de variables**

VARIABLE	DIMENSIÓN	VARIABLES DE ESTUDIO
Variables dependientes	Características microscópicas de los espermatozoides post descongelamiento	Volumen, motilidad, vigor y concentración
Variables independientes	Dilutores comerciales de semen, razas de ganado bovino	Razas Simmental, Aberdeen Angus, Jersey y Brangus



### **3.3. Metodología**

#### **3.3.1 Diseño de investigación**

Para el desarrollo del presente trabajo, se utilizó el método científico como método general de investigación y como métodos auxiliares recurrimos al método experimental.

#### **3.3.2 Población muestra y muestreo**

##### **De los animales.**

El trabajo de investigación se realizó con cuatro reproductores machos del núcleo genético de ganado bovino en la estación experiemetal de Florida Pomacochas de la UNTRM de las razas Simmental, Aberdeen Angus, Jersey y Brangus. Con las mismas condiciones de manejo y alimentación.

##### **Período de estudio.**

El trabajo se realizó desde el mes de abril a agosto del 2015, con colectas cada 15 días es decir 10 colectas en total los días viernes.

##### **Lugar de estudio.**

Las colectas de semen se realizaron en las estaciones experimentales de la UNTRM donde están los reproductores (Pomacochas y Huambo), la evaluación de los espermatozoides se realizó en el Laboratorio de Biotecnología reproductiva animal de la UNTRM.

##### **De los dilutores.**

Se evaluarán el efecto de dos dilutores:

AndroMed® contiene fosfolípidos, TRIS, ácido cítrico, azúcares, antioxidantes, tampones, glicerina, agua de altísima pureza y antibióticos (Tilosina, Gentamicina, Espectinomicina, Lincomicina).

Triladyl® contiene TRIS, ácido cítrico, azúcar, tampones, glicerina, agua purísima y antibióticos (Tilosina, Gentamicina, Espectinomicina, Lincomicina).

### **3.4. Métodos**

### **Protocolo de colecta de semen.**

La colecta de semen se realizó cada 15 días durante los 5 meses de ejecución del trabajo, antes de la colecta seminal para la crío preservación, se realizó una buena higienización del prepucio, externa e internamente al reproductor. Para ello es necesario cortar los pelos del orificio prepucial (dejando aproximadamente 1cm de largo), seguido del lavado externo con jabón neutro y agua teniendo el cuidado de secar bien con papel absorbente. El lavado interno del prepucio debe ser realizado con solución fisiológica, usando una pipeta adaptada a una jeringa (50ml), teniendo cuidado en secar bien la región lavada.

Seguidamente se llevó al reproductor al brete de colecta que existe en cada estación y luego de inmovilizar al toro (chantador) en el cual el semental realizó la monta para la recolección de semen.

#### **3.4.1 Técnicas e instrumentos**

La colección de semen se realizó por el método de la vagina artificial, que luego del armado se llenó el espacio entre el tubo de plástico y el látex con agua entre 45 y 55 °C, seguidamente se agregó aire a través de la válvula de agua para proporcionar la presión adecuada, colocando la camisa aislante que cubre el tubo o cono donde se recibió el eyaculado para evitar el shock térmico, lubricando de 10 a 15 cm de la entrada de la vagina.

Preparar al toro para la monta, pasar al toro por el lado del toro chantado. Esto incrementará el volumen, dejar dos o tres montas falsas antes de la monta firme, para luego realizar la colecta de semen propiamente dicha, en la que el operador se paró a dos pasos de la pierna posterior derecha del toro, en el momento que el toro monta la mano izquierda del operador desvía el pene hacia la derecha y ofrece la vagina artificial, la vagina sujeta con la mano derecha del operador, se ofrece cuando el pene se encuentra desviado. No se debe poner la vagina sobre el pene, sino tratar de juntar la punta con la entrada de la vagina, una vez que el toro haya hecho el empuje de la cadera hacia adelante (golpe del riñón) indica la eyaculación, se inclina la vagina hacia el lado del vaso colector. Al bajar el toro se quita la vagina.

### **3.5.Procedimiento**

### **Procesamiento del semen**

Se prepararon los dilutores en estudio (Andromed y triladyl), de acuerdo a las especificaciones del fabricante. Para utilizar en la dilución del semen colectado, luego se transportó el semen al laboratorio, donde el eyaculado obtenido fue diluido en una proporción de 1:5 para su transporte y luego colocado en una caja de tecnopor donde la temperatura del ambiente disminuye 0.5 °C por minuto hasta llegar a 5 °C.

En el laboratorio se realizó la evaluación pre congelación mediante el sistema CASA. Para luego realizar el envasado, refrigeración y congelación de las pajuelas, para su posterior almacenamiento y evaluación post congelación mediante el sistema CASA.

### **3.6. Análisis de datos**

Para la determinación del efecto de los dilutores y la raza sobre la viabilidad espermática, se realizó un análisis de varianza con nivel de confianza del 95%, utilizando una factorial bajo un diseño en bloques completamente al azar y para las comparaciones múltiples se usó la prueba de tukey ( $p < 0.05$ ). En el análisis estadístico se utilizó el programa Statistix 8.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Características del semen en fresco

No se encontró diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) con respecto al número de saltos que realizan los toros para la colecta del semen (Tabla 2), de 1 a 3 saltos en promedio, Tabla 3, calificándose como bueno de 1 a 2, o que el toro tiene buen lívido, 3 saltos como regular (Palma, 2008). Sin embargo, se observa diferencias en el volumen de semen colectado ( $p < 0.05$ ), siendo superior los toros de la raza Angus en 2 cc en promedio a las otras razas evaluadas. Valores similares al reporte de raza Negra Andaluza (7 cc), posiblemente esté relacionado al método de colecta por electro eyaculación (Sánchez García *et al.*, 1993; Vallecillo *et al.*, 2011), e inferiores al reporte de Aguirre *et al.* (2012) quienes reportaron 14 cc en toros “Encerados”, relacionado probablemente a la edad del semental, frecuencia de colectas, condiciones ambientales (Rey y Aramburo, 1990).

Con respecto al número de espermatozoides existen diferencias entre razas ( $p < 0.05$ ) Tabla 2, siendo superior la raza Angus en  $100^6/cc$  de espermatozoides con respecto al de menor producción que es Jersey, además se observa que la raza Simmental presenta mayor número de espermatozoides que la raza Brangus, pero inferior al máximo de producción de la raza Angus con 384 (Tabla 3). Estos resultados son inferiores en todas las razas evaluadas respecto al reporte de Aguirre *et al.* (2012), quienes encontraron concentración de 745 en toros “Encerados”. Al respecto Pacheco *et al.* (2007), Rey y Aramburo (1990) indican que las diferencias de concentraciones se dan por factores como el tiempo que transcurre desde el reflejo Flehemen, salto, edad, raza, frecuencias de colecta, tipo de alimentación.

**Tabla 2: Características de semen en fresco de cuatro razas de bovinos**

Características	Simmental	Jersey	Brangus	Angus
Salto	1.62 <sup>a</sup>	1.50 <sup>a</sup>	2.00 <sup>a</sup>	1.42 <sup>a</sup>
Volumen de semen colectado	5.88 <sup>b</sup>	6.00 <sup>b</sup>	6.17 <sup>b</sup>	8.27 <sup>a</sup>
Volumen de semen diluido 1:1	60.69 <sup>b</sup>	50.50 <sup>bc</sup>	45.70 <sup>c</sup>	76.17 <sup>a</sup>
Nº espermatozoides	242.75 <sup>b</sup>	202.00 <sup>bc</sup>	182.80 <sup>c</sup>	304.76 <sup>a</sup>
Cantidad de pajillas proyectadas	121.38 <sup>b</sup>	101.00 <sup>bc</sup>	91.40 <sup>c</sup>	152.33 <sup>a</sup>
Volumen total de semen y dilutor	11.75 <sup>c</sup>	12.00 <sup>b</sup>	12.35 <sup>b</sup>	16.54 <sup>a</sup>
Volumen final de dilutor	109.63 <sup>b</sup>	89.00 <sup>bc</sup>	79.05 <sup>c</sup>	135.79 <sup>a</sup>
Cantidad de pajillas producidas	217.19 <sup>b</sup>	180.00 <sup>bc</sup>	163.00 <sup>c</sup>	279.17 <sup>a</sup>

a,b,c: letras diferentes en la misma columna muestran diferencia significativa ( $p < 0,05$ )

Es importante tener sementales que produzcan mayor número de pajillas para la eficiencia del hato, en las cuatro razas de toros evaluadas presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) en la cantidad de pajillas producidas (Tabla 2), asimismo en cantidad de pajillas proyectadas, volumen total de semen y dilutor y volumen final de dilutor. Los toros de la raza Angus son capaces de producir desde 200 a 350 pajillas (Tabla 3), siendo superiores a los Simmental, Jersey y Brangus. Esta cantidad puede variar debido a diversos factores al momento de la colecta del semen como piso resbaladizo, ruidos y distracciones, además, es recomendable que la colecta se haga en una monta falsa porque aumenta la calidad del semen con respecto al volumen, concentración espermática (Rangel, 2007; Morillo *et al.*, 2012).

**Tabla 3: Estadística descriptiva para características de semen en fresco de cuatro razas de bovinos**

<b>Variable</b>	<b>N</b>	<b>Mean</b>	<b>SD</b>	<b>Minimum</b>	<b>Maximum</b>
<b>Raza Simmental</b>					
Salto	16	1.6250	0.7188	1.0000	3.0000
VolSemCol	16	5.8750	1.0408	4.0000	8.0000
VolSemDil	16	60.688	11.876	30.000	78.000
NumEspe	16	242.75	47.502	120.00	312.00
PajProy	16	121.38	23.751	60.000	156.00
VolToSemD	16	11.750	2.0817	8.0000	16.000
VolFinDil	16	109.63	24.099	50.000	146.00
PajProd	16	217.19	48.027	100.00	300.00
<b>Raza Jersey</b>					
Salto	8	1.5000	0.5345	1.0000	2.0000
VolSemCol	8	6.0000	0.6547	5.0000	7.0000
VolSemDil	8	50.500	4.8107	46.000	55.000
NumEspe	8	202.00	19.243	184.00	220.00
PajProy	8	101.00	9.6214	92.000	110.00
VolToSemD	8	12.000	1.3093	10.000	14.000
VolFinDil	8	89.000	9.1652	79.000	99.000
PajProd	8	180.00	21.381	160.00	200.00
<b>Raza Brangus</b>					
Salto	10	2.0000	1.0541	1.0000	4.0000
VolSemCol	10	6.1750	0.6015	5.0000	7.0000
VolSemDil	10	45.700	14.765	30.000	68.000
NumEspe	10	182.80	59.061	120.00	272.00
PajProy	10	91.400	29.530	60.000	136.00
VolToSemD	10	12.350	1.2030	10.000	14.000
VolFinDil	10	79.050	28.793	48.000	122.50
PajProd	10	163.00	59.638	100.00	250.00
<b>Raza Angus</b>					
Salto	12	1.4167	0.5149	1.0000	2.0000
VolSemCol	12	8.2708	2.8593	3.7500	15.000
VolSemDil	12	76.167	10.408	52.000	96.000
NumEspe	12	304.67	41.633	208.00	384.00
PajProy	12	152.33	20.817	104.00	192.00
VolToSemD	12	16.542	5.7186	7.5000	30.000
VolFinDil	12	135.79	21.605	79.000	162.00
PajProd	12	279.17	39.648	200.00	350.00

#### 4.2. Evaluación del efecto del dilutor en semen de diferentes razas de toros sobre las características del semen pos descongelamiento

No se encontró diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en el eyaculado total de semen en cc de cuatro razas, usando dos tipos de dilutores (Tabla 4). Asimismo, no hubo diferencias cuando se clasifico a los espermatozoides en progresivos rápidos, progresivos lentos, no progresivos, inmóviles con respecto a raza ni dilutor (Tabla 5), siendo superior al reporte de Veloz (2017), quien reporto 1036.8, 816.2 y 572.4 cc para Jersey, Holstein y Brown Swiss respectivamente, también fue superior a los resultados de Moncayo (2016), quien reportó 699.3 cc en Holstein. Al respecto, Vera (2008) y Brogliatti y Bó, (2013) indican que la observación de la motilidad individual, total y la estimación del porcentaje de espermatozoides con diferentes tipos de movimientos progresivos que reflejan la integridad de la membrana y la integridad morfológica de las células. Además, Murphy *et al.* (2018a) indica que las características del semen pos descongelamiento varia por el rango de temperatura de almacenamiento, logrando encontrar diferencias de motilidad en semen almacenado a 15 °C respecto al semen que fue almacenado a 5°C.

**Tabla 4: Concentración en el eyaculado total, de acuerdo a la clasificación, con interacción de dilutor (1 Dilutor AndroMed®, 2 dilutor Triladyl®) x raza**

Dilutor	Raza	Tipo a <sup>1</sup> cc	Tipo b <sup>2</sup> cc	Tipo c <sup>3</sup> cc	Tipo d <sup>4</sup> cc
1	Simmental	1861.7 <sup>a</sup>	3386.0 <sup>a</sup>	2740.6 <sup>a</sup>	477.2 <sup>a</sup>
1	Jersey	2126.5 <sup>a</sup>	3529.0 <sup>a</sup>	2294.4 <sup>a</sup>	454.9 <sup>a</sup>
1	Brangus	1541.0 <sup>a</sup>	2392.0 <sup>a</sup>	3243.2 <sup>a</sup>	1013.5 <sup>a</sup>
1	Angus	1899.8 <sup>a</sup>	3130.0 <sup>a</sup>	3245.0 <sup>a</sup>	832.6 <sup>a</sup>
2	Simmental	4108.0 <sup>a</sup>	10584.0 <sup>a</sup>	3099.0 <sup>a</sup>	708.5 <sup>a</sup>
2	Jersey	2735.0 <sup>a</sup>	7008.0 <sup>a</sup>	2774.6 <sup>a</sup>	143.3 <sup>a</sup>
2	Brangus	1735.4 <sup>a</sup>	3675.0 <sup>a</sup>	3070.8 <sup>a</sup>	379.4 <sup>a</sup>
2	Angus	1820.5 <sup>a</sup>	6219.0 <sup>a</sup>	3784.8 <sup>a</sup>	540.6 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Progresivos rápidos, <sup>2</sup>progresivos lentos, <sup>3</sup>no progresivos, <sup>4</sup>inmoviles  
a,b: letras iguales en la misma columna no muestran diferencia significativa

**Tabla 5: Concentración en el eyaculado total en base a la raza**

Clasificación	Simmental	Jersey	Brangus	Angus
Tipo a <sup>1</sup> cc	2984.8 <sup>a</sup>	2430.8 <sup>a</sup>	1638.2 <sup>a</sup>	1860.2 <sup>a</sup>
Tipo b <sup>2</sup> cc	3984.5 <sup>a</sup>	5268.1 <sup>a</sup>	3033.4 <sup>a</sup>	4674.6 <sup>a</sup>
Tipo c <sup>3</sup> cc	2919.8 <sup>a</sup>	2534.5 <sup>a</sup>	3157.0 <sup>a</sup>	3514.9 <sup>a</sup>
Tipo d <sup>4</sup> cc	592.9 <sup>a</sup>	299.1 <sup>a</sup>	696.5 <sup>a</sup>	686.6 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Progresivos rápidos, <sup>2</sup>progresivos lentos, <sup>3</sup>no progresivos, <sup>4</sup>inmoviles



Se nota una superioridad de concentración (742.4, 3762.2, 301.5 cc) al usar Triladyl® respecto al AndroMed® en espermatozoides de tipo a, tipo b, tipo c, respectivamente (Tabla 6), sin ser significativo ( $p>0.05$ ). Esto posiblemente que el diluyente puede alterar un poco la motilidad (Veloz, 2017). Corroborando con Khalil *et al.* (2019), quienes indican que las nano partículas de selenio usadas como dilutor del semen, estos mejoran la calidad del espermatozoide después pos descongelación en toros Holstein.

**Tabla 6: Concentración en eyaculado total en base al dilutor**

Clasificación	AndroMed®	Triladyl®
Tipo a <sup>1</sup> cc	1857.3 <sup>a</sup>	2599.7 <sup>a</sup>
Tipo b <sup>2</sup> cc	3109.1 <sup>a</sup>	6871.3 <sup>a</sup>
Tipo c <sup>3</sup> cc	2880.8 <sup>a</sup>	3182.3 <sup>a</sup>
Tipo d <sup>4</sup> cc	694.5 <sup>a</sup>	442.9 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Progresivos rápidos, <sup>2</sup>progresivos lentos, <sup>3</sup>no progresivos, <sup>4</sup>inmóviles

Si bien es cierto no se encontró diferencias estadísticas significativas en la concentración de espermatozoides de eyaculado total, pero se observa superioridad en la concentración de la raza Simmental con 2704.0 respecto a las otras razas y presenta un rango de 804 hasta 15917 para espermatozoides del tipo a o progresivo rápido. Asimismo, se observó para los espermatozoides del tipo b con mayor media y mejor amplitud de rango la raza Simmental (Tabla 7). Un rango general de las cuatro razas en estudio fue 742.0 en Angus y un máximo en Simmental con 15917 en tipo a y para el tipo b fue 507 para Simmental y máximo para Simmental con 48328. Al respecto Berry *et al.* (2019), mencionan que, si hay diferencias en volumen, espermatozoides vivos, motilidad, estudios realizados en 16 razas de toros. Por lo que los rasgos de calidad de semen son hereditarios y existen diferencias entre razas en semen fresco.

**Tabla 7: Estadística descriptiva para concentración de eyaculación total de acuerdo de cuatro razas de bovinos**

	EyactTA <sup>1</sup>	EyactTB <sup>2</sup>	EyactTC <sup>3</sup>	EyactTD <sup>4</sup>
<b>Raza Simmental</b>				
N	16	16	16	16
Mean	2704.0	6084.8	2875.0	563.93
SD	3608.1	11544	1891.9	457.37
Variance	1.301E+07	1.332E+08	3.579E+06	209190
Minimum	804.80	507.00	406.40	36.600
Maximum	15917	48328	8935.0	1647.8
<b>Raza Jersey</b>				
N	8	8	8	8
Mean	2430.8	5268.1	2534.5	299.07
SD	1054.5	3297.9	1080.4	271.17
Variance	1.112E+06	1.087E+07	1.167E+06	73531
Minimum	1182.0	2083.7	978.40	13.200

Maximum	4361.0	12595	4297.2	859.20
<b>Raza Brangus</b>				
N	10	10	10	10
Mean	1716.0	3546.7	3088.1	442.82
SD	469.01	1099.8	1693.1	391.83
Variance	219974	1.210E+06	2.867E+06	153533
Minimum	1047.0	2363.7	655.80	124.70
Maximum	2375.0	5638.8	5356.9	1095.7
<b>Raza Angus</b>				
N	12	12	12	12
Mean	1873.4	4159.8	3424.9	735.27
SD	1132.0	3540.5	3313.1	772.54
Variance	1.281E+06	1.253E+07	1.097E+07	596814
Minimum	742.00	1557.5	655.80	64.200
Maximum	5075.0	14707	12829	2915.7

<sup>1</sup>Concentración del eyaculado total progresivo rápido, <sup>2</sup>progresivo lento, <sup>3</sup>no progresivo, <sup>4</sup>inmoviles

La concentración de espermatozoides en millones por mililitro no presentó diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) al usar dilutores comerciales (Tabla 8). Una superioridad numérica se observó en la raza Simmental al observar la concentración en espermatozoides clasificados del tipo a y b, pero en el tipo c y d fue superior para la raza Brangus (Tabla 9). Siendo similar al reporte de Kumar *et al.* (2015) quienes reportaron en toros puros y cruzados pertenecientes a la raza Jersey valores de 1171.0 y 1090.5 millones/mL, además, Mejía (2017) reportó resultados diferentes en la motilidad individual progresiva según el método de colecta, vagina artificial (46.3%) y electroeyaculador (51.3%) pos congelación. Asimismo, Cabrera *et al.* (2009) no encontró diferencias de motilidad pos descongelación al comparar semen sin percoll y semen con percoll, con rango de 53.3% hasta 73.3%. Observándose que la raza y el método de colecta son factores que influye en la concentración total de espermatozoides por mililitro. Berg *et al.* (2018) indicaron que no encontraron diferencias para motilidad total y progresiva pos descongelamiento en semen de 16 razas de toros Nuruegos, al usar SpermVital y Biladyl como dilutores. Pero Gangwar *et al.* (2018) si encontraron diferencias en motilidad, viabilidad y función mitocondrial en semen de toros Murrah crioconservados con diluyente TRIS con yema de huevo y TRIS con yema de huevo glicerilado + glutatión reducido 0.5 mM. Respecto a lo anterior, se nota que las diferencias de calidad del semen de toros dependen del tipo de dilutor que se use.

**Tabla 8: Concentración en millones/mL, de acuerdo a la clasificación, con interacción de dilutor (1 Dilutor AndroMed®, 2 dilutor Triladyl®) x raza**

Dilutor	Raza	Tipo a <sup>1</sup>	Tipo b <sup>2</sup>	Tipo c <sup>3</sup>	Tipo d <sup>4</sup>
1	Simmental	18.6 <sup>a</sup>	33.9 <sup>a</sup>	27.4 <sup>a</sup>	4.8 <sup>a</sup>
1	Jersey	21.3 <sup>a</sup>	35.3 <sup>a</sup>	23.0 <sup>a</sup>	4.6 <sup>a</sup>
1	Brangus	15.4 <sup>a</sup>	23.9 <sup>a</sup>	32.4 <sup>a</sup>	10.1 <sup>a</sup>
1	Angus	19.0 <sup>a</sup>	31.3 <sup>a</sup>	32.5 <sup>a</sup>	8.3 <sup>a</sup>
2	Simmental	41.1 <sup>a</sup>	105.9 <sup>a</sup>	31.0 <sup>a</sup>	7.1 <sup>a</sup>
2	Jersey	27.4 <sup>a</sup>	70.1 <sup>a</sup>	27.8 <sup>a</sup>	1.4 <sup>a</sup>
2	Brangus	17.3 <sup>a</sup>	36.8 <sup>a</sup>	31.0 <sup>a</sup>	3.8 <sup>a</sup>
2	Angus	18.2 <sup>a</sup>	62.2 <sup>a</sup>	37.9 <sup>a</sup>	5.4 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Progresivos rápidos, <sup>2</sup>progresivos lentos, <sup>3</sup>no progresivos, <sup>4</sup>inmóviles

**Tabla 9: Concentración en millones/mL en base a la raza**

Clasificación	Simmental	Jersey	Brangus	Angus
Tipo a <sup>1</sup>	29.9 <sup>a</sup>	24.3 <sup>a</sup>	16.4 <sup>a</sup>	18.6 <sup>a</sup>
Tipo b <sup>2</sup>	69.9 <sup>a</sup>	52.7 <sup>a</sup>	30.3 <sup>a</sup>	46.8 <sup>a</sup>
Tipo c <sup>3</sup>	29.2 <sup>a</sup>	25.4 <sup>a</sup>	31.6 <sup>a</sup>	35.2 <sup>a</sup>
Tipo d <sup>4</sup>	5.9 <sup>a</sup>	3.0 <sup>a</sup>	6.9 <sup>a</sup>	6.9 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Progresivos rápidos, <sup>2</sup>progresivos lentos, <sup>3</sup>no progresivos, <sup>4</sup>inmóviles

No se encontró diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) al usar dos tipos de dilutores en la concentración de espermatozoides (Tabla 10). Concordando al reporte de Gallardo y Vargas (2015), quienes no encontraron diferencias en motilidad progresiva al usar AndroMed® y Triladyl® en evaluaciones pos descongelamiento en toros de raza Sahiwal. Sin embargo con respecto a espermatozoides inmóviles Gallardo y Vargas (2015) si encontró diferencias de superioridad para el dilutor Triladyl® respecto a AndroMed®. En el presente estudio, si bien es cierto no se encontró diferencias en concentraciones de millones/mL, pero se observa superioridad en la raza Simmental (29.9) respecto a las otras razas (Tabla 9), asimismo, entre las razas presentaron un rango que va desde un mínimo de 7.4 para la raza Angus y un máximo 159.0 en la raza Simmental con respecto a espermatozoides del “tipo a” o progresivos rápidos (Tabla 11).

**Tabla 10: Concentración en millones/mL en base al dilutor**

Clasificación	AndroMed®	Triladyl®
Tipo a <sup>1</sup>	18.6 <sup>a</sup>	25.9 <sup>a</sup>
Tipo b <sup>2</sup>	31.1 <sup>a</sup>	68.7 <sup>a</sup>
Tipo c <sup>3</sup>	28.8 <sup>a</sup>	31.8 <sup>a</sup>
Tipo d <sup>4</sup>	6.9 <sup>a</sup>	4.4 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Progresivos rápidos, <sup>2</sup>progresivos lentos, <sup>3</sup>no progresivos, <sup>4</sup>inmóviles

**Tabla 11: Estadística descriptiva para concentración de millones/mL de acuerdo de cuatro razas de bovinos**

	<b>MillmLTA<sup>1</sup></b>	<b>MillmLTB<sup>2</sup></b>	<b>MillmLTC<sup>3</sup></b>	<b>MillmLTD<sup>4</sup></b>
<b>Raza Simmental</b>				
N	16	16	16	16
Mean	27.044	60.850	28.744	5.6312
SD	36.090	115.45	18.910	4.5726
Variance	1302.5	13328	357.59	20.909
Minimum	8.0000	5.1000	4.1000	0.4000
Maximum	159.20	483.30	89.300	16.500
<b>Raza Jersey</b>				
N	8	8	8	8
Mean	24.313	52.675	25.350	2.9750
SD	10.541	32.964	10.798	2.7286
Variance	111.11	1086.6	116.59	7.4450
Minimum	11.800	20.800	9.8000	0.1000
Maximum	43.600	125.90	43.000	8.6000
<b>Raza Brangus</b>				
N	10	10	10	10
Mean	17.150	35.470	30.890	4.4300
SD	4.6831	11.005	16.925	3.9251
Variance	21.932	121.10	286.46	15.407
Minimum	10.500	23.600	6.6000	1.2000
Maximum	23.700	56.400	53.600	11.000
<b>Raza Angus</b>				
N	12	12	12	12
Mean	18.733	41.608	34.258	7.3583
SD	11.338	35.414	33.126	7.7447
Variance	128.56	1254.1	1097.3	59.981
Minimum	7.4000	15.600	6.6000	0.6000
Maximum	50.800	147.10	128.30	29.200

<sup>1</sup>millones/mL del tipo a, <sup>2</sup>millones/mL del tipo b, <sup>3</sup>millones/mL del tipo c, <sup>4</sup>millones/mL del tipo c.

No existió diferencias significativas ( $p>0.05$ ) con respecto al porcentaje de la concentración de espermatozoides usando dos tipos de dilutores en semen de cuatro razas de toros (Tabla 12). Sin embargo, se muestra superior no significativo la raza Jersey en espermatozoides del tipo progresivos rápidos y lentos, pero no en progresivos e inmóviles siendo superior la raza Brangus (Tabla 13). En la Tabla 14, se muestra que no existe diferencias al usar dilutor en la concentración de semen, pero si se nota superioridad numérica a favor del AndroMed® para espermatozoides del tipo a. Con respecto al tipo b si se observa diferencias a favor del dilutor Triladyl® con superioridad en promedio de 10% respecto al AndroMed® (Tabla 14). Murphy et al. (2018b) encontraron diferencias en motilidad total y progresiva al usar diluyentes comerciales (BullXcell - a base de yema de huevo, OptiXcell - a base de plantas o AndroMed - a base de plantas).

**Tabla 12: Concentración en %, de acuerdo a la clasificación, con interacción de dilutor (1 Dilutor AndroMed®, 2 dilutor Triladyl®) x raza**

Dilutor	Raza	tipo a <sup>1</sup>	tipo b <sup>2</sup>	tipo c <sup>3</sup>	tipo d <sup>4</sup>
1	Simmental	22.7 <sup>a</sup>	34.4 <sup>a</sup>	35.3 <sup>a</sup>	7.6 <sup>a</sup>
1	Jersey	25.1 <sup>a</sup>	42.5 <sup>a</sup>	26.5 <sup>a</sup>	5.9 <sup>a</sup>
1	Brangus	18.8 <sup>a</sup>	29.2 <sup>a</sup>	39.6 <sup>a</sup>	12.8 <sup>a</sup>
1	Angus	21.9 <sup>a</sup>	40.3 <sup>a</sup>	29.9 <sup>a</sup>	8.4 <sup>a</sup>
2	Simmental	23.3 <sup>a</sup>	43.5 <sup>a</sup>	23.5 <sup>a</sup>	9.7 <sup>a</sup>
2	Jersey	22.3 <sup>a</sup>	53.8 <sup>a</sup>	22.5 <sup>a</sup>	1.4 <sup>a</sup>
2	Brangus	20.4 <sup>a</sup>	43.9 <sup>a</sup>	31.5 <sup>a</sup>	4.3 <sup>a</sup>
2	Angus	16.9 <sup>a</sup>	44.6 <sup>a</sup>	32.5 <sup>a</sup>	6.0 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Progresivos rápidos, <sup>2</sup>progresivos lentos, <sup>3</sup>no progresivos, <sup>4</sup>inmoviles

**Tabla 13: Concentración en porcentaje en base a la raza**

Clasificación	Simmental	Jersey	Brangus	Angus
tipo a <sup>1</sup>	23.0 <sup>a</sup>	23.7 <sup>a</sup>	19.6 <sup>a</sup>	19.4 <sup>a</sup>
tipo b <sup>2</sup>	39.0 <sup>a</sup>	47.2 <sup>a</sup>	36.5 <sup>a</sup>	42.4 <sup>a</sup>
tipo c <sup>3</sup>	29.4 <sup>a</sup>	24.5 <sup>a</sup>	35.5 <sup>a</sup>	30.9 <sup>a</sup>
tipo d <sup>4</sup>	8.6 <sup>a</sup>	3.7 <sup>a</sup>	8.3 <sup>a</sup>	7.2 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Progresivos rápidos, <sup>2</sup>progresivos lentos, <sup>3</sup>no progresivos, <sup>4</sup>inmoviles

**Tabla 14: Concentración en porcentaje en base al dilutor**

Clasificación	AndroMed®	Triladyl®
tipo a <sup>1</sup>	22.1 <sup>a</sup>	20.7 <sup>a</sup>
tipo b <sup>2</sup>	36.6 <sup>b</sup>	46.4 <sup>a</sup>
tipo c <sup>3</sup>	32.7 <sup>a</sup>	27.5 <sup>a</sup>
tipo d <sup>4</sup>	8.6 <sup>a</sup>	5.5 <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Progresivos rápidos, <sup>2</sup>progresivos lentos, <sup>3</sup>no progresivos, <sup>4</sup>inmoviles

La Tabla 15 indica que en todas las razas se presenta mayor porcentaje de espermatozoides del tipo b, respecto a los otros tipos (a, c, d). La raza con menor rango para el tipo a de espermatozoides fue Brangus y la mayor Simmental.

**Tabla 15: Estadística descriptiva para concentración en porcentaje de espermatozoides según raza**

	PorTA <sup>1</sup>	PorTB <sup>2</sup>	PorTC <sup>3</sup>	PorTD <sup>4</sup>
<b>Raza Simmental</b>				
N	16	16	16	16
Mean	22.895	37.836	30.906	8.3606
SD	5.9684	16.386	11.927	8.5202
Minimum	10.000	13.080	6.3600	0.4500
Maximum	35.450	65.310	51.360	29.340
Median	22.560	35.490	35.295	7.1600
1st Quarti	19.905	22.620	20.260	1.3475
3rd Quarti	27.113	51.875	38.627	13.218
<b>Raza Jersey</b>				

N	8	8	8	8
Mean	23.670	48.175	24.503	3.6500
SD	6.1023	10.113	5.5877	3.4708
Minimum	13.690	37.070	13.750	0.0700
Maximum	33.420	64.300	30.430	9.7300
Median	24.095	44.385	25.245	2.4850
1st Quarti	19.155	40.053	21.093	0.8500
3rd Quarti	28.140	59.123	29.515	6.9875
<b>Raza Brangus</b>				
N	10	10	10	10
Mean	20.199	42.419	32.276	5.1060
SD	3.7108	11.992	12.196	4.4982
Minimum	14.180	28.840	14.160	1.4800
Maximum	27.550	60.900	48.590	13.370
Median	19.065	41.310	36.890	2.7200
1st Quarti	17.957	29.322	16.867	1.9425
3rd Quarti	22.580	54.405	39.648	8.9975
<b>Raza Angus</b>				
N	12	12	12	12
Mean	20.221	41.724	30.423	7.6325
SD	5.9047	14.309	10.881	4.7398
Minimum	9.3900	21.310	14.340	0.2800
Maximum	28.250	64.410	48.490	14.260
Median	21.685	41.365	30.490	6.7700
1st Quarti	16.465	29.460	22.012	3.5675
3rd Quarti	24.418	56.308	39.985	12.348

<sup>1</sup>porcentaje de progresivos rápidos, <sup>2</sup>progresivos lentos, <sup>3</sup>no progresivos, <sup>4</sup>inmoviles

## V. CONCLUSIONES

Es importante tener sementales que produzcan mayor número de pajillas para la eficiencia del hato, en las cuatro razas de toros evaluadas presentaron diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) en la cantidad de pajillas producidas, asimismo en cantidad de pajillas proyectadas, volumen total de semen y dilutor y volumen final de dilutor. Los toros de la raza Angus son capaces de producir desde 200 a 350 pajillas, siendo superiores a los Simmental, Jersey y Brangus.

Se encontró diferencias en cuanto a las características del semen fresco respecto a la raza del toro, pero una vez que se conserva usando dilutores como AndroMed® y Triladyl®, no difieren significativamente en las características del semen pos descongelamiento. Por lo que es importante tener en cuenta la crianza en general del semental para que aporte un semen fresco con buenas características y se conserve con cualquier tipo de estos dilutores que se usaron en el presente estudio.

## **VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Aguirre, L., Uchuari, M., Briceño P. 2012. Evaluación fenotípica y seminal con fines de conservación del bovino “encerado” presente en la Región Ato andina del Ecuador. AICA 2:185-189

Amann, R.P. and Pickett, B.W. 1987. Principles of crio preservation and review of cryopreservation of stallion spermatozoa. Equine vet. Sci.7: pp. 145 – 173.

Barth, A.D. 2008. Evaluation of potential breeding soundness of the bull. Current therapy in large animals Theriogenology, 2a ed. Philadelphia. Sanunders.p 222.

Bearden, H. J. (1982). Reproducción animal aplicada. D.F. México. Editorial Manual Moderno: pp. 135 – 181.

Berg, H. F., Kommisrud, E., Bai, G., Gaustad, E. R., Klinkenberg, G., Standerholen, F. B., ... & Alm-Kristiansen, A. H. (2018). Comparison of sperm adenosine triphosphate content, motility and fertility of immobilized and conventionally cryopreserved Norwegian Red bull semen. Theriogenology, 121, 181-187.

Berry, D. P., Eivers, B., Dunne, G., & McParland, S. (2019). Genetics of bull semen characteristics in a multi-breed cattle population. Theriogenology, 123, 202-208.

Brogliatti, G., & Bó, G. (2013). Introducción a la Calidad Seminal. Aulas virtuales. <http://www.fca.proed.unc.edu.ar/mod/book/tool/print/index.php?id=5335&chapterid=893>

Cabrera, V., Yoong, K., & Gamarra, L. (2009). Evaluación de la fertilidad in vitro del semen de toros jóvenes nacionales en ovocitos provenientes de ovarios de animales beneficiados. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 20(1), 28-32.

Carpio, S. 2015. Evaluación de dos diluyentes para la crioconservación de semen bovino: yema de huevo vs leche descremada

Castelo TS, TR Frota, AR Silva. 2008. Considerações sobre a criopreservação do sêmen de caprinos. Acta Vet Bras 2, 67-75

Cisneros Prado, J. L. 2011. Desarrollo de un método para la determinación rápida de la concentración espermática en eyaculados de bovino, ovino y cerdo (Doctoral dissertation)

Cuaran Calva, E. V., Coral, B., & Levi, J. 2014. Evaluación en la criopreservación de semen colectado directamente de epidídimos en bovinos por dos métodos (laundrying-epididymis, slicing-testicles) en el laboratorio de biotecnología en reproducción de la carrera de medicina veterinaria (Bachelor's thesis, LATACUNGA/UTC/2014).

Daw, A. Farrant, J. and Morris, G.J. 1973. Membrane leakage of solutes after thermal shock or freezing. *Cryobiology*, 10: pp. 126 – 133.

Derivaux, J. 1982. Reproducción de los animales domésticos, 2º edición. Zaragoza, España. Editorial Acribia: pp.167 – 193.

Gadea J. 2005. Sperm factors related to in vitro and in vivo porcine fertility. *Theriogenology*. 63: 431-444.

Gallardo Bustillos, J. O., & Vargas Sandoval, C. A. (2015). Evaluación de tres diluyentes para criopreservar semen bovino de toros cruce sahiwal (*Bos taurus*) en el trópico húmedo (Tesis de bachiller, Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, Ecuador), 89 p.

Gangwar, C., Saxena, A., Patel, A., Singh, S. P., Yadav, S., Kumar, R., & Singh, V. (2018). Effect of reduced glutathione supplementation on cryopreservation induced sperm cryoinjuries in Murrah bull semen. *Animal reproduction science*, 192, 171-178.

González RA. 2004. Efecto de la criopreservación usando diferentes técnicas de congelación y crioprotectores sobre parámetros espermáticos y la integridad de la membrana de los espermatozoides bovino. Tesis doctoral, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Sao Paulo, Pirassununga, Brasil.

Khalil, W. A., El-Harairy, M. A., Zeidan, A. E., & Hassan, M. A. (2019). Impact of selenium nano-particles in semen extender on bull sperm quality after cryopreservation. *Theriogenology*, 126, 121-127.



Kumar, U., Gawande, A., Sahatpure, S., Patil, M., K, L. C., Bonde, S. W., Borkar, P. L., Poharkar, A., Ramteke, B. (2015). Assessment of semen quality in pure and crossbred Jersey bulls. *Veterinary World*. 8(10), 1266–1272.

Mazur, P. (1984). Freezing on living cells: mechanisms and umplifications. *Am. J. Physiol.*, 247: pp. 125 – 142.

Mejía, E. J. (2017). Evaluación pre y post congelación del semen obtenido con vagina artificial y electroeyaculador en el ganado criollo (Tesis de maestría, Universidad de Cuenca, Ecuador), 54 p.

Moncayo Picerno, S. A. (2016). Evaluación de la calidad seminal de reproductores bovinos antes y después del proceso de crioprese (Tesis de bachiller, Universidad Politecnica Salesiana sede Quito), 81 p.

Moore AI, EL Squires, JE Bruemmer, JK Graham. 2006. Effect of cooling rate and cryoprotectant on the cryosurvival of equine spermatozoa. *J Equine Vet Sc* 26, 215-218.

Morillo, M., Salazar, S. y Castillo, E. (2012). Evaluación del potencial reproductivo del macho bovino. Maracay, VE, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias. pp. 23-28.

Morillo, M., Salazar, S., & Castillo, E. 2012. Evaluación del potencial reproductivo del macho bovino. *Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas*, 30-44.

Murphy, E. M., Eivers, B., O'Meara, C. M., Lonergan, P., & Fair, S. (2018a). Effect of storage temperature, nitrogen gassing and sperm concentration on the in vitro semen quality and in vivo fertility of liquid bull semen stored in INRA96. *Theriogenology*, 108, 223-228.

Murphy, E. M., O'Meara, C., Eivers, B., Lonergan, P., & Fair, S. (2018b). Comparison of plant-and egg yolk-based semen diluents on in vitro sperm kinematics and in vivo fertility of frozen-thawed bull semen. *Animal reproduction science*, 191, 70-75.

Nuñez Hernández, R., González, P., García, S., Co-Asesor, L., Ramos, V., & Co-Asesor, R. A. 2017. Principales factores que afectan la fertilidad y viabilidad del semen bovino y caprino.

Pacheco A; C.R. Quirino; J.F. Silva; I.C. Cunha y C.H. Bucher. 2007. Efeito da idade e de fazenda sobre as 219 características seminais e perimetro escrotal em touros da raza Guzera criados no norte e noroeste do 220 Rio de Janeiro, Brasil. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*. Vol. 15. Num.4. 165-173 p.

Palacios, A. 1994. Aspectos fisiológicos acerca del congelamiento del semen. *Revista veterinaria México*, (25)3: pp. 207 – 210.

Palma G. 2008. *Biología de la Reproducción*. 2da edición. Ed. Reprobiotec. Mar Del Plata. Argentina. 58,154-158 p.

Rangel P.L.E. 2007. Evaluación de la salud de sementales bovinos. *Reproducción bovina*, FMVZ-UNAM.

Rey, M. R., & Aramburo, L. E. T. 1990. Evaluación de algunas características del eyaculado en toros Holstein. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 43(1 y 2), 3-27.

Ribeiro-Peres, A., Munita-Barbosa, L., Yumi-Kanazawa, M., Mello-Martins, M. I., & Ferreira de Souza, F. 2014. Criopreservación de espermatozoides bovinos extraídos de la cola del epidídimo utilizando los métodos convencional y automatizado. *Archivos de medicina veterinaria*, 46(1), 31-38.

Rodriguez-Martinez H. 2005. Methods for semen evaluation and their relationship to fertility. *Resúmenes del Congresso Brasileiro de Reprodução Animal*, Goiânia, Brasil.

Rosato, A., & Angelino, M. A. (Eds.). 2009. *Discapacidad e ideología de la normalidad*. Noveduc Libros.

Salisbury, G. W.; Vandermak, N.L.; Lodge, R. J. 1982. *Fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los bovinos*. Zaragoza, Esp. Ed. Acribia: pp. 419 – 517.

Sánchez García, L., M. Fernández Rodríguez y M. Vallejo Vicente. 1993. Formación de un banco de germoplasma (semen y embriones congelados) en el programa de

preservación de las razas bovinas morenas gallegas., Archivos de Zootecnia. Vol. 41 Núm. 154 (extra).

Sorensen, M.A. 1984. Reproducción Animal. Ed. McGraw – Hill: pp. 117 - 192.

Vallecillo A; Miro M. y Camacho E. 2010. Caracterización seminal: una herramienta útil en la conservación de la raza Negra Andaluza. Memorias XI Simposio Iberoamericano sobre conservación y utilización de recursos zoogenéticos. Joao Pessoa, Brasil. 440-442 p.

Vasconcelos-Filho WF. 2010. Eficiencia de la congelación automatizada en la viabilidad de semen bovino. 2010. Tesis máster, Instituto de Zootecnia, Universidad Federal Rural de Rio de Janeiro, Seropédica, Brasil.

Veloz Veloz, D. M. (2017). Evaluación de la calidad espermática de reproductores bovinos mediante el uso de sistemas de evaluación seminal convencional y sistema CASA (análisis seminal asistido por computadora) y su respuesta con la fertilidad por inseminación artificial (Tesis de maestro, Universidad de Cuenca). 75 p.

Vera Muñoz, O. (2008). Evaluación seminal comparativa pre y postcongelación en machos bovinos. Reproducción bovina. 251-262

# ANEXOS

## Anexo 1. Completely Randomized AOV for Salto

Source	DF	SS	MS	F	P
Raza	3	2.0507	0.68357	1.27	0.2981
Error	42	22.6667	0.53968		
Total	45	24.7174			

## Anexo 2. Completely Randomized AOV for VolSemCol

Source	DF	SS	MS	F	P
Raza	3	46.589	15.5295	5.80	0.0021
Error	42	112.439	2.6771		
Total	45	159.027			

## Anexo 3. Completely Randomized AOV for VolSemDil

Source	DF	SS	MS	F	P
Raza	3	5906.5	1968.84	15.2	0.0000
Error	42	5431.2	129.31		
Total	45	11337.7			

## Anexo 4. Completely Randomized AOV for NumEspe

Source	DF	SS	MS	F	P
Raza	3	94505	31501.5	15.2	0.0000
Error	42	86899	2069.0		
Total	45	181404			

## Anexo 5. Completely Randomized AOV for PajProy

Source	DF	SS	MS	F	P
Raza	3	23626.1	7875.38	15.2	0.0000
Error	42	21724.8	517.26		
Total	45	45351.0			

## Anexo 6. Completely Randomized AOV for VolToSemD

Source	DF	SS	MS	F	P
Raza	3	186.355	62.1182	5.80	0.0021
Error	42	449.754	10.7084		
Total	45	636.109			

**Anexo 7. Completely Randomized AOV for VolFinDil**

Source	DF	SS	MS	F	P
Raza	3	20433.6	6811.21	13.1	0.0000
Error	42	21895.7	521.33		
Total	45	42329.3			

**Anexo 8. Completely Randomized AOV for PajProd**

Source	DF	SS	MS	F	P
Raza	3	86324	28774.8	13.9	0.0000
Error	42	87100	2073.8		
Total	45	173424			

**Anexo 9. Analysis of Variance Table for EyactTA**

Source	DF	SS	MS	F	P
Dilutor	1	3915259	3915259	0.75	0.3931
Raza	3	1.032E+07	3442763	0.66	0.5842
Dilutor*Raza	3	9812818	3270939	0.62	0.6043
Error	38	1.994E+08	5247919		
Total	45				

**Anexo 10. Analysis of Variance Table for EyactTB**

Source	DF	SS	MS	F	P
Dilutor	1	1.005E+08	1.005E+08	1.93	0.1728
Raza	3	6.246E+07	2.082E+07	0.40	0.7539
Dilutor*Raza	3	4.379E+07	1.459E+07	0.28	0.8392
Error	38	1.979E+09	5.207E+07		
Total	45				

**Anexo 11. Analysis of Variance Table for EyactTC**

Source	DF	SS	MS	F	P
Dilutor	1	645731	645731	0.12	0.7323
Raza	3	4712193	1570731	0.29	0.8332
Dilutor*Raza	3	364278	121426	0.02	0.9954
Error	38	2.067E+08	5438281		
Total	45				

**Anexo 12. Analysis of Variance Table for EyactTD**

Source	DF	SS	MS	F	P
Dilutor	1	449496	449496	1.61	0.2123
Raza	3	797215	265738	0.95	0.4256
Dilutor*Raza	3	853078	284359	1.02	0.3954
Error	38	1.061E+07	279348		
Total	45				

**Anexo 13. Analysis of Variance Table for MillmLTA**

Source	DF	SS	MS	F	P
Dilutor	1	391.1	391.103	0.74	0.3936
Raza	3	1034.2	344.727	0.66	0.5839
Dilutor*Raza	3	981.9	327.298	0.62	0.6044
Error	38	19955.9	525.156		
Total	45				

**Anexo 14. Analysis of Variance Table for MillmLTB**

Source	DF	SS	MS	F	P
Dilutor	1	10060	10060.1	1.93	0.1726
Raza	3	6247	2082.4	0.40	0.7538
Dilutor*Raza	3	4381	1460.3	0.28	0.8391
Error	38	197857	5206.8		
Total	45				

**Anexo 15. Analysis of Variance Table for MillmLTC**

Source	DF	SS	MS	F	P
Dilutor	1	64.9	64.916	0.12	0.7316
Raza	3	471.7	157.242	0.29	0.8328
Dilutor*Raza	3	35.9	11.959	0.02	0.9955
Error	38	20654.4	543.536		
Total	45				

**Anexo 16. Analysis of Variance Table for MillmLTD**

Source	DF	SS	MS	F	P
Dilutor	1	44.63	44.6267	1.59	0.2149
Raza	3	80.44	26.8126	0.96	0.4235
Dilutor*Raza	3	85.27	28.4230	1.01	0.3975
Error	38	1065.96	28.0517		
Total	45				

**Anexo 17. Analysis of Variance Table for PortA**

Source	DF	SS	MS	F	P
Dilutor	1	14.02	14.0223	0.44	0.5121
Raza	3	128.35	42.7840	1.34	0.2769
Dilutor*Raza	3	61.28	20.4260	0.64	0.5952
Error	38	1216.55	32.0145		
Total	45				

**Anexo 18. Analysis of Variance Table for PortB**

Source	DF	SS	MS	F	P
Dilutor	1	686.02	686.015	3.48	0.0697
Raza	3	548.48	182.828	0.93	0.4364
Dilutor*Raza	3	97.91	32.637	0.17	0.9188
Error	38	7483.74	196.941		
Total	45				

**Anexo 19. Analysis of Variance Table for PortC**

Source	DF	SS	MS	F	P
Dilutor	1	192.36	192.356	1.68	0.2028
Raza	3	352.62	117.541	1.03	0.3918
Dilutor*Raza	3	358.58	119.525	1.04	0.3844
Error	38	4352.46	114.538		
Total	45				

**Anexo 20. Analysis of Variance Table for PorTD**

<b>Source</b>	<b>DF</b>	<b>SS</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Dilutor	1	73.60	73.5977	1.90	0.1761
Raza	3	135.63	45.2110	1.17	0.3349
Dilutor*Raza	3	107.07	35.6905	0.92	0.4397
Error	38	1471.82	38.7320		
Total	45				