

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRIGUEZ DE MENDOZA DE
AMAZONAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA ZOOTECNISTA, AGRONEGOCIOS Y
BIOTECNOLOGIA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA ZOOTECNISTA**



**“EFECTO DEL USO DE DOS DILUTORES (AGUA DE
COCO Y LECHE DESCREMADA) PARA LA VIABILIDAD
ESPERMÁTICA EN SEMEN FRESCO DE BOVINOS”**

TESIS

**Para obtener el Título Profesional de:
INGENIERO ZOOTECNISTA**

AUTOR: Bach. MILTON JAILER TRIGOSO YALTA

ASESOR: M.V. NILTON LUIS MURGA VALDERRAMA

CO-ASESOR: Blg. JENIN VICTOR CORTES POLANCO

CHACHAPOYAS – AMAZONAS – PERÚ 2017

DEDICATORIA

A Dios

A ti Dios por darme la oportunidad de llegar hasta aquí y por guiar mi camino, por haber estado siempre conmigo y haberme ayudado a superar los momentos difíciles de mi vida.

A mis padres y hermanos:

A mi Madre Gloria Esperanza Yalta Tenorio y hermanos por haber estado siempre conmigo, por su amor, comprensión y apoyo incondicional,

A mis hijos y esposa

Mark Anthony, Bryan Llampier y Merly por su compañía, su cariño, amor y por ser mi motor y mi mayor inspiración para seguir adelante.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

Ph.D JORGE LUIS MAICELO QUINTANA

RECTOR

Dr. OSCAR ANDRÉS GAMARRA TORRES

VICERECTOR ACADEMICO

Dra. MARÍA NELLY LUJÁN ESPINOZA

VICERECTORA DE INVESTIGACIÓN

Ing. HÉCTOR VLADIMIR VÁSQUEZ PÉREZ

DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA ZOOTECNISTA, AGRONEGOCIOS
Y BIOTECNOLOGÍA

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS

Yo M.V. NILTON LUIS MURGA VALDERRAMA, investigador y docente a tiempo completo de la carrera profesional de Ingeniería Zootecnista, hace constar que he asesorado el proyecto de tesis titulado “EFECTO DEL USO DE DOS DILUTORES (AGUA DE COCO Y LECHE DESCREMADA) PARA LA VIABILIDAD ESPERMÁTICA EN SEMEN FRESCO DE BOVINOS”, presentado por el Bach. MILTON JAILER TRIGOSO YALTA, egresado de la Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología de la UNTRM dando el visto bueno a la presente tesis.

Se expide la presente, a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

M.V. NILTON LUIS MURGA VALDERRAMA

Asesor

JURADO DE TESIS

Ing. NELSON OSWALDO PAJARES QUEVEDO

PRESIDENTE

Msc. JOE CHARLY MANTILLA OLIVA

SECRETARIO

Ing. CESAR AUGUSTO MARAVI CARMEN

VOCAL

INDICE GENERAL

| | |
|---------------------------------------|------|
| Caratula..... | i |
| Dedicatoria..... | ii |
| Autoridades..... | iii |
| Visto bueno del asesor..... | iv |
| Jurados de tesis..... | v |
| Resumen..... | vii |
| Abstract..... | viii |
| Introducción..... | 1 |
| Objetivos..... | 3 |
| Marco Teórico..... | 4 |
| Antecedentes de la investigación..... | 6 |
| Materiales y Métodos..... | 8 |
| Diseño de la investigación..... | 10 |
| Población, muestra y muestreo..... | 11 |
| Métodos..... | 11 |
| Técnicas e instrumentos..... | 12 |
| Metodología experimental..... | 12 |
| Análisis de datos..... | 14 |
| Resultados..... | 16 |
| Discusión de resultados..... | 31 |
| Conclusiones..... | 33 |
| Recomendaciones..... | 35 |
| Referencias bibliográficas..... | 36 |
| Anexos..... | 39 |

RESUMEN

La presente investigación titulado “efecto del uso de dos dilutores (agua de coco y leche descremada) para la viabilidad espermática en semen fresco de bovinos”, tuvo como objetivo principal evaluar el efecto de dos dilutores (leche descremada y agua de coco), en la viabilidad espermática (% motilidad, vigor, % vivos, % muertos) en semen fresco de bovinos. El estudio fue de tipo experimental con un diseño en bloque completo al azar DBCA con sub muestreo, de 3 repeticiones, evaluados en 10 semanas de 3 días en cada semana, ya que se evaluaron factores dilutores de agua de coco y leche descremada en la viabilidad espermática según (% motilidad, vigor, % vivos, % muertos) de semen fresco de bovinos para un toro de raza Angus rojo. Los resultados evidenciaron que el uso de dilutores (agua de coco y leche descremada) tuvo un efecto significativo estadísticamente ($p < 0.05$) en la viabilidad espermática del semen fresco de bovinos, lo cual se evidencio diferencia significativa con el testigo. Se concluyó que existe diferencia en los dilutores de agua de coco y leche descremada y que con el agua de coco se obtuvieron mejores resultados que con la leche descremada y el Andromed (testigo) en la viabilidad espermática del semen, lo que evidencio un efecto significativo de los dilutores de agua de coco y leche descremada en la viabilidad espermática (% motilidad, vigor, % vivos, % muertos) en semen fresco de ganado bovino de reproductores de la UNTRM.

Palabras clave: Dilutores, agua de coco, leche descremada, viabilidad espermática

ABSTRACT

The present research entitled "effect of the use of two diluents (coconut water and skim milk) for sperm viability in fresh bovine semen", had as main objective to evaluate the effect of two diluents (skim milk and coconut water), in sperm viability (% motility, vigor, % live, % dead) in fresh bovine semen. The study was of an experimental type with a randomized complete block design DBCA with sub-sampling, of 3 replicates, evaluated in 10 weeks of 3 days in each week, since coconut water and skim milk factors were evaluated in the viability sperm according to (% motility, vigor, % live, % dead) of fresh bovine semen for a red Angus bull. The results evidenced that the use of diluents (coconut water and skim milk) had a statistically significant effect ($p < 0.05$) on the sperm viability of fresh bovine semen, which showed a significant difference with the control. It was concluded that there is a difference in coconut water and fat milk diluents and that with coconut water better results were obtained than with skim milk and Andromed in the sperm viability of the semen, which showed a significant effect of coconut water diluents and skim milk in sperm viability (% motility, vigor, % live, % dead) in fresh semen of cattle breeders from UNTRM.

Key words: Dilution, coconut water, skim milk, sperm viability

I. INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial es una biotecnología reproductiva con mucha demanda por ganaderos de la región Amazonas, sin embargo la refrigeración de semen fresco sin uso de dilutores tiene bajas tasas de conservación, motivo por el que se busca una fuente fácil y barata como la leche descremada comercial y el agua de coco fresco que puede dar condiciones adecuadas que permitan mantener una viabilidad espermática alta por más tiempo. (Restrepo, G. 2008)

Es por ello que la manera más sencilla y aplicable que han encontrado en la actualidad es la criopreservación, sin embargo este método tiene como desventaja la alta tasa de mortalidad espermática y si se pudiera prolongar la vida espermática sería una gran alternativa para los pequeños productores de mejorar su genética con bajos costos. (Córdova, A. et al, 2015)

Un problema frecuente en el uso de semen en las técnicas reproductivas es el bajo volumen de eyaculado de algunos reproductores, lo que es contrarrestado con el uso de dilutores. En programas de inseminación artificial de tiempo fijo (IATF) se podría usar semen refrigerado que por fisiología debe presentar mejores tasas de concepción por su mayor motilidad y viabilidad, evitando el uso del nitrógeno líquido que muchas veces complica el suministro y/o transporte para la aplicación de la inseminación artificial. (Cueto, M. 2016)

Problema

¿Cuál fue el efecto de dos dilutores (agua de coco y leche descremada) para la viabilidad espermática en semen fresco de bovinos?

Justificación

Es de gran importancia justificar a través de nuevas investigaciones evaluar el efecto de dilutores a base de ingredientes de origen animal y vegetal, ya que ahora con la investigación se logra nuevos conocimientos y descubrimientos para propuestas de mejora y como acontecimientos importantes y descubrimientos para el mundo y la inseminación en semen fresco de bovinos, ya que existen pocas investigaciones y con uso de dilutores, ya que hoy en la actualidad existe a nivel mundial un gran interés por mejorar el volumen del eyaculado y aumentar la supervivencia de los espermatozoides para un uso eficiente en las diversas técnicas de mejoramiento genético. (Autor, 2017).

Los diluyentes (leche descremada, agua de coco, yema de huevo y diluyentes comerciales) son sustancias conocidas por sus diversos beneficios que proporcionan a los espermatozoides un medio adecuado para su supervivencia y mantenimiento de su poder fecundativo. Anteriormente los medios que se utilizaban para diluir el semen eran soluciones salinas o azúcares que conservaban el semen pero siempre existía un alto nivel de mortalidad y baja motilidad espermática, lo que requiere de nuevas investigaciones buscando dilutores con mejor eficiencia y de bajo costo como son la leche descremada comercial y el agua de coco fresco. (Cordova, A. 2010).

Actualmente existen en el mercado varios diluyentes comerciales, sin embargo su costo es muy elevado para que pequeños productores puedan adquirirlo con facilidad, lo que pone como primera opción los dilutores de origen animal y vegetal. Es por ello en la actualidad el buscar nuevos conocimientos o nuevas tecnologías para evaluar el efecto de uso de dilutores en la viabilidad espermática de ganado bovino ha revolucionado los estudios y la zootecnia animal e nuestro mundo real para beneficio.

II. OBJETIVOS

2.1.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de dos dilutores (leche descremada y agua de coco), en la viabilidad espermática (% motilidad, Vigor, % vivos, % muertos) en semen fresco de bovinos.

Objetivos específicos

- Evaluar características microscópicas en concentración, motilidad masal antes de la dilución del semen fresco con leche descremada comercial y agua de coco fresco antes de la refrigeración (5°C por 72h).
- Evaluar características microscópicas en el % motilidad, vigor, % vivos y % muertos después de la dilución del semen fresco con leche descremada comercial y agua de coco fresco antes de la refrigeración (5°C por 72h).
- Evaluar características macroscópicas en color, volumen del semen fresco antes de la dilución de dilutores (agua de coco y leche descremada).
- Determinar el grado de relación entre los dilutores y la viabilidad espermática de semen fresco de bovinos.

III. MARCO TEORICO

a. El semen

Suspensión celular líquida que contiene los gametos masculinos (espermatozoides) y las secreciones de los órganos accesorios sexuales del aparato reproductor masculino, y se mezclan en el momento de la eyaculación. (Cruz, 2009).

El semen está formado por dos constituyentes: plasma seminal y espermatozoides: Plasma seminal: Es una mezcla de líquidos secretados por las glándulas vesiculares, conductos deferentes y otras glándulas sexuales accesorias. Tiene tres funciones principales:

- Actúa como vehículo para los espermatozoides, transportándolos desde el sistema reproductor del macho durante la eyaculación.
- Sirve de activador a los espermatozoides, previamente no móviles.
- Proporciona un medio rico en nutrientes, tamponado que colabora en la supervivencia de los espermatozoides después de depositar estos en el aparato genital de la hembra. (Peña y otros, 2008).

b. **Espermatozoide:** Gameto masculino que se forma en los túbulos seminíferos de los testículos. Son células alargadas consistentes con cabeza aplanada portadora de núcleo y una cola que es el aparato necesario para la motilidad celular. (Cruz, 2009).

Los espermatozoides maduros son células alargadas consistentes de una cabeza aplanada portadora del núcleo y una cola que contiene el aparato necesario para la movilidad celular. La célula espermática está cubierta en su totalidad por la membrana plasmática. El extremo anterior del núcleo espermático está cubierto por el acrosoma, un delgado saco membranoso de doble capa estrechamente adherido al núcleo durante las últimas etapas de la formación de espermatozoide en el testículo. Esta estructura en forma de casquete, contiene varias enzimas hidrolíticas incluyendo procrastina, hialuronidasa, esterases y ácido hidrolasa, que participan en el proceso de fecundación. Un cuello une la cabeza del espermatozoide con la cola, la cual se subdivide en los segmentos medio, principal y caudal. (Muñoz, 2011).

c. Colección de semen bovino

El proceso de colección de semen se puede realizar mediante dos métodos como son la vagina artificial y el electro eyaculador. Las condiciones de trabajo para coleccionar semen de

bovino, el estado de salud del animal y la experiencia del personal especializado que opera, son factores que deben tomarse en cuenta para mejorar la calidad del semen. (Muñoz, 2006).

d. Diluyentes

Es una 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. (Carballo, 2009). Características de los diluyentes:

- Deben ser isotónico al semen (tener la misma concentración de iones libres).
- Capacidad amortiguadora (evitar cambios de ph el 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 de estar protegidos contra daño durante la congelación y descongelación.
- Debe preservar la vida de los espermatozoides con un mínimo de efecto sobre la fertilidad (Carballo, 2009)

Componentes de los diluyentes:

- Azúcares: son componentes importantes en los diluyentes, ya que pueden actuar como fuente de energía para los espermatozoides durante su almacenamiento, como es el caso de la glucosa y la fructosa.
- Sustancias buffer o amortiguadores: actúan dando estabilidad a la membrana, ya que mantienen la tonicidad total del diluyente, lo cual es importante cuando el semen es almacenado por largos periodos de tiempo.
- Sustancias orgánicas: son las que previenen el choque por enfriamiento (Fernández, 2013).

e. Leche fresca descremada marca Laive

Es un producto fabricado a partir de la reducción del contenido de grasa de la leche entera, ya sea de forma total o parcial a través de un proceso físico de separación que depende de la diferencia de densidades entre los glóbulos de grasa y la fase acuosa en la que están dispersos. Dicha separación puede hacerse por sedimentación, con centrífugas o bombas centrípetas (Lewis, 1994; Walstra, 1999).

f. Agua de coco

El coco (*Cocos nucifera* L.) comúnmente conocido como coco verde, es una especie de palmeras perteneciente a la familia Cocosidea, madura a los 6 meses de edad y a partir de este momento presenta en su contenido agua, compuesta de soluciones ácidas y estériles, como aminoácidos, azúcares, sales, proteínas, vitaminas y minerales. En la fase de maduración inicial, el agua de coco presenta una osmolaridad entorno de 500 miliosmoles y un pH de 4.5 (Palacios, 2005). La fruta o nuez, es de forma ovoide o elíptica, con tres lados no bien definidos o casi redonda, con una cascara fibrosa de color pardo claro, de 20 a 30 cms de largo. Las frutas crecen hasta casi su tamaño máximo en 5 a 6 meses y se madura a los 10 o 13 meses de edad (Parrotta, 1993). El momento indicado para que el agua de coco sea funcional es cuando no está tierno ni tampoco maduro a su totalidad aproximadamente a los 6 o 7 meses posterior a su formación total. La baja cantidad de fosfolipasa “A” que presenta el agua de coco, la hacen una excelente opción para el congelamiento de semen (Palacios, 2005).

Antecedentes de la investigación

La inseminación artificial (IA) con semen fresco ha sido utilizada con gran éxito en ovinos (O'Hara et al., 2010), porcinos y camellos (Morton et al., 2011), sin embargo en bovinos existen muchos dilutores o diluyentes y se están haciendo estudios o probando diferentes diluyentes que pueda mantener buenos niveles de viabilidad espermática (color, olor, pH, volumen, motilidad masal, motilidad individual, y espermatozoides vivos y muertos) por un tiempo considerable.

Muchos dilutores para semen han sido utilizados en programas de inseminación artificial en muchas especies domésticas; en un ensayo con semen de alpacas se utilizó como dilutor la leche descremada dando como resultado un 68% de espermatozoides vivos luego de dos horas de reposo (Bravo, 2002).

La leche descremada fue usada anteriormente como dilutor en la criopreservación ya que una de sus características importantes es que protege del shock por frío a los espermatozoides manteniendo su fertilidad, debido a la caseína presente en la leche y en muchos estudios se

utilizó como diluyente para el mejoramiento de la viabilidad espermática del semen de bovino lo que podría favorecer su uso en la conservación de semen fresco en un clima frío y por más tiempo. Castillo, M. (2005),

Evans y Maxwell (1990) manifestaron que el empleo de leche de vaca descremada como dilutor de semen, no siempre dio buenos resultados uniformes por la variabilidad en su composición. El agua de coco fue considerado un dilutor beneficioso en la viabilidad espermática (motilidad masal, vigor, % vivos, % muertos) con un grado de relación $R=0.89$ alta entre el diluyente de agua de coco y la viabilidad espermática, lo cual se concluyó que dio buenos resultados e influyó significativamente ($p<0.05$) en la viabilidad espermática del semen con bajo costo y preparación (Gutiérrez y Nunes et al, 2006).

IV. MATERIAL Y METODOS

Cuadro N° 01. Materiales

| 1.9.2.1. Material e insumos | | | |
|-------------------------------------|--------------------------------|---------------|-----------------|
| Nombre | Especificación técnica | Unidad | Cantidad |
| Vagina artificial completa | Especie: bovino | Unidad | 01 |
| Paquete de pajuelas (1000 unidades) | De 0.5 cc. para envasar semen | Unidad | 01 |
| Tubos falcon de 50 ml | Paquete x 25 unidades | Paquete | 04 |
| Tubos falcon de 15 ml. | Paquete x 50 unidades | Paquete | 02 |
| Láminas porta objetos | 50 unidades por caja | Caja | 01 |
| Láminas cubre objetos | 100 unidades por caja | Caja | 01 |
| Pipetas pasteur | De 20 ml paquete x 50 unidades | Paquete | 01 |
| Micropipeta volumen 10 ul | Rango de volumen 2-10 ul | Unidad | 01 |
| Micropipeta volumen 200 ul | Rango de volumen 20-200 ul | Unidad | 01 |
| Micropipeta volumen 1000 ul | Rango de volumen 200-1000 ul | Unidad | 01 |
| Puntas para micropipetas | Volumen 10 ul bolsa x 1000 | Bolsa | 01 |
| Puntas para micropipetas | Volumen 200 ul bolsa x 1000 | Bolsa | 01 |
| Puntas para micropipetas | Volumen 200 ul bolsa x 1000 | Bolsa | 01 |
| Jeringas de 50ml | Caja x 60 unidad | Caja | 04 |
| Tijera | De acero | Unidad | 02 |
| Termómetro | Tipo reloj | Unidad | 01 |
| Frascos de vidrio | Volumen 250 ml. | Unidad | 05 |
| Papel toalla | Paquete x 03 unidades | Paquete | 01 |
| Guantes de latex | Caja de 50 unidades | Caja | 02 |
| Diluyente Andromed | Frasco x 250 ml | Unidad | 04 |
| Paquete de jabón neutro | Caja x 06 unidades | Caja | 01 |
| Toro | Aberdeen Angus | Unidad | 01 |

Fuente: elaboración propia

Cuadro N° 02. Equipos.

| 1.9.2.2. Equipos | | | |
|--|---|---------------|-----------------|
| Nombre | Especificación Técnica | Unidad | Cantidad |
| Equipo automatizado de llenado y sellado de pajillas | Con capacidad de 2 pajillas por minuto | Unidad | 01 |
| Rotulador de pajillas | Modelo manual | Unidad | 01 |
| Baño maría | De 5 litros | Unidad | 01 |
| Microscopio con sistema analizador con CASA®. | Determinación de concentración y motilidad | Unidad | 01 |
| Placa térmica de mesa | Rango 10- 65 °C | Unidad | 01 |
| Estabilizador | Mantener estable la Corriente. | Unidad | 01 |
| Transformador | Permite aumentar o disminuir la tensión en un circuito eléctrico de corriente alterna, manteniendo la potencia. | Unidad | 01 |
| Termocupla | Permite medir la temperatura dentro de recipientes cerrados. | Unidad | 01 |
| Cámara fotográfica digital | De 14 mega pixels | Unidad | 01 |
| Computadora portátil | Procesador Intel Core I3, 3Gb RAM. | Unidad | 02 |
| Impresora | Alta resolución hasta 15 ppm | Unidad | 01 |

Fuente: Elaboración propia

Cuadro N° 04: Materiales de oficina.

| 1.9.2.4. Materiales de oficina: | | | |
|--|-------------------------------|---------------|-----------------|
| Nombre | Especificación Técnica | Unidad | Cantidad |
| Calculadora | Científica CASIO fx-991 ES | Unidad | 01 |
| Cuaderno de campo | A4 de 100 hojas | Unidad | 02 |
| Lapiceros | Color azul, negro, rojo | Unidad | 03 |
| Lapiceros | Tinta indeleble | Unidad | 03 |
| Calculadora | Científica CASIO fx-991 ES | Unidad | 01 |

Fuente: Elaboración propia

5.1. Diseño de investigación

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizó el método científico como método general de investigación y como métodos auxiliares recurriré al método experimental. Se utilizó un diseño completo al azar con su muestreo (DCA), evaluados en 3 días diferentes. Hernández sampieri, (2013)-pág. 185

Modelo aditivo lineal de un DCA con sub-muestreo.

$$Y_{ijk}=U+T_i+ e_{ij} +n_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} : variable respuesta (viabilidad espermática de semen fresco de bovinos).

U: efecto de la media poblacional de la viabilidad espermática de semen.

T_j : efecto del iésimo dilutor

e_{ij} : Error experimental del efecto de los dilutores y los días evaluados

n_{ik} : efecto de los días evaluados

Distribución del DCA según: tratamientos, sub-muestras

| Dia | Submuestras | T2 | T1 | To |
|-----|-------------|--------------|------------------|--------------------|
| | | Agua de coco | leche descremada | andromed (testigo) |
| 1 | 1 | | | |
| | 2 | | | |
| | ... | | | |
| | 10 | | | |
| 2 | 1 | | | |
| | 2 | | | |
| | ... | | | |
| | 10 | | | |
| 3 | 1 | | | |
| | 2 | | | |
| | ... | | | |
| | 10 | | | |

Fuente: Elaboración propia, según diseño de investigación, 2017

Donde:

j: tratamientos= 2 dilutores + testigo. Agua de coco, leche descremada y testigo (andromed)

k: sub muestras= 3 repeticiones o días evaluados

Y_{ijk} : Viabilidad espermática del semen fresco de bovinos (% motilidad, vigor, % vivos, % muertos).

5.2. Población, muestra y muestreo.

a) Población: La población estuvo conformada por un reproductor macho del núcleo genético de ganado bovino de la UNTRM de la raza Aberdeen Angus (UNTRM heritage blue cub greco per. 01).

b) Muestra: Estuvo constituida por 10 colectas de semen en los 2 dilutores + testigo de un toro donante para el análisis microscópico que se estuvieron diluidos 1 en 1 y luego 1 en 50 en tubos falco de 50 ml, evaluados en 10 semanas de estudio y por 3 días de evaluación para las variables de estudio. (Autor, 2017).

c) Muestreo: El muestreo utilizado fue de tipo probabilístico al azar, ya que estuvo conformado y tomados aleatoriamente espermatozoides los cuales estuvieron distribuidos en 3 dilutores (Leche descremada comercial y agua de coco fresco, andromed), que se utilizaron para medir el grado de influencia significativamente en la viabilidad espermática de semen fresco de bovino. (Autor, 2017).

5.3. Métodos, técnicas, instrumentos y procedimiento

a) Métodos: Se utilizó el método inductivo, lo cual consistió en tomar muestras, es decir de lo particular a lo general y valorar el efecto de dos dilutores (agua de coco y leche descremada) en la variables respuesta con refrigeración de semen bovino de la raza Angus rojo, lo cual se pudo generalizar los resultados, así mismo se utilizó el método analítico, el cual sirvió para analizar el efecto que tuvieron los dilutores (agua de coco y leche descremada) en la viabilidad espermática del semen fresco de bovino. Cokran, A. (2008)

b) Técnicas e instrumentos

La técnica que se utilizó fue la observación y su instrumento la ficha técnica de laboratorio, lo cual sirvió para recolectar la información muestreada en laboratorio que consistió en tomar la colecta de semen fresco semanalmente y en repeticiones por 3 días semanales haciendo uso de una vagina artificial, marca mini tuve, es decir en un tubo de caucho con una funda látex en el cual se introdujo agua a 55°C y nos propagó una temperatura en la vagina de 37°C y luego se colocó el receptor del semen un tubo falco de 14 ml. Y protegimos el receptor de semen con protector de tela oscura para evitar que le dé la luz se procedió a lubricar el interior de la vagina artificial para la eyaculación de las muestras de semen fresco de bovino. (Autor, 2017).

5.4. Metodología Experimental:

a) Identificación del toro donante: El reproductor donante de semen se seleccionó bajo los parámetros de selección corporal, evaluación de libido, órganos sexuales accesorios, prepucio, pene, escroto, testículos, epidídimo. (Autor, 2017).

b) Colecta de las muestras: Para la colecta de semen se utilizó una vagina artificial. Las muestras se colectaron de 10 eyaculados del semental las cuales se realizarán 1 vez por semana, las muestras serán extraídas por un mismo operario. (Autor, 2017).

c) Análisis macroscópico del semen: Una vez recolectado el semen, se evaluó las características físicas del semen como: color normal volumen. El volumen se determinó observando el tubo colector en ml y el color se analizó directamente en el tubo colector. (Autor, 2017).

d) Análisis microscópico de semen: Se tomó la muestra en una pipeta de 0.5 microlitros para colocar la muestra a la porta objeto, el cual la porta objeto se mantuvo a una temperatura de 37°C. Lo cual se procedió a evaluar el efecto diluido con los dilutores (agua de coco y leche descremada) en la viabilidad espermática del semen fresco de bovino. (Autor, 2017).

e) Dilución del semen: Cada muestra de semen colectado serán diluidas con leche descremada y con agua de coco, en una relación 1:1 es decir por cada ml de semen un ml de diluyente. En esta investigación como se utilizará dos diluyentes, y para que las muestras

estén en las mismas condiciones se dividirá el eyaculado en dos partes iguales. (Universidad Nacional Agraria la Molina, 2010.)

f) Dilución final de la muestra: Una vez recolectado las muestras de estudio, se diluyo el semen fresco con los dilutores (agua de coco y leche descremada), luego pasado 10 min de pre dilución, se realizó la dilución final de muestras, en una relación 1:10 en pre dilución y 1:50 en la dilución final. (Camacho, J. 2010).

g) Refrigeración de las muestras: Una vez hecha la dilución final, se refrigeró las muestras a (-5°C) por 72h y posteriormente se realizó las evaluaciones microscópicas cada 18 h. (Arana, I. 2008).

h) Análisis de la muestra: Después de haber dejado reposar por 18 horas las muestras, se realizó el análisis microscópico de motilidad individual y espermatozoides vivos y muertos. Para la determinación de la motilidad individual, se tomó una gota de la muestra y se colocó sobre un portaobjeto, además se colocó un cubreobjetos y se llevó al microscopio, se observó y se determinó el porcentaje de motilidad de acuerdo al avance que tuvo los espermatozoides y en qué dirección lo hicieron. (Autor, 2017). Para la determinación de espermatozoides vivos y muertos se realizó una coloración del semen: luego de contó unos 100 espermatozoides y se fue anotando. Para la investigación se utilizó la tinción eosina nigrosina, la cual consistió en tomar una gota de la muestra de semen y se colocó en un porta objetos, luego se colocó una gota de eosina y otra de Nigrosina y se realiza un frotis, luego se observó al microscopio, y el resultado fue que estuvieron vivos, lo cual no se colorearon, en cambio los muertos se descolonizaron. (Autor, 2017).

2.1.2. **Análisis de datos:** Para determinar la influencia de los factores en la viabilidad espermática del semen fresco de bovino, se utilizaron las siguientes pruebas estadísticas:

- **Análisis de varianza de un diseño en bloque completo al azar con sub-muestreo:** Se aplicó un diseño completo al azar con sub-muestreo (DCA), lo cual esta prueba estadística permitió evaluar la diferencia significativa en los promedios del uso de fuentes de variación: semanas, días, dilutores (agua de coco, leche descremada y testigo) y así probar la influencia significativa estadísticamente de estos factores de estudio en las variables motilidad, vigor, % vivos, % muertos.
- **Prueba de comparaciones múltiples de Tukey:** Prueba estadística el cual permitió evaluar y comparar si existen grupos homogéneos entre promedios de las variables motilidad, vigor, % vivos, % muertos según factores influencia de factores: semanas, días, dilutores (testigo, agua de coco y leche descremada).
- **Estadísticos descriptivos:** Valores o indicadores que evaluaron el comportamiento como fueron: promedio, mínimo, máximo, rango, desviación estándar, variación % respecto al promedio, error estándar, intervalos de confianza al 95%, percentiles (25, 50, 75). Todos estos indicadores permitieron evaluar las variables de estudio como son: la motilidad, vigor, % vivos, % muertos según factores: semanas, días y dilutores (testigo, agua de coco y leche descremada).
- **Gráficos estadísticos:** Se utilizó gráficos de barras verticales, gráficos de Boxplot como representación del comportamiento de las variables de estudio según sus indicadores estadísticos y evaluar las variables: motilidad, vigor, % vivos, % muertos según factores de influencia: semanas, días y dilutores (testigo, agua de coco y leche descremada).
- **Cálculo de Probabilidades e hipótesis estadísticas:** método estadístico el cual fija una probabilidad en las hipótesis de influencia de los factores días, semanas y dilutores (testigo, agua de coco y leche descremada) para las variables: : motilidad, vigor, % vivos, % muertos según una probabilidad del 95% de confianza y una significancia del 5%.

- **Prueba de hipótesis para diferencia de medias o proporciones de la viabilidad espermática:** Esta prueba permitió, evaluar si existe diferencia significativa en las mediciones promedio de la viabilidad espermática según factores de estudio, como: semanas, días, dilutor. Se probó mediante pruebas de hipótesis estadísticas según el siguiente detalle o procedimiento:
 - a) **Planteamiento de Hipótesis estadística:**
Hipótesis nula: Ho: $U_1=U_2=U_3, \dots =U_{i, j, k}$
Hipótesis alterna: Ha: $U_1 \neq U_2 \neq U_3, \dots \neq U_{i, j, k}$
 - b) **Significancia: $\alpha = 5\%$**
 - c) **Estadístico de prueba:** Anova, pruebas de tukey, gráficos de medias
 - d) **valor tabular:** tabla estadística según una probabilidad y nivel de confianza
 - e) **Región crítica:** Comparación de aceptación o rechazo de la hipótesis.
 - f) **Decisión de la hipótesis**
 - g) **conclusión de la prueba de hipótesis:** existe o no influencia o diferencia.

V. RESULTADOS

Una vez recopilado la información estadística según las variables de estudio en la muestra de estudio, se procedió a tabular y procesar la información para el análisis estadístico respectivo, lo cual se evaluaron el % de motilidad, Vigor, % de vivos y % de muertos según semanas, días, dilutor para la viabilidad espermática en semen fresco de bovinos. Los resultados fueron los siguientes según variables:

Tabla 01: Análisis de varianza para la influencia de los días y dilutores en la variable Motilidad del semen fresco de ganado bovino.

| Fuente de variación | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | F calculado | F tabular | P significancia | Decisión |
|---------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------------|-----------|-----------------|------------|
| Día | 1752.267 | 2 | 876.13 | 10.704 | 3.104 | .000 | influye ** |
| Dilutor | 2254.467 | 2 | 1127.23 | 13.772 | 3.104 | .000 | influye ** |
| Error | 6957.367 | 85 | 81.85 | - | - | | |
| Total | 10964.100 | 89 | - | - | - | - | - |

Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

** Influye altamente significativa y diferentes de los dilutores en la Motilidad de la viabilidad espermática

Tabla 02: Comparaciones Múltiples de Tukey de grupos Homogéneos para las fuentes de variación días y dilutores en la Motilidad del semen fresco de ganado vacuno.

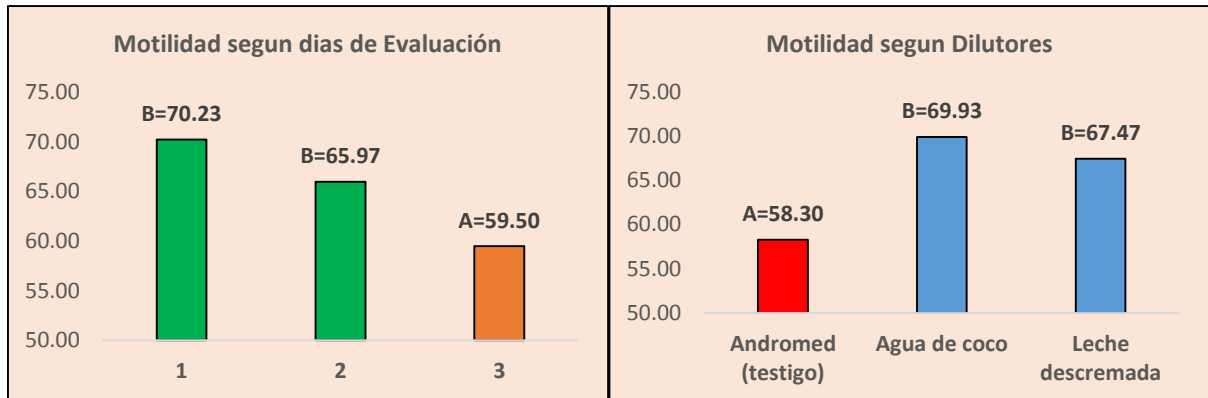
| Día de evaluación | N | Grupos Homogéneos | |
|-------------------|----|-------------------|-------|
| | | 1 | 2 |
| 3 | 30 | A | - |
| 2 | 30 | - | B |
| 1 | 30 | - | B |
| Significancia P | 90 | 1.000 | 0.167 |

| TIPO DE DILUTOR | N | Grupos Homogéneos | |
|--------------------|----|-------------------|-------|
| | | 1 | 2 |
| Andromed (testigo) | 30 | A | - |
| Agua de coco | 30 | - | B |
| Leche descremada | 30 | - | B |
| Significancia | 90 | 1.000 | 0.544 |

Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

En los días evaluados en los días 1 y 2 no hubo diferencia significativa con un mismo grupo homogéneo, mientras que en el día 3 si hubo diferencia en la motilidad de semen fresco, así mismo para evaluar los dilutores influyeron altamente significativa y hubo diferencia significativa en la motilidad del semen, sin embargo en el testigo fue diferente que el agua de coco y la leche descremada.

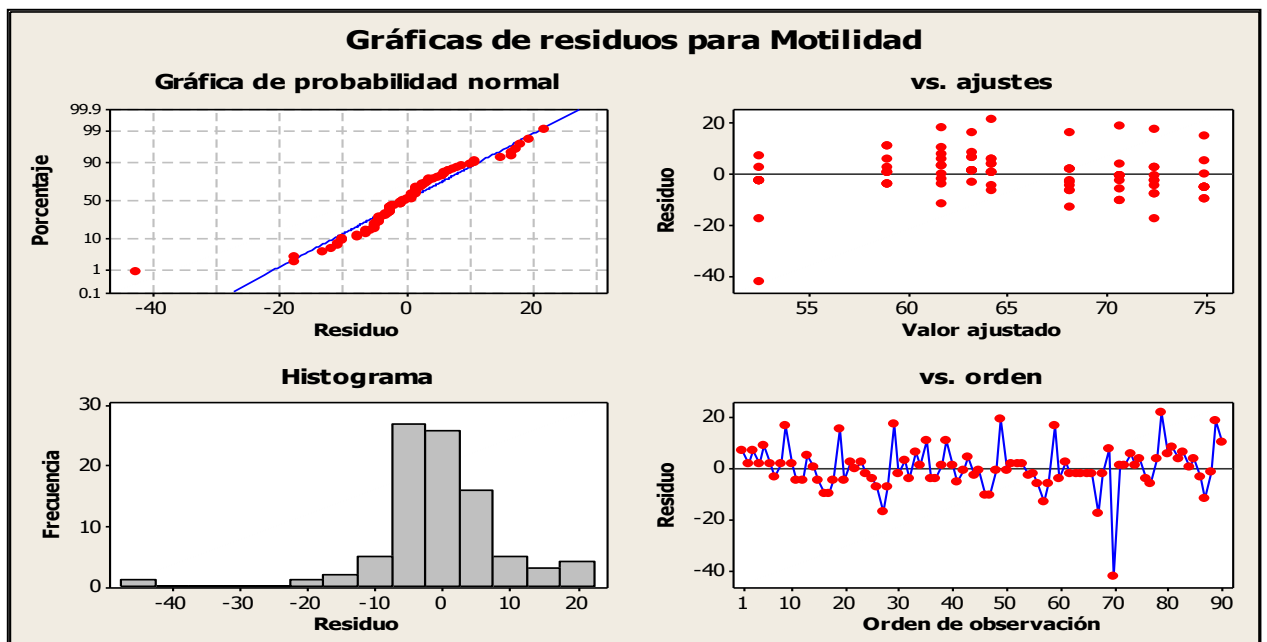
Figura 01: Distribución de Grupos homogéneos de la prueba de Tukey para la Motilidad del semen fresco de ganado vacuno según días de evaluación y dilutores



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

En los días de evaluación se obtuvo una motilidad promedio de 70.23 en el día 1, día 2 65.97 y tercer día 59.50 de motilidad, lo que quiere decir que hubo diferencia significativa, así mismo con el testigo se obtuvo menor motilidad promedio de 58.30, con agua de coco 69.93 y leche descremada 67.47 de motilidad en promedio.

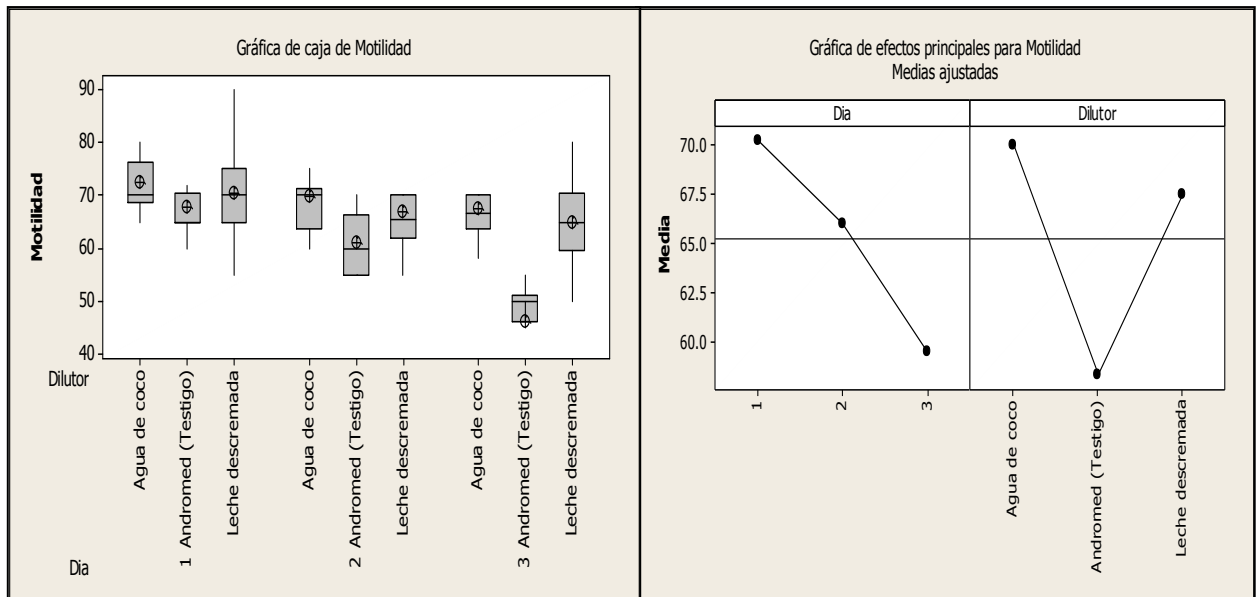
Figura 02: Graficas de residuos para evaluar la normalidad de los datos de la Motilidad del semen fresco de ganado vacuno.



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

En la figura 02, se evaluó que los datos evaluados en la motilidad tienen una distribución normal según los residuos evaluados y los ajustes para y en los datos no hay variabilidad para evaluar la motilidad del semen.

Figura 03: Graficas de cajas y de efectos principales para la Motilidad del semen fresco de ganado bovino según los días y los dilutores.



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

Interpretación: En la figura 02, podemos observar la normalidad de los datos mediante la graficas de los errores y la probabilidad normal para la motilidad del semen fresco de bovino, así mismo en la figura 03, evaluamos la gráfica de cajas para evaluar los promedios de la motilidad según días y dilutores, así como el efecto de las fuentes de variación días y dilutores en la motilidad, lo cual se evidencio que si existe diferencia significativamente grafica descriptivamente y según el análisis de varianza los días y dilutores ($p < 0.05$) influyeron significativamente, mientras que la prueba de tukey de la tabla 02 y figura 01, mostraron que para los días 1 y 2 difirieron significativamente del día 3 y en los dilutores el andromed (testigo) difirió significativamente del agua de coco y leche descremada en la motilidad del semen fresco de ganado vacuno, así también vemos que con el agua de coco se obtuvieron mayor motilidad del semen fresco en comparación de la leche descremada y del andromed (testigo).

Se concluye que hubo diferencia en los días en los tres días evaluados y con el agua de coco se obtuvo mejores motilidades, así mismo en el día 1 se obtuvieron mejores motilidad del semen. Lo cual se evidencia diferencia altamente significativa en los días y en los tipos de dilutores.

Tabla 02: Análisis de varianza para la influencia de los días y dilutores en la variable vigor del semen fresco de ganado bovino.

| Fuente de variación | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | F calculado | F tabular | P significancia | Decisión |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------|------------------|------------------------|-----------------|
| Día | 24.267 | 2 | 12.13 | 32.706 | 3.104 | .000 | influye ** |
| Dilutor | 7.800 | 2 | 3.90 | 10.513 | 3.104 | .000 | influye ** |
| Error | 31.533 | 85 | 0.37 | - | - | - | - |
| Total | 63.600 | 89 | - | - | - | - | - |

Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

** Influye altamente en el vigor / Influye en el Vigor

Tabla 04: Comparaciones Múltiples de Tukey de grupos Homogéneos para las fuentes de variación días y dilutores en el vigor del semen fresco de ganado vacuno.

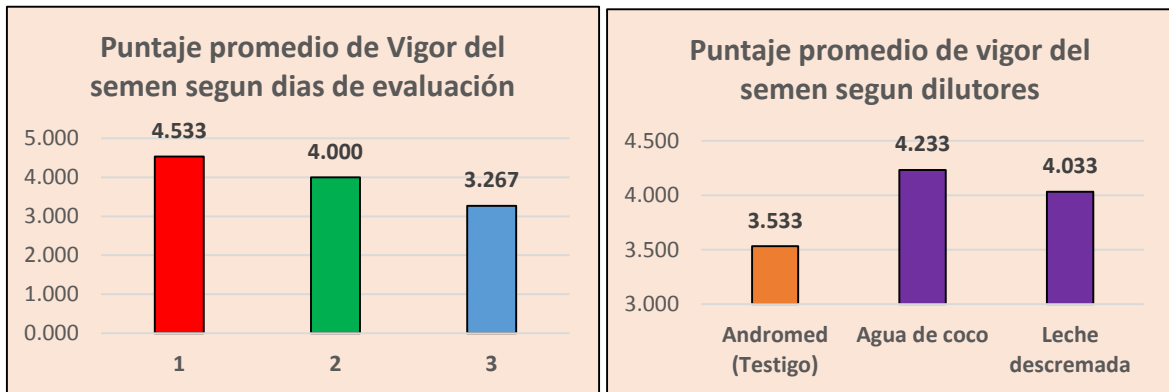
| DIA DE EVALUACION | N | Grupos homogéneos | | |
|--------------------------|----------|--------------------------|----------|----------|
| | | 1 | 2 | 3 |
| 3 | 30 | A | - | - |
| 2 | 30 | - | B | - |
| 1 | 30 | - | - | C |
| Significancia P | 90 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |

| TIPO DE DILUTOR | N | Grupos homogéneos | |
|------------------------|----------|--------------------------|----------|
| | | 1 | 2 |
| Andromed (Testigo) | 30 | A | - |
| Leche descremada | 30 | - | B |
| Agua de coco | 30 | - | B |
| Significancia P | 90 | 1.000 | 0.415 |

Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

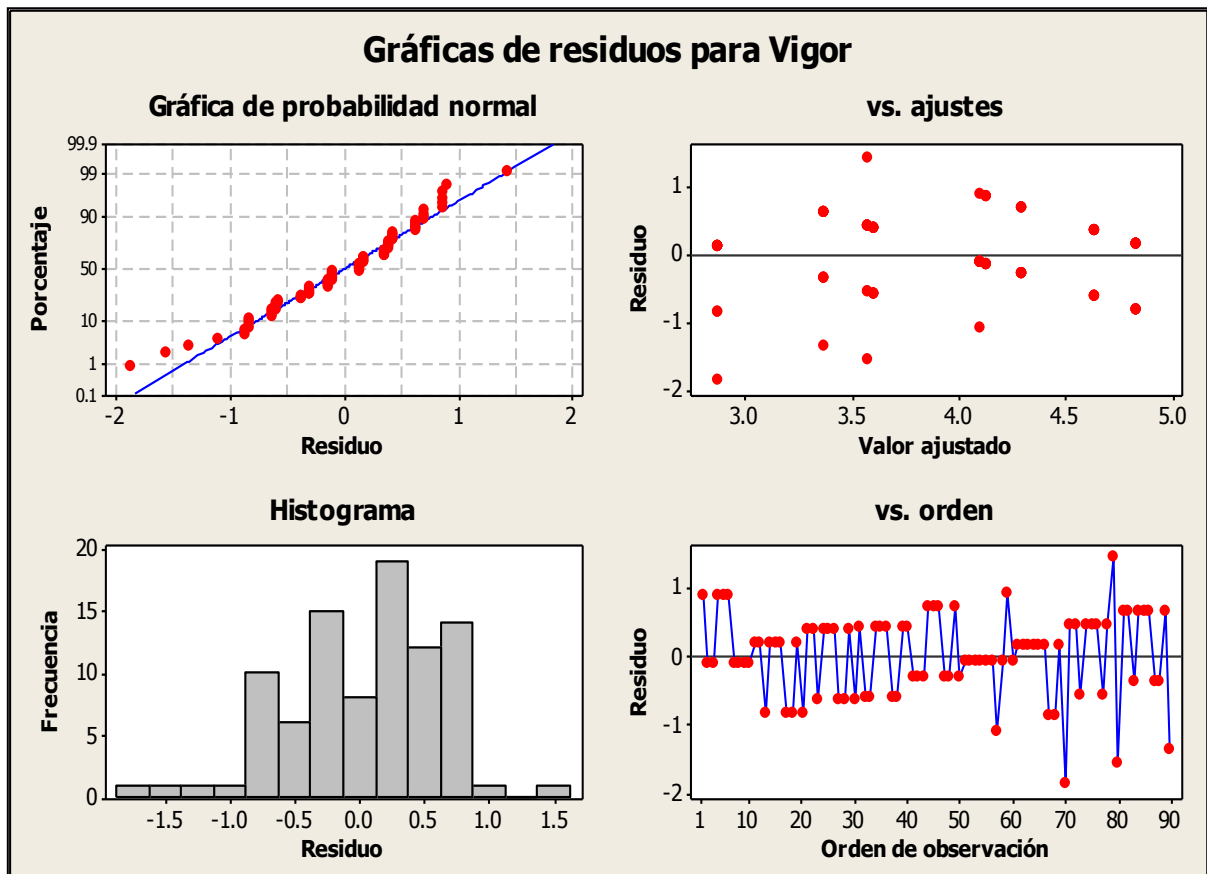
En los días evaluados en los días 1, 2 y 3 hubo diferencia significativa en la motilidad de semen fresco, así mismo para evaluar los dilutores influyeron altamente significativa y hubo diferencia significativa en la motilidad del semen, sin embargo en el testigo fue diferente que el agua de coco y la leche descremada.

Figura 04: Distribución de Grupos homogéneos de la prueba de Tukey para la variable vigor del semen fresco de ganado vacuno según días de evaluación y dilutores



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

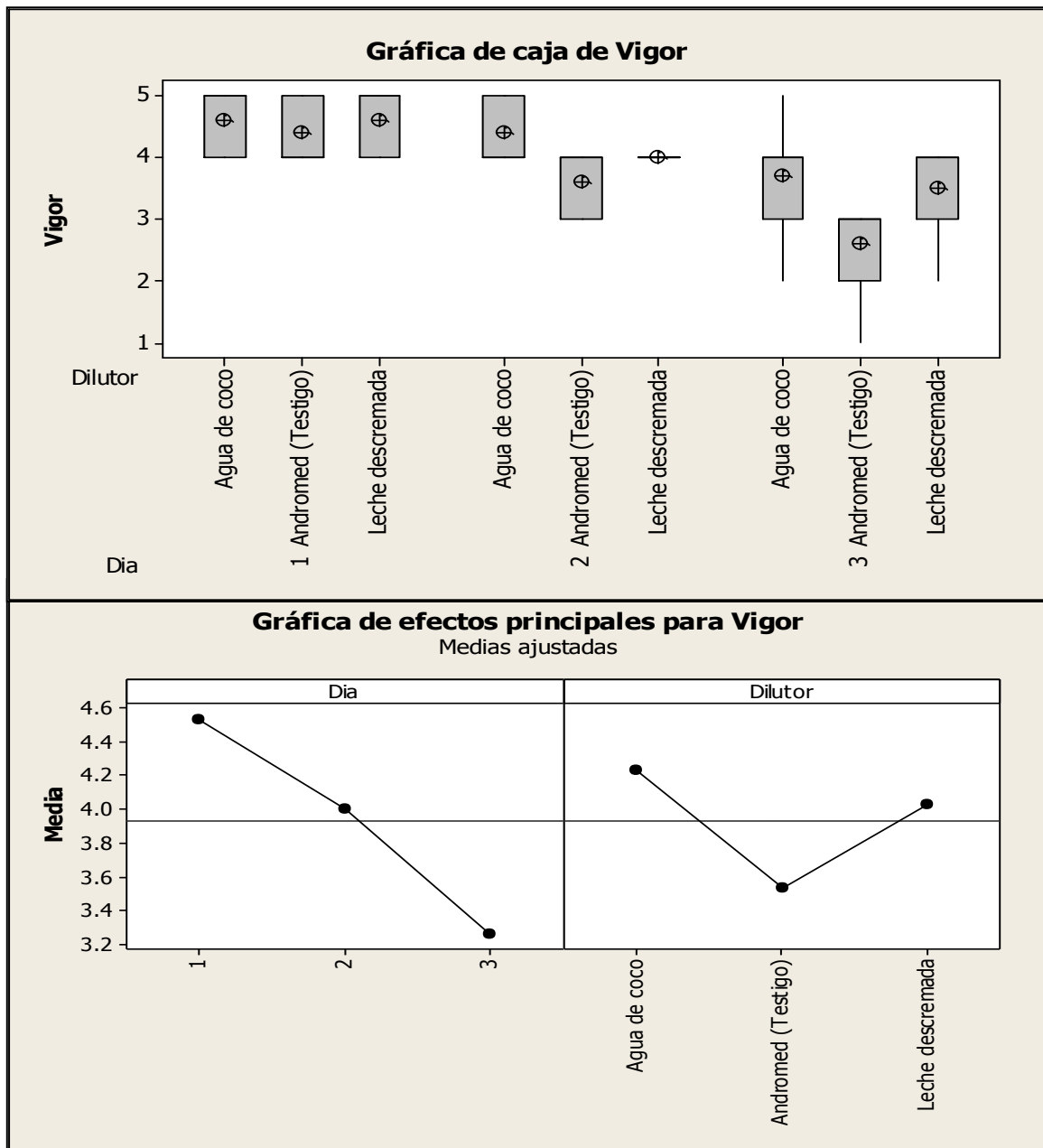
Figura 05: Graficas de residuos para evaluar la normalidad de los datos del vigor del semen fresco de ganado vacuno.



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

En la figura 03, se evaluó que los datos evaluados en la motilidad tienen una distribución normal según los residuos evaluados y los ajustes para y en los datos no hay variabilidad para evaluar la motilidad del semen.

Figura 06: Graficas de cajas y de efectos principales para la Motilidad del semen fresco de ganado bovino según los días y los dilutores.



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Minitab, 2017

Interpretación: En la figura 05, podemos observar la normalidad de los datos mediante la graficas de los errores y la probabilidad normal para el puntaje de vigor del semen fresco de bovino, así mismo en la figura 06, evaluamos la gráfica de cajas para evaluar los promedios del vigor según días y dilutores, así como el efecto de las fuentes de variación días y dilutores en el vigor, lo cual se evidencio que si existe diferencia significativamente grafica descriptivamente y según el análisis de varianza los días y dilutores ($p < 0.05$) influyeron significativamente, mientras que la prueba de tukey de la tabla 04 y figura 04, mostraron que para los días 1 con 2 y 3 difirieron significativamente y en los dilutores el andromed (testigo) difirió significativamente del agua de coco y leche descremada en el vigor del semen fresco de ganado vacuno, así también vemos que con el agua de coco se obtuvieron mayor vigor seguido del andromed y de la leche descremada del semen fresco de ganado vacuno.

Concluye que hubo diferencia en el vigor del semen fresco según los días, así mismo en los dilutores se obtuvo mejor vigor con el agua de coco seguido de la leche descremada y por último el testigo andromed.

Tabla 05: Análisis de varianza para la influencia de los días y dilutores en la variable % vivos del semen fresco de ganado bovino.

| Fuente de variación | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | F calculado | F tabular | P significancia | Decisión |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------|------------------|------------------------|-----------------|
| Día | 856.067 | 2 | 428.03 | 7.583 | 3.104 | .001 | influye ** |
| Dilutor | 831.667 | 2 | 415.83 | 7.367 | 3.104 | .001 | influye ** |
| Error | 4797.867 | 85 | 56.45 | - | - | | |
| Total | 6485.600 | 89 | - | - | - | - | - |

Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

** los dilutores y días Influyen altamente significativo en el % vivos

Tabla 06: Comparaciones Múltiples de Tukey de grupos Homogéneos del % vivos del semen fresco de ganado bovino según las fuentes de variación días y dilutores.

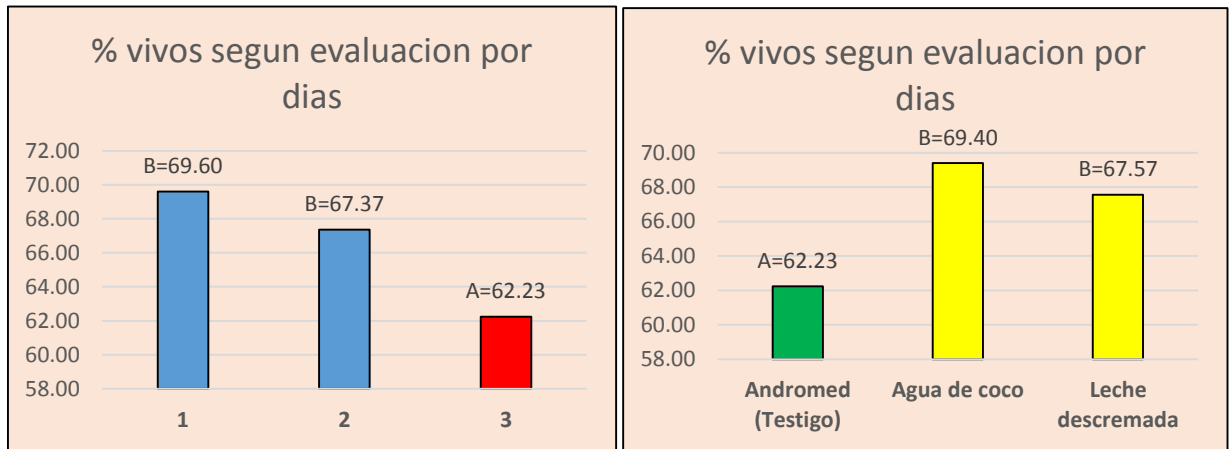
| DIA DE EVALUACION | N | Grupo homogéneo | |
|--------------------------|----------|------------------------|----------|
| | | 1 | 2 |
| 3 | 30 | A | - |
| 2 | 30 | - | B |
| 1 | 30 | - | B |
| Significancia | | 1.000 | 0.486 |

| TIPO DE DILUTOR | N | Grupo homogéneo | |
|------------------------|----------|------------------------|----------|
| | | 1 | 2 |
| Andromed (Testigo) | 30 | A | - |
| Leche descremada | 30 | - | B |
| Agua de coco | 30 | - | B |
| Significancia | 90 | 1.000 | 0.613 |

Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

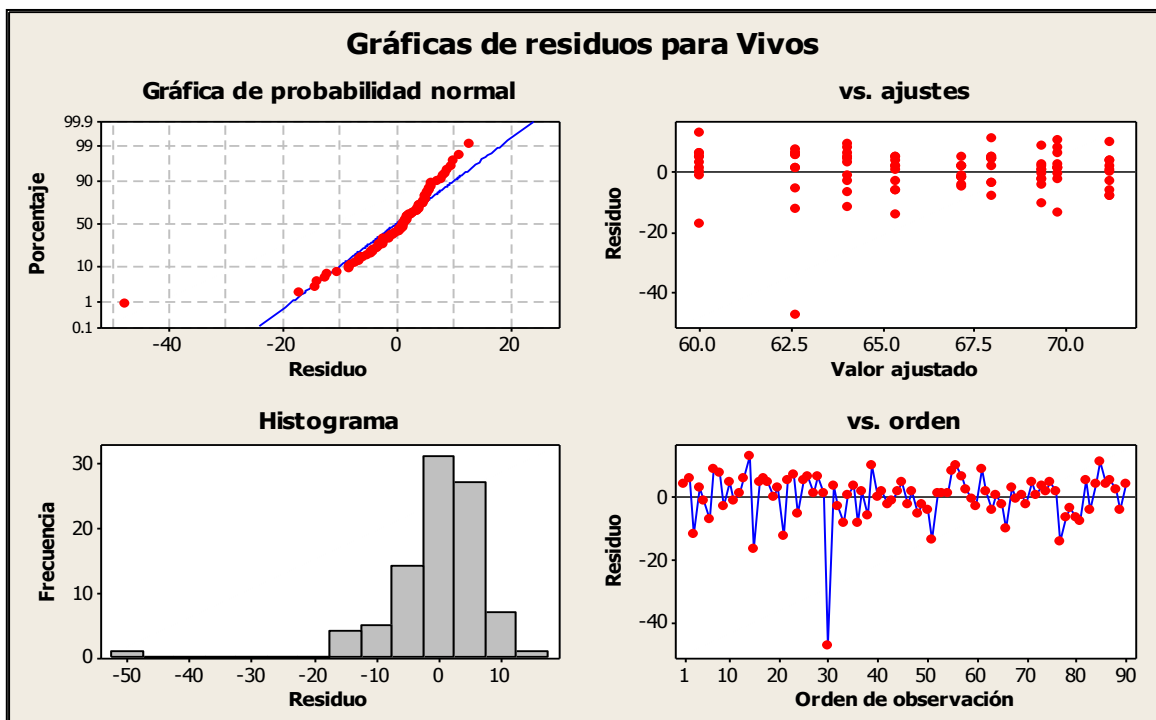
Hubo diferencia significativa en los días 1,2 con el dia 3, asi mismo con los dilutores hubo diferencia del andromed con los dilutores leche descremada y agua de coco.

Figura 07: Distribución de Grupos homogéneos de la prueba de Tukey para la variable % vivos del semen fresco de ganado vacuno según días de evaluación y dilutores.



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

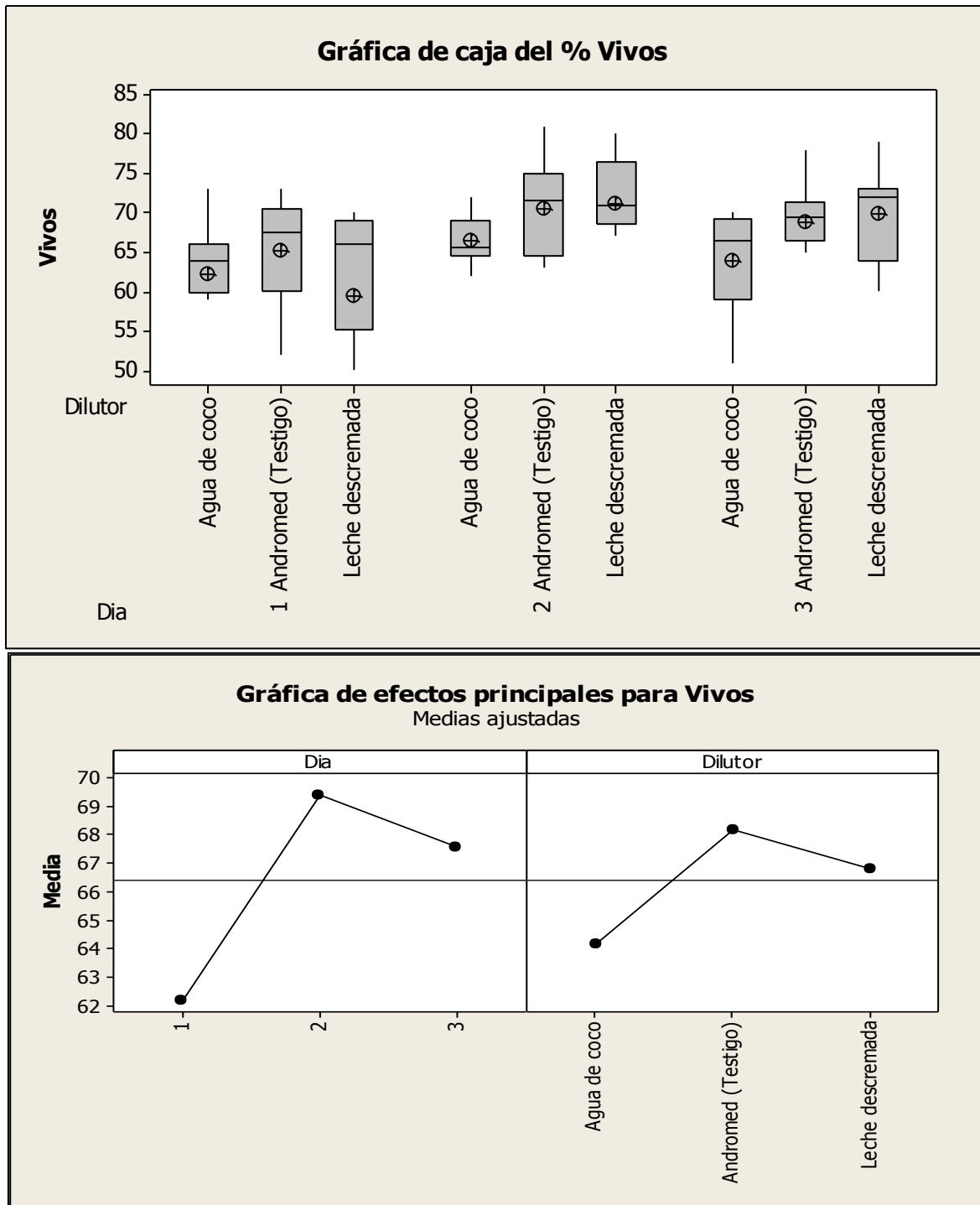
Figura 08: Graficas de residuos para evaluar la normalidad de los datos del % vivos del semen fresco de ganado vacuno.



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Minitab, 2017

En la figura 03, se evaluó que los datos evaluados en la motilidad tienen una distribución normal según los residuos evaluados y los ajustes para y en los datos no hay variabilidad para evaluar la motilidad del semen.

Figura 09: Graficas de cajas y de efectos principales para el % vivos del semen fresco de ganado bovino según los días y los dilutores.



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Minitab, 2017

Interpretación: En la figura 08, podemos observar la normalidad de los datos mediante la graficas de los errores y la probabilidad normal para el % vivos del semen fresco de bovino, así mismo en la figura 09, evaluamos la gráfica de cajas para evaluar los promedios del % vivos según días y dilutores, así como el efecto de las fuentes de variación días y dilutores en el % vivos, lo cual se

evidencio que si existe diferencia significativamente grafica descriptivamente y según el análisis de varianza los días y dilutores ($p < 0.05$) influyeron significativamente, mientras que la prueba de tukey de la tabla 06 y figura 07, mostraron que para los días 3 con 1 y 2 difirieron significativamente y en los dilutores el andromed (testigo) difirió significativamente del agua de coco y leche descremada en el % vivos del semen fresco de ganado vacuno, así también vemos que con el agua de coco se obtuvieron mayor vigor seguido del andromed y de la leche descremada del semen fresco de ganado bovino.

Tabla 07: Análisis de varianza para la influencia de los días y dilutores en la variable % muertos del semen fresco de ganado bovino.

| Fuente de variación | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrados medios | F calculado | F tabular | P significancia | Decisión |
|---------------------|-------------------|--------------------|------------------|-------------|-----------|-----------------|------------|
| Día | 856.067 | 2 | 428.03 | 7.583 | 3.104 | .001 | influye ** |
| Dilutor | 831.667 | 2 | 415.83 | 7.367 | 3.104 | .001 | influye ** |
| Error | 4797.867 | 85 | 56.45 | - | - | | |
| Total | 6485.600 | 89 | - | - | - | - | - |

Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

** los dilutores Influye altamente significativo en el % muertos

Tabla 08: Comparaciones Múltiples de Tukey de grupos Homogéneos del % muertos del semen fresco de ganado bovino según las fuentes de variación días y dilutores.

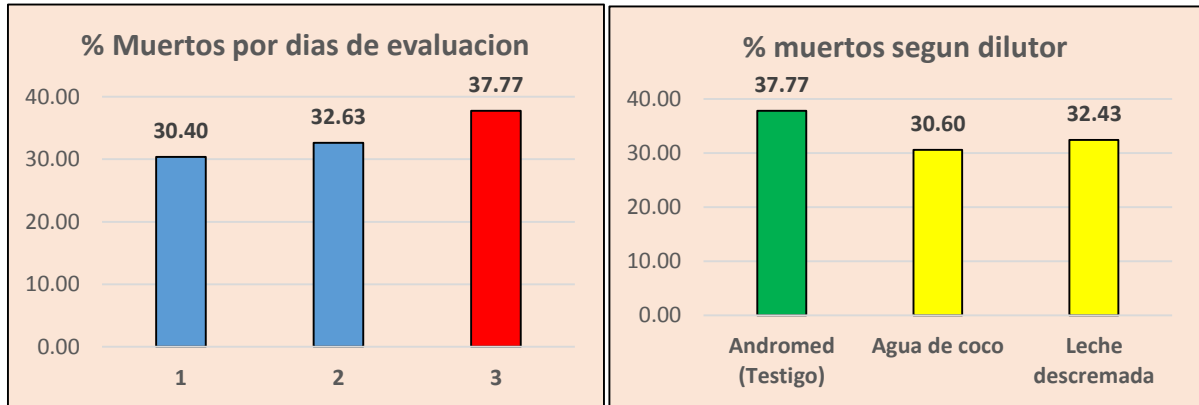
| DIA DE EVALUACIÓN | N | Grupos Homogéneos | |
|----------------------|-----------|-------------------|--------------|
| | | 1 | 2 |
| 1 | 30 | A | - |
| 2 | 30 | A | - |
| 3 | 30 | - | B |
| Significancia | 90 | 0.486 | 1.000 |

| TIPO DE DILUTOR | N | Grupo Homogéneo | |
|----------------------|-----------|-----------------|--------------|
| | | 1 | 2 |
| Agua de coco | 30 | A | - |
| Leche descremada | 30 | A | - |
| Andromed (Testigo) | 30 | - | B |
| Significancia | 90 | 0.613 | 1.000 |

Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

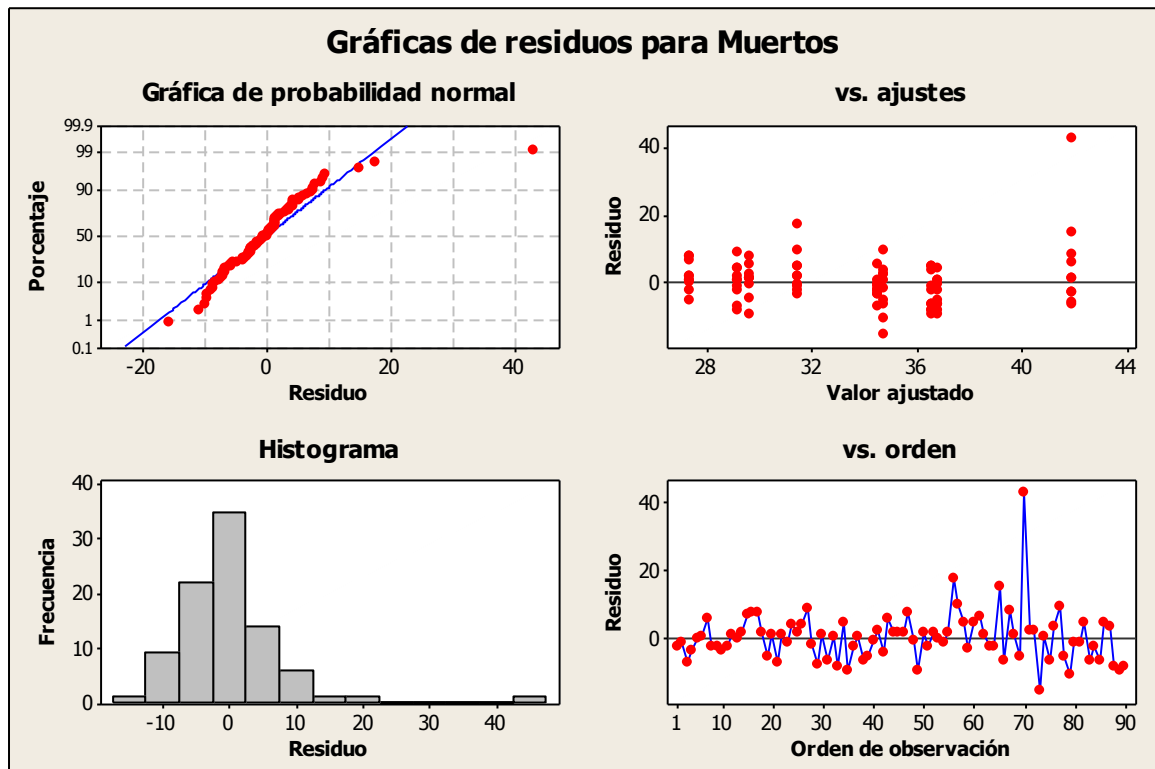
Hubo diferencia significativa en los días 1,2 con el dia 3, asi mismo con los dilutores hubo diferencia del andromed con los dilutores leche descremada y agua de coco.

Figura 10: Distribución de Grupos homogéneos de la prueba de Tukey para la variable % muertos del semen fresco de ganado vacuno según días de evaluación y dilutores.



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Spss, 2017

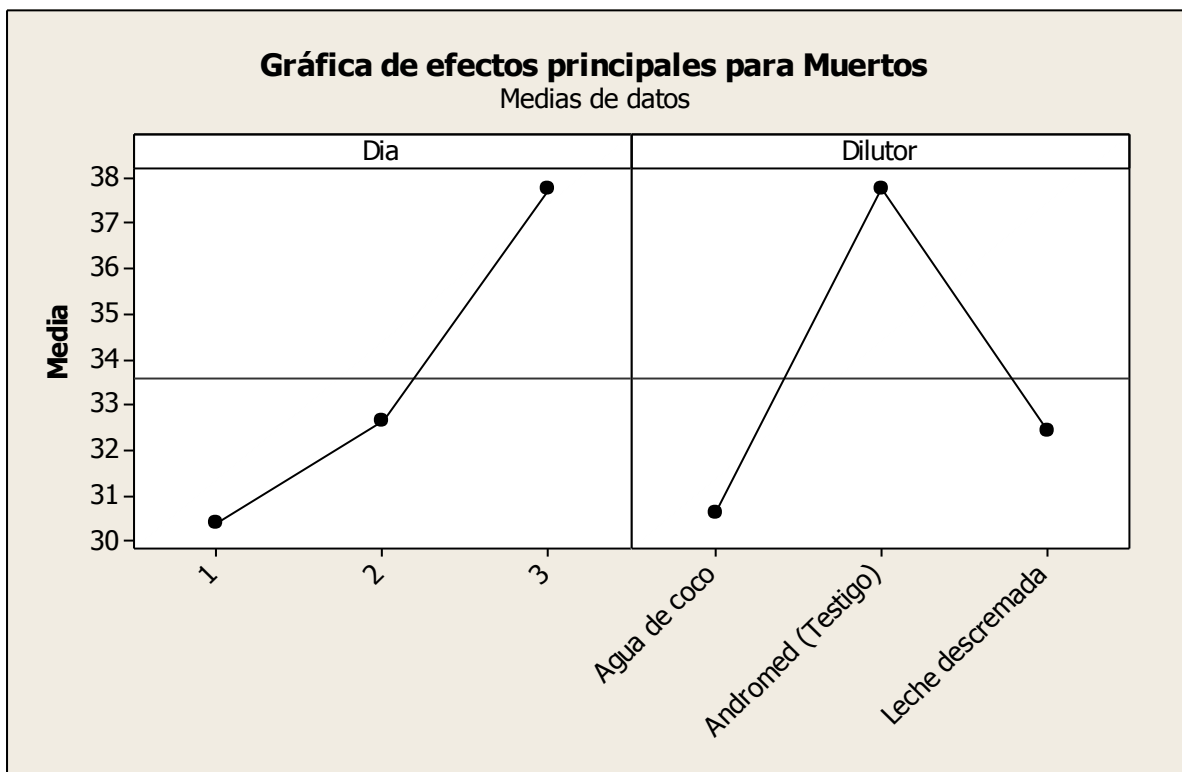
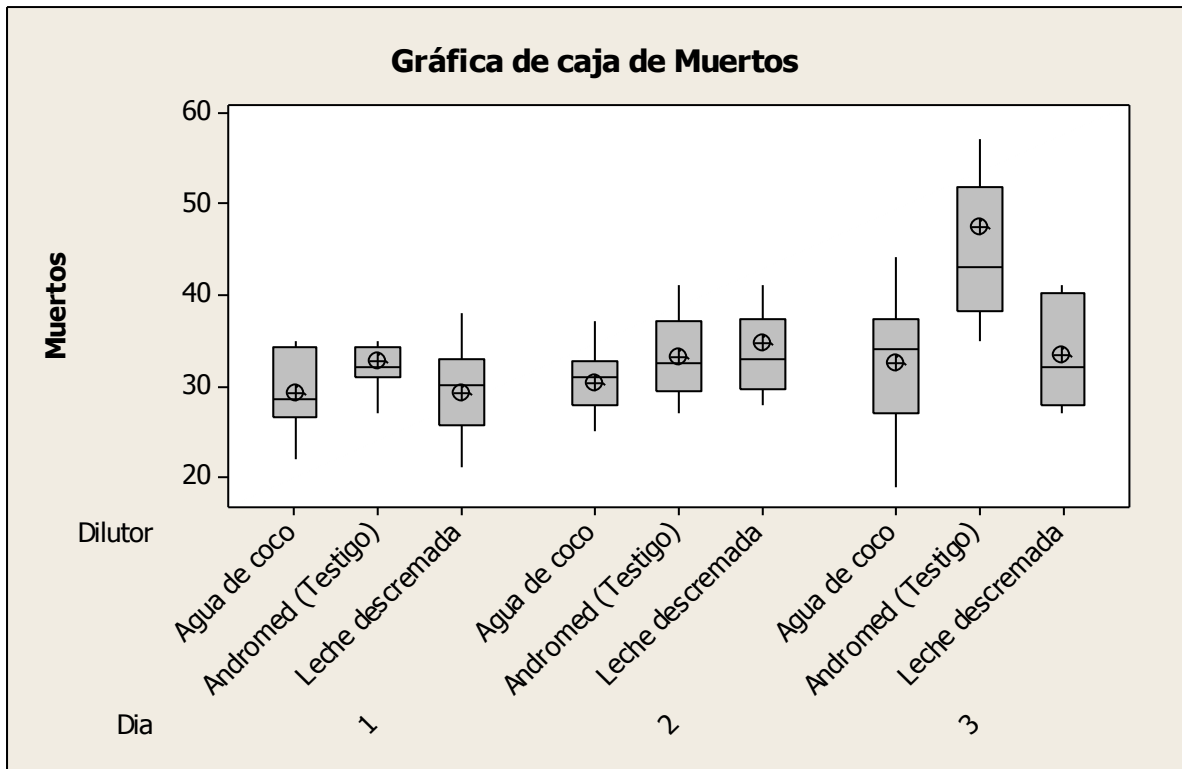
Figura 11: Graficas de residuos para evaluar la normalidad de los datos del % vivos del semen fresco de ganado vacuno.



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Minitab, 2017

En la figura 11, se evaluó que los datos evaluados en la motilidad tienen una distribución normal según los residuos evaluados y los ajustes para y en los datos no hay variabilidad para evaluar la motilidad del semen.

Figura 12: Graficas de cajas y de efectos principales para el % muertos del semen fresco de ganado bovino según los días y los dilutores.



Fuente: Datos de las muestras experimental, procesadas en Minitab, 2017

Interpretación: En la figura 11, podemos observar la normalidad de los datos mediante la graficas de los errores y la probabilidad normal para el % muertos del semen fresco de bovino, así mismo en la figura 12, evaluamos la gráfica de cajas para evaluar los promedios del % muertos según días y dilutores, así como el efecto de las fuentes de variación días y dilutores en el % muertos, lo cual se evidencio que si existe diferencia significativamente grafica descriptivamente y según el análisis de varianza en los días y dilutores ($p < 0.05$) influyeron significativamente, mientras que la prueba de tukey de la tabla 08 y figura 10, mostraron que para los días 1, 2 con 3 difirieron significativamente y en los dilutores el andromed (testigo) difirió significativamente del agua de coco y leche descremada en el % muertos del semen fresco de ganado vacuno, así también vemos que con el agua de coco se obtuvieron mayor vigor seguido del andromed y de la leche descremada del semen fresco de ganado bovino.

Tabla 9: Estadísticas descriptivas de la colecta de 90 muestras y evaluación inicial del Semen de las muestras de estudio.

| DESCRIPCIÓN | INDICADORES ESTADÍSTICOS | | |
|--|--------------------------|---|-----------------------|
| | volumen (ml) | Concentracion (millones x 10 ⁶) | Motilidad masal [1-5] |
| Mínino | 3.3 | 1521.0 | 4.0 |
| máximo | 9.0 | 2041.0 | 5.0 |
| Rango | 5.7 | 520.0 | 1.0 |
| Promedio \bar{x} | 5.5 | 1811.0 | 4.6 |
| Desv. Estándar | 1.6 | 184.7 | 0.5 |
| variación % al \bar{x} | 28.9% | 10.2% | 11.2% |

Fuente: Elaboración propia, según análisis de datos con Spss, 2017

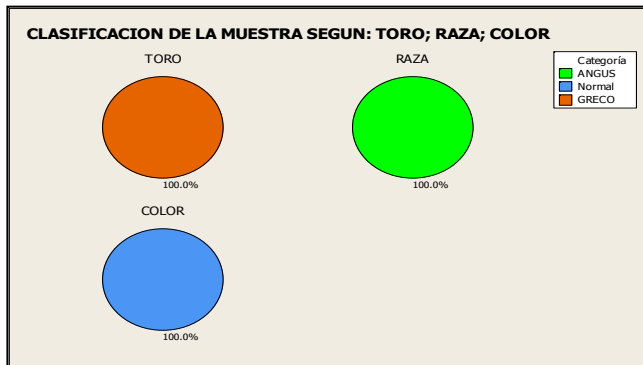
En la colecta con una muestra de 90 unidades experimentales en 3 días diferentes del semen inicial de evaluación se muestreo semen de toros Grecos de raza Angus de color normal, ya que de las muestras de estudio se evaluaron el volumen de semen con un volumen mínimo de 3.3. ml, volumen máximo de 9 ml, un rango de 5.7 ml, un volumen promedio de 5.5. ml, con una desviación estándar respecto al promedio en 1.6 ml y una variación 5 respecto al promedio en +-28.9%. Así también para la concentración del semen una concentración mínima de 1521 x 10⁶, una máxima de 2041 x 10⁶, rango de 520 x 10⁶, con una concentración promedio de 1811 x 10⁶, con una desviación estándar de 184.7 x 10⁶ y una variación % respecto al promedio de 10.2%. Así también para la motilidad masal con un puntaje mínimo de 4 puntos, un máximo de 5 puntos, un rango de 1 punto, un promedio de 4.6 puntos con una desviación de 0.5 puntos y una variación 5 respecto al promedio de 11.2%, lo cual se dice que en volumen hubo mayor variabilidad en las muestras que en la concentración y la motilidad masal, es decir las muestras en la concentración y motilidad masal fueron más homogéneas que en el volumen del semen.

Tabla 10: Estadísticas descriptivas de 90 muestras de la Motilidad, Vigor, % de vivos y % de muertos según influencia de dilutores (agua de coco y leche descremada) y testigo (sin dilutor).

| DESCRIPCIÓN | MOTILIDAD | | |
|--------------------------|-----------|--------------|------------------|
| | TESTIGO | AGUA DE COCO | LECHE DESCREMADA |
| Mínimo | 10 | 58 | 50 |
| máximo | 80.0 | 90.0 | 90.0 |
| Rango | 70.0 | 32.0 | 40.0 |
| Promedio \bar{x} | 58.3 | 69.9 | 67.5 |
| Desv. Estándar | 12.7 | 7.8 | 8.3 |
| variación % al \bar{x} | 21.8% | 11.1% | 12.3% |
| DESCRIPCIÓN | VIGOR | | |
| | TESTIGO | AGUA DE COCO | LECHE DESCREMADA |
| Mínimo | 1 | 2 | 2 |
| máximo | 5.0 | 5.0 | 5.0 |
| Rango | 4.0 | 3.0 | 3.0 |
| Promedio \bar{x} | 3.5 | 4.2 | 4.0 |
| Desv. Estándar | 0.9 | 0.7 | 0.7 |
| variación % al \bar{x} | 26.1% | 16.9% | 17.5% |
| DESCRIPCIÓN | % VIVOS | | |
| | TESTIGO | AGUA DE COCO | LECHE DESCREMADA |
| Mínimo | 15 | 56 | 51 |
| máximo | 73.0 | 81.0 | 79.0 |
| Rango | 58.0 | 25.0 | 28.0 |
| Promedio \bar{x} | 62.2 | 69.4 | 67.6 |
| Desv. Estándar | 11.1 | 5.6 | 5.9 |
| variación % al \bar{x} | 17.8% | 8.0% | 8.7% |
| DESCRIPCIÓN | % MUERTOS | | |
| | TESTIGO | AGUA DE COCO | LECHE DESCREMADA |
| Mínimo | 27 | 19 | 21 |
| máximo | 85.0 | 44.0 | 49.0 |
| Rango | 58.0 | 25.0 | 28.0 |
| Promedio \bar{x} | 37.8 | 30.6 | 32.4 |
| Desv. Estándar | 11.1 | 5.6 | 5.9 |
| variación % al \bar{x} | 29.4% | 18.1% | 18.2% |

Fuente: análisis de datos experimentales en Spss, 2017.

Figura 12: Distribución de la muestra según: Toro, raza y Color para la viabilidad espermática en semen fresco de bovinos



Fuente: Elaboración propia, según análisis de datos con Spss, 2017

Tabla 11: Relación y efecto entre los dilutores (agua de coco y leche descremada) en la viabilidad espermática de semen fresco de bovino

| DESCRIPCIÓN | | VIABILIDAD ESPERMATICA | | | | |
|-------------|------------------------------|------------------------|-------|--------|-----------|--------------|
| | | Motilidad % | vigor | %vivos | % muertos | Total |
| DILUTORES | R Pearson (Agua de coco) | 0.932 | 0.915 | 0.908 | 0.902 | 0.914 |
| | R Pearson (leche descremada) | 0.913 | 0.903 | 0.899 | 0.893 | 0.902 |
| | Andromed (testigo) | 0.902 | 0.893 | 0.921 | 0.883 | 0.900 |
| | significancia 5% | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| | Grado de relación | alto | alto | alto | alto | alto |

Fuente: Elaboración propia y análisis con Spss, 2017. R: valor de relación entre dilutor y viabilidad espermática
 Spss: programa estadístico de ciencia.

En la tabla 11, podemos evaluar que existe una relación significativa estadísticamente entre el uso de dilutores (agua de coco y leche descremada) en ambos dilutores existe una relación significativa de grado alto ($p < 0.05$) con la viabilidad espermática de semen fresco (motilidad %, vigor, % vivos y % muertos).

En conclusión las correlaciones entre los dilutores y la viabilidad espermática significa que ambas variables se relacionan y las correlaciones son significativas es decir con mayor grado según el tipo de dilutor, por ejemplo con el agua de coco la viabilidad espermática fue mejor por lo tanto tuvo una mejor relación, seguida de la leche descremada y por cultivo con el andromed pero con menor relación en la viabilidad espermática. En pocas palabras los dilutores si influyen en la viabilidad espermática del semen por lo tanto tienen una alta correlación entre ellos.

VI: DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la tabla 01, tabla 08, tabla 15 y tabla 22, evaluamos la influencia de los factores: semanas, días y dilutor (agua de coco y leche descremada) en la viabilidad espermática de semen, lo cual se pudo evidenciar estadísticamente (Anova, $p < 0.05$) concluir que los factores: semanas, días y en especial el factor dilutor (agua de coco y leche descremada) si influyeron en la viabilidad espermática del semen fresco de bovinos como fueron las variables de estudio (% motilidad, vigor, % vivos, % muertos).

En los estudios se pudo corroborar en las tablas 07, 14, 21 y 28 aplicando la prueba de tukey existe grupos diferentes aplicando los dilutores (agua de coco y leche descremada) y el testigo (sin aplicar dilutor) y se pudo corroborar que existe diferencia significativa estadísticamente y se evidenció que con el uso o aplicación de los dilutores (agua de coco y leche descremada) si influyeron significativamente para la viabilidad espermática del semen en las variables (% motilidad, vigor, % vivos, % muertos). Así mismo estudios anteriores se corroboran que el uso de dilutores también influyó significativamente en la viabilidad espermática del semen fresco de bovino, como por ejemplo:

En los resultados analizados se utilizó semen fresco de ganado bovino para evaluar la viabilidad espermática de semen lo cual en la utilización de los dilutores influyo significativamente en la viabilidad espermática del semen y con el agua de cómo se obtuvieron mejores resultados en la motilidad, vigor y % vivos, sin embargo la inseminación artificial (IA) con semen fresco fue utilizada con gran éxito en ovinos (O'Hara et al., 2010), porcinos y camellos (Morton et al., 2011), ya que en bovinos todavía no se ha encontrado un diluyente que pueda mantener buenos niveles de viabilidad espermática (color, olor, pH, volumen, motilidad masal, motilidad individual, y espermatozoides vivos y muertos) por un tiempo considerable.

En el estudio se utilizaron dilutores como el agua de coco, leche descremada y el testigo (andromed), lo cual con el uso de estos dilutores influyeron significativamente ($p < 0.05$) y según (Bravo, 2002), muchos dilutores para la viabilidad espermática del semen han sido utilizados en programas de inseminación artificial en muchas especies domésticas; en ensayos con semen de alpacas se utilizó como dilutor la leche descremada dando como

resultado un 68% de espermatozoides vivos luego de dos horas de reposo, sin embargo con este estudio con la leche descremada se halló un 67.6% de vivos, con resultados similares a otros estudios.

En el estudio realizado según el semen congelado a -5 grados, el semen se obtuvo resultados estimados según las condiciones normales y adecuadas para evaluar la viabilidad espermática del semen fresco de bovino aplicando los dilutores agua de coco y leche descremada, sin embargo Cole y Cupps, 1977 dice que con el uso de la leche descremada fue usada como dilutor en la crío preservación ya que una de sus características importantes protege a los espermatozoides manteniendo su fertilidad, debido a la caseína presente en la leche, lo que podría favorecer su uso en la conservación de semen fresco en un clima frío y por más tiempo.

En nuestro estudio se empleó leche descremada para evaluar la viabilidad espermática de semen, así mismo Evans y Maxwell (1990) manifiestan que el empleo de leche descremada también se utilizó como dilutor de semen y no siempre da resultados uniformes en la variabilidad en su composición, sin embargo con nuestro estudio con el agua de coco se obtuvieron mejores resultados que con la leche descremada y el agua de coco fue considerado un dilutor beneficioso en la viabilidad espermática en relación con otros diluyentes naturales (Gutiérrez et al., 2006b), además de bajo costo y facilidad de preparación (Nunes, 1993).

VII. CONCLUSIONES

- Existió un efecto significativo altamente de los dilutores (agua de coco y leche descremada) en la viabilidad espermática del semen (% motilidad, vigor, % vivos, % muertos), ya que se probó que existió diferencia significativa en la viabilidad espermática del semen fresco de ganado bovino y además con el uso de agua de coco se obtuvo mejores resultados que la leche descremada y el Andromed. (Motilidad Anova: $F_{calc}=13.77$, $p=0.000$; Vigor, Anova= 10.513 , $P=0.000$; % vivos Anova: $F_{calc}=7.367$, $p=0.001$, % Muertos Anova: $F_{cac}=7.367$, $p=0.001$).
- Con las muestras de semen fresco de bovino se obtuvieron características macroscópicas en las muestras con un color normal y con un volumen mínimo de 3.3 ml, máximo de 9 ml, volumen promedio de 5.5 ml, lo que quiere decir que el volumen de semen fresco estuvo dentro de un rango del 95% de confianza.
- Con las muestras de semen fresco de bovino se obtuvieron características microscópicas en las muestras con una concentración mínima de 1521×10^6 millones de espermatozoides, una máxima de 2041×10^6 millones de espermatozoides, promedio de 1811×10^6 millones de espermatozoides. Lo que quiere decir que la concentración de espermatozoides fue homogénea y poca variabilidad en las muestras.
- Con el efecto de los dilutores agua de coco y leche descremada tuvieron diferencia significativa con el andromed con menores resultados que el agua de coco y la leche descremada en la viabilidad espermática del semen fresco de bovino, sin embargo con el andromed se obtuvo mayor % muertos que con el agua de coco y leche descremada y con el agua de coco se obtuvo mejores resultados que la leche descremada en la viabilidad espermática de semen fresco de ganado bovino.
- Se probó que existió un alto grado de relación de los dilutores (agua de coco y leche descremada) y la viabilidad espermática se semen fresco (% motilidad, vigor,

%vivos, %muertos), así mismo se correlaciono el agua de coco Vs Viabilidad espermática, $R=0.914$ correlación alta; leche descremada Vs viabilidad espermática $R=0.902$ correlación alta y Andromed Vs viabilidad espermática $R=0.900$ correlación alta).

VIII. RECOMENDACIONES

- Realizar otros estudios periódicamente con otros dilutores en la viabilidad espermática del semen fresco refrigerado de bovinos.
- Realizar estudios con estos dilutores en otras especies lo cual servirían como nuevas investigaciones y se pueda generalizar esta práctica.
- Se recomienda utilizar el dilutor agua de coco como el mejor agente en la viabilidad espermática del semen fresco de bovinos, por sus mejores resultados en la motilidad, vigor y % de vivos.
- No se recomienda usar el andromed como extensor en periodos menos de 48 horas, ya que según los resultados se obtuvo menor viabilidad espermática de semen fresco de bovino.
- Se recomienda realizar otros estudios pero con el uso de dilutores en vitrificación para la viabilidad espermática del semen.
- Evaluar características microscópicas y macroscópicas del semen fresco de diferentes razas de bovinos, caprinos u otras especies, lo cual se pueda generalizar el estudio y poder evaluar diferentes factores o dilutores para un efecto significativo en la viabilidad espermática de semen fresco.
- Realizar estudios con otros métodos de congelación de semen usando estos dilutores, y evaluando su viabilidad.
- Utilizar semen refrigerado diluido con estos dilutores en programas de inseminación artificial e inseminación artificial a tiempo fija para elevar tasas de concepción.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Arana, Ines (2008). Diluciones y concentraciones de muestra líquidas y sólidas. Recuperado el 08 de octubre de 2017, desde: <https://ocw.ehu.es/mod/resource/view.php?id=1071>.
- Bravo, W. (2002). The reproductive process of South American camelids. *Printed by Seagull Printing*, Salt Lake City. USA.
- Carballo, D. (2005). Comparación de dos diluyentes comerciales para criopreservar semen de bovino bajo condiciones de campo en el trópico húmedo. (Tesis de pregrado). Universidad Veracruzana, Veracruz.
- Camacho, Jose (2010). Conservacion de semen caprino en los dilutores citrato yema y leche descremada yema. Recuperado el 12 de octubre de 2017, desde: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/veterinaria/v12_n1/conser_semen.htm
- Cole y Cupps, (1977). Fisiología reproductiva e inseminación artificial en animales domésticos. Barcelona ESPAÑA. Mag Graun Hill.
- Córdova, Alejandro, et all (2015). En su estudio Congelación de embriones bovinos en la facultad veterinaria de la Universidad complutense de Madrid. Recuperado el 10 de octubre de 2017, desde: <https://revistas.ucm.es/index.php/RCCV/article/download/51041/47391>
- Cordova, Alberto (2010). Uso de dilutores para mejorar la viabilidad espermática de ganado. Recuperado el 08 de octubre de 2010, desde: http://unmsm.edu.pe/tesisinvestigacion/veterinariaganados/v12_n1/semen.htm
- Cueto, marcela (2016). Manual de obtención, procesamiento y conservación del semen ovino. Recuperado el 10 de octubre de 2017, desde: https://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-manual_de_semen_ovino_2da_edicion.pdf

- Cruz Valenzuela, Jose Luis. (2009). Manual de Evaluación de Semen en Bovinos. Recuperado de <http://cdigital.uv.mx/bitstream/12345678/147/1/JOSe%20NICOLaS%20ANGELIN>
- Evans G. y Maxwell M. 1990. Inseminación artificial en ovejas y cabras. España. Editorial Acribia.
- Fernandez, F.2013. Evaluación de dos diluyentes para la conservación de semen ovino: yema de huevo vs lecitina de soya. Recuperado de https://www.academia.edu/4366411/EVALUACION_DE_DOS_DILUYENTES_PARA_LA_CONSERVACION_DE_SEMEN_OVINO_YEMA_DE_HUEVO_VS_LECITINA_DE_SOYA
- Gutiérrez, A.J.; Cosme, R.W.; Jiménez, C.J.A. y Ramírez, G.J.A. (2006b). Agua de coco, suero fetal bovino, Aloe vera y sus combinaciones para criopreservar semen ovino. *Arch Zootec*, 55, 101-104.
- Lewis MJ. Heat treatment of milk. Towler C. (1994). Developments in cream separation and processing (chap 2). *Modern dairy technology*, 2 (1), 1-60.
- Montero, Alicia. 2008. Definición y Estructura del Espermatozoide. Recuperado de <http://es.scribd.com/doc/8481761/Definicion-y-Estructura-Del-Espermatozoide>
- Morton, K.M.; Billah, M. and Skidmore, J.A. (2011). Effect of green buffer storage on the fertility of fresh camel semen after artificial insemination. *Reprod Domest Anim*, 46, 554-557.
- Muñoz, Oscar Vera y Muñoz, M. Gladys. (2006). Cómo mejorar la colección, manejo y calidad microbiológica del semen. Recuperado de http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manualgandería/seccion6/articulo19-sp.pdf.
- Muñoz, Oscar Vera. (2011). Fisiología de los Espermatozoides bovinos. Recuperado de http://www.avpa.ula.ve/libro_desarrollosost/pdf/capitulo_40.pdf

- Nunes, J.F. (1993). El agua de coco como diluyente del semen caprino. *Revista Científica FCVLUZ III*, 3, 269-272.
- O'Hara, L.; Hanrahan, J.P.; Richardson, L.; Donovan, A.; Fair, S.; Evans, A.C. and Lonergan, P. (2010). Effect of storage duration, storage temperature, and diluent on the viability and fertility of fresh ram sperm. *Theriogenology*, 73, 541-549.
- OMS. (2010). Laboratory manual for the examination and processing of human semen. *Geneva*, 287.
- Palacios Martínez, M. (2005). Evaluación del agua de coco (*Cocos nucifera*), *Opuntia* spp, Leche y sus Combinaciones para la criopreservación del semen ovino (Tesis de maestría). Universidad Autónoma de Chihuahua, México
- Parrotta, John A. (1993). *Cocos nucifera* L. Coconut, Coconut palm, Palma de coco. *Palmae. Palm family*. New Orleans. USDA Forest Service.
- Peña, Johanna Marcela Buitrago y SÁNCHEZ, Luz Marina Pérez. (2008). Comparación de dos diluyentes para la criopreservación de semen ovino. Recuperado de <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/10185/5987/1/T14.08%20B868c.pdf>.
- Restrepo, Giovanni (2008). En su estudio Inseminación artificial Bovina. Recuperado el 10 de octubre de 2017, desde:
https://www.researchgate.net/profile/Giovanni_Restrepo/publication/233906494_Biotecnologias_Reproductivas_Aplicables_a_la_Produccion_Bovina_en_Colombia/links/0deec5288043b9f6a1000000/Biotecnologias-Reproductivas-Aplicables-a-la-Produccion-Bovina-en-Colombia.pdf
- Universidad Nacional Agraria la Molina, (2010). Recoleccion, Evaluacion y conservacion de semen fresco de bovinos. Recuperado el 10 de octubre de 2017, desde:
http://tarwi.lamolina.edu.pe/~emellisho/IA_archivos/Recoleccion%20y%20evaluacion%20de%20semen%20equino%20.pdf.
- Walstra P. (1999). Dairy technology: Principles of milk properties and processes. *Food Science and Technology*, 752p.

X. ANEXOS

Tabla 31: Base de datos de las variables: motilidad, vigor, % vivos, % muertos según uso de dilutores (agua de coco y leche descremada) y testigo

| Dia | VIABILIDAD ESPERMATICA DEL SEMEN FRESCO | | | | | | | | | | | |
|-----|---|--------------|------------------|--------------------|--------------|------------------|--------------------|--------------|------------------|--------------------|--------------|------------------|
| | Motilidad | | | Vigor | | | % vivos | | | % muertos | | |
| | Andromed (testigo) | Agua de coco | Leche descremada | Andromed (testigo) | Agua de coco | Leche descremada | Andromed (testigo) | Agua de coco | Leche descremada | Andromed (testigo) | Agua de coco | Leche descremada |
| 1 | 70 | 70 | 75 | 5 | 5 | 5 | 68 | 75 | 78 | 32 | 25 | 22 |
| | 65 | 70 | 72 | 4 | 5 | 5 | 67 | 72 | 70 | 33 | 28 | 30 |
| | 70 | 80 | 75 | 4 | 4 | 4 | 73 | 73 | 72 | 27 | 27 | 28 |
| | 65 | 75 | 70 | 5 | 5 | 5 | 69 | 71 | 67 | 31 | 29 | 33 |
| | 72 | 70 | 68 | 5 | 5 | 5 | 66 | 66 | 69 | 34 | 34 | 31 |
| | 65 | 65 | 65 | 5 | 5 | 5 | 65 | 65 | 67 | 35 | 35 | 33 |
| | 60 | 65 | 55 | 4 | 4 | 4 | 60 | 65 | 62 | 40 | 35 | 38 |
| | 65 | 70 | 65 | 4 | 4 | 4 | 68 | 71 | 73 | 32 | 29 | 27 |
| | 80 | 90 | 90 | 4 | 5 | 5 | 68 | 78 | 79 | 32 | 22 | 21 |
| 65 | 70 | 70 | 4 | 4 | 4 | 69 | 72 | 70 | 31 | 28 | 30 | |
| 2 | 62 | 65 | 70 | 4 | 4 | 4 | 70 | 68 | 71 | 30 | 32 | 29 |
| | 55 | 70 | 70 | 3 | 4 | 4 | 63 | 75 | 67 | 37 | 25 | 33 |
| | 65 | 75 | 70 | 3 | 4 | 4 | 72 | 65 | 69 | 28 | 35 | 31 |
| | 60 | 68 | 65 | 4 | 5 | 4 | 59 | 69 | 70 | 41 | 31 | 30 |
| | 70 | 70 | 66 | 4 | 5 | 4 | 73 | 69 | 67 | 27 | 31 | 33 |
| | 55 | 60 | 62 | 4 | 5 | 4 | 66 | 69 | 51 | 34 | 31 | 49 |
| | 55 | 60 | 55 | 3 | 4 | 3 | 63 | 63 | 59 | 37 | 37 | 41 |
| | 60 | 70 | 62 | 3 | 4 | 4 | 70 | 71 | 64 | 30 | 29 | 36 |
| | 70 | 90 | 85 | 4 | 5 | 5 | 69 | 80 | 72 | 31 | 20 | 28 |
| 60 | 70 | 64 | 4 | 4 | 4 | 64 | 69 | 64 | 36 | 31 | 36 | |
| 3 | 55 | 65 | 70 | 3 | 4 | 4 | 52 | 63 | 65 | 48 | 37 | 35 |
| | 50 | 65 | 65 | 3 | 4 | 4 | 57 | 63 | 59 | 43 | 37 | 41 |
| | 50 | 70 | 68 | 3 | 3 | 3 | 61 | 81 | 70 | 39 | 19 | 30 |
| | 50 | 65 | 62 | 3 | 4 | 4 | 61 | 65 | 66 | 39 | 35 | 34 |
| | 50 | 68 | 65 | 3 | 4 | 4 | 43 | 72 | 70 | 57 | 28 | 30 |
| | 50 | 60 | 58 | 3 | 4 | 4 | 65 | 62 | 59 | 35 | 38 | 41 |
| | 35 | 58 | 50 | 2 | 3 | 3 | 50 | 56 | 60 | 50 | 44 | 40 |
| | 50 | 68 | 60 | 2 | 4 | 3 | 57 | 71 | 72 | 43 | 29 | 28 |
| | 60 | 86 | 80 | 3 | 5 | 4 | 64 | 76 | 73 | 36 | 24 | 27 |
| | 10 | 70 | 72 | 1 | 2 | 2 | 15 | 67 | 72 | 85 | 33 | 28 |

Fuente: Elaboración propia según muestreo realizado, 2017

Tabla 32: Base de datos de la evaluación inicial del semen según toro, raza, color, volumen, concentración, motilidad masal, edad.

| SEMANA | EVALUACION DEL SEMEN INICIAL | | | | | | |
|--------|------------------------------|-------|--------|---------|---------------|-----------------|------|
| | TORO | RAZA | COLOR | VOLUMEN | CONCENTRACION | MOTILIDAD MASAL | EDAD |
| 1 | GRECO | ANGUS | Normal | 6 | 1967 | 4 | 2.5 |
| 2 | GRECO | ANGUS | Normal | 4.3 | 1785 | 5 | 2.5 |
| 3 | GRECO | ANGUS | Normal | 5.4 | 1884 | 5 | 2.5 |
| 4 | GRECO | ANGUS | Normal | 5 | 2004 | 4 | 2.5 |
| 5 | GRECO | ANGUS | Normal | 4.5 | 1729 | 5 | 2.5 |
| 6 | GRECO | ANGUS | Normal | 6 | 2041 | 5 | 2.5 |
| 7 | GRECO | ANGUS | Normal | 9 | 1521 | 4 | 2.5 |
| 8 | GRECO | ANGUS | Normal | 4.5 | 1732 | 5 | 2.5 |
| 9 | GRECO | ANGUS | Normal | 3.3 | 1531 | 4 | 2.5 |
| 10 | GRECO | ANGUS | Normal | 6.5 | 1916 | 5 | 2.5 |

Fuente: Elaboración propia según muestreo realizado, 2017