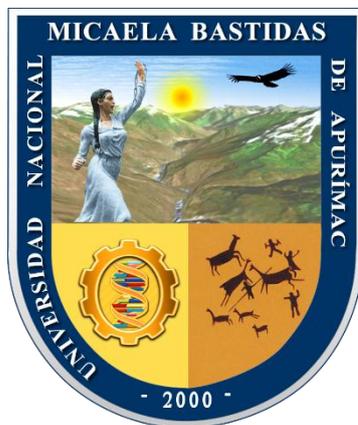


UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



TESIS

Dilutor Tris - yema de huevo de codorniz con tres curvas de congelación del semen sobre características espermáticas de un toro Fleckvieh (*Bos Taurus*)

Presentado por:

Elmer Abad Otazu Ccahuana

Para optar el Título de:

Médico Veterinario y Zootecnista

Abancay, Perú

2023



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“TESIS”

“DILUTOR TRIS - YEMA DE HUEVO DE CODORNIZ CON TRES CURVAS DE
CONGELACIÓN DEL SEMEN SOBRE CARACTERÍSTICAS ESPERMÁTICAS DE
TOROS FLECKVIEH (*Bos taurus*)”

Presentado por el Bach. **Elmer Abad Otazu Ccahuana**, para optar el Título de:
Médico Veterinario y Zootecnista

Sustentado y aprobado el 04 de mayo del 2023 ante el jurado evaluador:

Presidente:

MVZ. Víctor Raúl Cano Fuentes

Primer Miembro:

MVZ. Juan Roberto Soncco Quispe

Segundo Miembro:

MVZ. Valeriano Paucara Ocsa

Asesores :

Dr. Virgilio Machaca Machaca

Dr. Ulises Sandro Quispe Gutiérrez

MS.c. Jesús Roldan Juárez

Agradecimiento

Agradecer es un gesto humanamente y significativo y necesario al poder concluir una etapa maravillosa de mi vida, quiero extender un profundo agradecimiento, a quienes hicieron posible este sueño, aquellos que junto a mi caminaron en todo momento y siempre fueron inspiración, apoyo y fortaleza. Esta mención en especial:

A Dios por haberme dado la vida, salud, fortaleza, sabiduría y poder concluir satisfactoriamente un peldaño más en la vida con el trabajo de investigación.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por intermedio de su Decano, Docentes, Estudiantes, Egresados y Administrativos quienes conforman la comunidad veterinaria ya que fueron parte fundamental de mi formación universitaria. A mis distinguidos asesores al Dr. Virgilio Machaca Machaca y al Dr. Ulises Sandro Quispe Gutiérrez por formar parte de este trabajo de investigación y compartir su sabiduría para hacer realidad todo este trabajo de investigación. Al MS.c. Jesús Roldan Juárez por ser pilar fundamental y formar parte importante

Para la finalización de este trabajo de investigación, ya que gracias a su conocimiento y sabiduría se culminó satisfactoriamente.

Con eterno agradecimiento y mucho cariño a mis hermanos: Yackelin, Lester Abad, Dilmer, y a la madre de mi hija Mariela Soledad Arizapana Salas, y mis amigos Fidel Abdón Sota Portilla y Luis Dueñas Gayona por ser personas de buen corazón y dedicarme tiempo y paciencia para conmigo poder concluir este trabajo de investigación y conforme a ello dignas personas de superación.



Dedicatoria

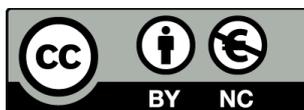
A mi padre Gabriel Otazu Vargas, por sus consejos, apoyo incondicional y su paciencia durante toda mi etapa de estudiante y por ser ejemplo constante de superación y progreso. Con amor y mucho cariño para mi madre Adriana Ccahuana Carrasco, por mostrarme el camino hacia la superación y ser ejemplo de madre luchadora que no baja los brazos por ver a sus hijos triunfar. Con mucho cariño a mi hija Eymi Adriana Otazu Arizapana que es mi motor y motivo para lograr mis metas planteadas en vida personal y profesional.



Dilutor Tris - yema de huevo de codorniz con tres curvas de congelación del semen sobre características espermáticas de toros Fleckvieh (*Bos Taurus*)

Línea de investigación: Ciencias Veterinarias

Esta publicación está bajo una Licencia Creative Commons



ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
RESUMEN	2
ABSTRACT	3
CAPÍTULO I	4
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
1.1 Descripción del problema	4
1.2 Enunciado del Problema	5
1.2.1 Problema general	5
1.2.2 Problemas específicos	5
1.2.3 Justificación de la investigación	5
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	6
2.1 Objetivos de la investigación	6
2.2.1 Objetivo general	6
2.2.2 Objetivos específicos	6
2.2 Hipótesis de la investigación (opcional para el caso de investigación descriptiva)	6
2.2.3 Hipótesis general	6
2.2.4 Hipótesis específicas	7
2.3 Operacionalización de variables	7
CAPÍTULO III	8
MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	8
3.1 Antecedentes	8
3.2 Marco teórico	9
3.1.1 Situación ganadera del ganado bovino	9
3.1.2 Taxonomía	9
Saavedra et al (17)	9
3.1.3 Raza Fleckvieh	9
3.1.4 Criopreservación espermática	10
3.1.5 Dilutores del semen Bovino	10
3.1.6 Yema de huevo en la Criopreservación espermática	11
3.1.7 Evaluación de semen	12
3.1.7.1 Motilidad espermática	12
3.1.7.2 Vitalidad espermática	13
3.3 Marco conceptual	13
CAPÍTULO IV	16
METODOLOGÍA	16
4.1 Tipo y nivel de investigación	16
	I



4.2	Diseño de la investigación	16
4.3	Población y muestra	16
4.4	Procedimiento	16
4.4.1	Toma de muestras	16
4.4.2	Colección del semen mediante la vagina artificial	16
4.4.3	Evaluación del semen	17
4.5	Técnica e instrumentos	19
4.5.1	Material Biológico	19
4.5.2	Materiales y equipos de laboratorio	19
4.5.3	Materiales de escritorio	19
4.6	Análisis estadístico	19
e.	Análisis estadístico	20
CAPÍTULO V		21
RESULTADOS Y DISCUSIONES		21
5.1	Análisis de resultados	21
5.1.1	Motilidad total	21
5.1.2	Motilidad progresiva	22
5.1.3	Vitalidad espermática	22
5.2	Discusión	23
CAPÍTULO VI		26
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		26
6.1	Conclusiones	26
6.2	Recomendaciones	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		27
ANEXOS		31



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 01.	Operacionalización de variables independientes y dependientes	7
Tabla 02	Comparación de composición de huevo de gallina y codorniz	11
Tabla 03	Clasificación de motilidad en masa del semen	14
Tabla 04	Evaluación descriptiva de la motilidad individual	14
Tabla 05	Composición del dilutor Tris – yema de huevo de codorniz y gallina	18
Tabla 06	Motilidad total (media \pm desviación estándar) de espermatozoides con Dilutor Tris – yema de huevo de codorniz y gallina en Criopreservación	21
Tabla 07	Motilidad progresiva (media \pm desviación estándar) de espermatozoides con Dilutor Tris – yema de huevo de codorniz y gallina en Criopreservación	22
Tabla 08	Vitalidad espermática (media \pm desviación estándar) de espermatozoides con Dilutor Tris – yema de huevo de codorniz y gallina en Criopreservación.	23
Tabla 09	Datos obtenidos en motilidad total por concentración de tris yema de huevo, curvas de congelación y por número de eyaculado después de la congelación del semen	37
Tabla 10	Datos obtenidos en motilidad total por concentración de tris yema de huevo y por número de eyaculado antes de la congelación del semen.	37
Tabla 11	Datos obtenidos en motilidad rectilínea individual por concentración de tris yema de huevo y por número de eyaculado antes de la congelación del semen.	38
Tabla 12	Datos obtenidos en motilidad rectilínea individual por concentración de tris yema de huevo, curvas de congelación y por número de eyaculado después de la congelación del semen.	38
Tabla 13	Datos obtenidos en vitalidad espermática por concentración de tris yema de huevo y por número de eyaculado antes de la congelación del semen.	39
Tabla 14	Datos obtenidos vitalidad espermática por concentración de tris yema de huevo, curvas de congelación y por número de eyaculado después de la congelación del semen.	39
Tabla 15	Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para motilidad total pre congelación	40



Tabla 16	Análisis de varianza (ANOVA) para Motilidad total pre congelación	40
Tabla 17.	Resumen de análisis de varianza (ANOVA) para motilidad total post congelación	40
Tabla 18.	Análisis de varianza (ANOVA) para motilidad total post congelación	41
Tabla 19.	Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para motilidad progresiva pre congelación	41
Tabla 20.	Análisis de varianza (ANOVA) para motilidad individual progresiva pre congelación	41
Tabla 21.	Resumen de análisis de varianza para motilidad individual progresiva poscongelación	41
Tabla 22.	Análisis de varianza (ANOVA) para motilidad individual progresiva post congelación	42
Tabla 23.	Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para motilidad progresiva precongelación	42
Tabla 24.	Análisis de varianza (ANOVA) para Motilidad progresiva precongelación	42
Tabla 25.	Resumen de análisis de varianza (ANOVA) para vitalidad espermática poscongelación	43
Tabla 26.	Análisis de varianza (ANOVA) para Vitalidad espermática post congelación	43



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Preparación de Dilutor tris yema de huevo.....	32
Figura 2. Preparación del semental de Raza Fleshviek para la colección del semen.....	32
Figura 3. Colección de semen mediante vagina artificial.....	33
Figura 4. Evaluación espermática post colección del semen	33
Figura 5. Identificación de pajillas para empajillar el semen.....	34
Figura 6. Cargado de pajillas con semen diluido	34
Figura 7. Estabilización de pajillas con semen después de su cargado	35
Figura 8. Programación de las diferentes curvas de congelamiento	35
Figura 9. Congelamiento de las pajillas con las curvas de congelación.....	36
Figura 10. Almacenamiento de pajillas en tanque criogénico	36



INTRODUCCIÓN

La producción ganadera bovina cumple un rol importante en la economía peruana, principalmente en la zona sur del Perú, en donde la crianza de ganado bovino ha tomado fuerza en los pequeños productores. La reproducción animal es una de las actividades más importantes en la ganadería bovina el cual se viene manifestado esta importancia con la generación de proyectos productivos e innovadores en mejoramiento genético con técnicas reproductivas como inseminación artificial (IA), transferencia de embriones, etc. (1).

En la actualidad existe una gran variedad de dilutores para diversas especies domésticas a base de sustancias de origen animal como la yema de huevo, leche descremada, etc; los cuales tienen en su composición lipoproteínas de mayor y fácil adherencia a la membrana espermática los cuales protegen al espermatozoide durante la criopreservación (2).

La criopreservación de gametos es una técnica reproductiva que se difunde y se desarrolla ampliamente en todo el mundo, en donde el material genético se difunde a través del tiempo y espacio mediante la biotecnología reproductiva. El desconocimiento sobre dilutores apropiados para el semen se constituyen en los principales factores que imposibilitan el desarrollo de protocolos de criopreservación con resultados óptimos de calidad espermática post-descongelamiento (3,4).

Los parámetros espermáticos como motilidad total, motilidad progresiva, vitalidad, etc. en la criopreservación del semen son afectados por la calidad de los Dilutores, la velocidad del descenso de la temperatura durante el congelamiento. El porcentaje de la motilidad espermática puede estar asociada a la disminución de energía como a la lesión mitocondrial, pues es necesaria la energía tanto para la motilidad como para la fertilización (5). 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 (6).

Por lo expuesto anteriormente se tuvo como objetivo evaluar las características espermáticas de semen congelado del toro Fleckvieh, con dilutor Tris con diferentes concentraciones de yema de Huevo de codorniz y gallina, y tres curvas de congelamiento. Si bien es cierto existen muchos trabajos de investigación desde un punto de vista de evaluación de dilutores, técnicas de criopreservación, sin embargo, estudios sobre velocidad de reducción de la temperatura en el congelamiento del semen se desconocen, es así la importancia de contribuir



con el conocimiento científico si esta si esta práctica afecta las características espermáticas del semen.

RESUMEN

El estudio se realizó con el objetivo de evaluar el dilutor Tris - yema de huevo de codorniz con tres curvas de congelación del semen sobre características espermáticas de un toro Fleckvieh (*Bos Taurus*). Se utilizó semen de un toro Fleckvieh de 2 años y se realizó 3 colecciones con intervalos de 15 días. Se formaron nueve grupos divididos en tres 3 factores por 3 niveles, siendo los factores: A: Huevo de Codorniz 5%; B: Huevo de Codorniz 10%; C: Huevo de gallina 20%. Los niveles fueron las curvas de descenso de la temperatura de congelación desde 4 °C: Curva 1 (15 °C/ minuto); Curva 2 (20 °C/ minuto); Curva 3 (25 °C/ minuto), los cuales fueron distribuidos en un diseño completamente al azar. Se evaluó la motilidad espermática total, individual progresiva, y la vitalidad espermática antes y después de ser congelados. Se observa diferencias significativas en la motilidad espermática total ($p < 0.05$) antes de congelar el semen con Dilutores tris yema de huevo de codorniz al 5 y 15% (71.92 ± 3.84 , 74.67 ± 12.39) respectivamente y gallina (82.73 ± 3.98). En la congelación sobre la motilidad espermática total con el Dilutor Tris yema de huevo de codorniz al 15% y el Dilutor tris yema de huevo de gallina al 20% muestran mejores resultados en la curva 20°C/min (36.68 ± 2.33 , 55.29 ± 1.54) respectivamente. En la motilidad individual progresiva el Dilutor Tris yema de huevo de codorniz al 15% y el Dilutor tris yema de huevo de gallina al 20% muestran mejores resultados en la curva 20°C/min (26.34 ± 2.30 , 33.71 ± 1.77) respectivamente. En la vitalidad espermática con el Dilutor Tris yema de huevo de codorniz al 15% y el Dilutor tris yema de huevo de gallina al 20% muestran mejores resultados en la curva 20°C/min (42.47 ± 1.13 , 55.65 ± 1.28) respectivamente. En conclusión, el porcentaje de adición de la yema de huevo de codorniz influye sobre la motilidad total, motilidad progresiva y la vitalidad, así mismo las curvas de congelación influyen sobre estas variables.

Palabras clave: Criopreservación, curvas de congelación, dilutor tris yema huevo, características espermáticas, *Bos taurus*.



ABSTRACT

The study was carried out with the objective of evaluating the Tris extender - quail egg yolk with three semen freezing curves on sperm characteristics of a Fleckvieh bull (*Bos Taurus*). Semen from a 2-year-old Fleckvieh bull was used and 3 collections were made with 15-day intervals. Nine groups divided into three 3 factors by 3 levels were formed, the factors being: A: Quail Egg 5%; B: Quail Egg 10%; C: Chicken egg 20%. The levels were the freezing temperature decrease curves from 4 °C: Curve 1 (15 °C/ minute); Curve 2 (20 °C/ minute); Curve 3 (25 °C/ minute), which were distributed in a completely randomized design. Total and individual progressive sperm motility and sperm vitality were evaluated before and after being frozen. Significant differences were observed in total sperm motility ($p < 0.05$) before freezing the semen with 5% and 15% quail egg yolk tris dilutors (71.92 ± 3.84 ; 74.67 ± 12.39) respectively and chicken (82.73 ± 3.98). In freezing on total sperm motility with the 15% quail egg yolk Tris Dilutor and the 20% chicken egg yolk Tris Dilutor show better results in the 20°C/min curve (36.68 ± 2.33 ; 55.29 ± 1.54) respectively. In progressive individual motility, the 15% quail egg yolk Tris Dilutor and the 20% chicken egg yolk Tris Dilutor show better results in the 20°C/min curve (26.34 ± 2.30 ; 33.71 ± 1.77) respectively. In sperm vitality with the 15% quail egg yolk Tris Dilutor and the 20% chicken egg yolk Tris Dilutor show better results in the 20°C/min curve (42.47 ± 1.13 ; 55.65 ± 1.28) respectively. In conclusion, the percentage of quail egg yolk addition influences total motility, progressive motility, and vitality, likewise the freezing curves influence these variables.

Keywords: Cryopreservation, freezing curves, egg yolk tris diluter, sperm characteristics, *Bos taurus*.



CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción del problema

En la actualidad existe una gran variedad de dilutores para diversas especies domésticas a base de sustancias de origen animal como la yema de huevo, leche descremada, etc; los cuales tienen en su composición lipoproteínas de mayor y fácil adherencia a la membrana espermática los cuales protegen al espermatozoide durante la criopreservación. Para poder evitar mortalidad espermática en el proceso de congelación-descongelación, por lo cual se han desarrollado diversos protocolos y diluyentes que permitan mejorar las variables espermáticas, obteniendo mayor número de espermatozoides viables al momento de congelar y descongelar para ser usado técnicas biotecnológicas. (2).

Las dificultades en la colección de semen y en el manejo de las muestras seminales, al escaso conocimiento sobre dilutores apropiados para el semen se constituyen en los principales factores que imposibilitan el desarrollo de protocolos de criopreservación con resultados óptimos de calidad espermática post-descongelamiento.

Los parámetros espermáticos como motilidad total, motilidad progresiva, vitalidad, etc. en la criopreservación del semen son afectados por la calidad de los Dilutores, la velocidad del descenso de la temperatura durante el congelamiento. El porcentaje de la motilidad espermática puede estar asociada a la disminución de energía como a la lesión mitocondrial, pues es necesaria la energía tanto para la motilidad como para la fertilización. 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. (3).

Uno de los problemas importantes relacionados 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 (6).



1.2 Enunciado del Problema

1.2.1 Problema general

¿Cómo afecta las curvas de congelamiento con Dilutor Tris - yema de huevo de codorniz sobre las características de espermatozoides de toro Fleckvieh?

1.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuál será los porcentajes de motilidad total con el dilutor Tris - yema de huevo de codorniz y con tres curvas de congelación del semen de toro (Bos Taurus) Fleckvieh??
- ¿Cuál será los porcentajes de motilidad progresiva con el dilutor Tris – yema de huevo de codorniz y con tres curvas de congelación del semen de toro (Bos Taurus) Fleckvieh?.
- ¿Cuál será los porcentajes de vitalidad con el dilutor Tris - yema de huevo de codorniz y con tres curvas de congelación del semen de un toro (Bos Taurus) Fleckvieh??

1.2.3 Justificación de la investigación

En la actualidad la ganadería bovina viene desarrollando a grandes pasos con la implementación de técnicas reproductivas con mayor difusión la inseminación artificial. La inseminación artificial ha demostrado ser la herramienta más exitosa para la mejora genética de los animales de importancia zootécnica, especialmente en la industria bovina (7).

Los diluyentes son sustancias con la capacidad de aumentar el volumen de eyaculado y proporcionar la sobrevivencia y garantizar la fecundación de los espermatozoides. Durante varios años se ha ido investigando y comprobando varias sustancias que tengan la capacidad de proporcionar un medio adecuado para la criopreservación del semen.

Un diluyente para el semen bovino esta debe tener la capacidad de nutrir, amortiguar y proteger las células espermáticas. Actualmente existen en el mercado varios diluyentes comerciales, que pueden ser utilizados para la Criopreservación de semen bovino, así también se pueden utilizar sustancias elaboradas a nivel de campo que resultan económicas.

Por lo expuesto anteriormente, este trabajo de investigación se pretende evaluar diferentes concentraciones de yema de huevo de codorniz y tres curvas de



congelación para observar la motilidad total, motilidad individual progresiva y vitalidad

CAPÍTULO II

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivos de la investigación

2.2.1 Objetivo general

Evaluar el dilutor Tris - yema de huevo de codorniz con tres curvas de congelación del semen sobre características espermáticas de toro (Bos Taurus) Fleckvieh

2.2.2 Objetivos específicos

- Comparar los porcentajes de motilidad total con el dilutor Tris - yema de huevo de codorniz y con tres curvas de congelación del semen de toro (Bos Taurus) Fleckvieh.
- Comparar los porcentajes de motilidad progresiva con el dilutor Tris – yema de huevo de codorniz y con tres curvas de congelación del semen de toro (Bos Taurus) Fleckvieh.
- Comparar los porcentajes de vitalidad con el dilutor Tris - yema de huevo de codorniz y con tres curvas de congelación del semen de un toro (Bos Taurus) Fleckvieh.

2.2 Hipótesis de la investigación (opcional para el caso de investigación descriptiva)

2.2.3 Hipótesis general

El dilutor Tris - yema de huevo de codorniz influye en las tres curvas de congelación del semen sobre características espermáticas de un toro Fleckvieh (Bos Taurus) es bajo.



2.2.4 Hipótesis específicas

- La motilidad total del semen congelado del toro Fleckvieh, diluido con dos concentraciones de yema de huevo de codorniz, y con tres curvas de congelamiento fueron influenciados.
- La motilidad rectilínea progresiva del semen congelado de un toro Fleckvieh, diluido con dos concentraciones de yema de huevo de codorniz, y con tres curvas de congelamiento fueron afectadas.
- La vitalidad del semen congelado de un toro Fleckvieh, diluido con dos concentraciones de yema de huevo de codorniz, y con tres curvas de congelamiento fueron influenciadas.

2.3 Operacionalización de variables

Tabla 01. Operacionalización de variables independientes y dependientes

Variables	Dimensión	Indicador
Independiente		
Dilutor Tris yema de huevo de codorniz	Porcentaje de adición de Dilutor Tris yema de huevo de codorniz	%
Curvas de congelamiento	Descenso desde 4 hasta -160 °C con frecuencia de 15, 20, 25 °C /minuto	°C /minuto
Dependiente		
Motilidad total	Movimiento total de espermatozoide de toros a escala de 0 a 5 grados	%
Motilidad progresiva	Movilidad progresiva total de espermatozoides	%
Vitalidad	Número de espermatozoides vivos	%



CAPÍTULO III

MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

3.1 Antecedentes

- a) Huamanñahui (8), En su trabajo de investigación “Evaluación del dilutor Tris con yema de huevo de codorniz antes y después de la congelación de espermatozoides epididimarios de toros criollos postmortem”, encontró diferencias significativas en la motilidad total entre el semen fresco ($82.5 \pm 8.78\%$) y congelado ($38.9 \pm 9.66\%$): en la motilidad individual progresiva en el semen fresco ($35.1 \pm 6.33\%$) y congelado ($16.9 \pm 4.39\%$): y una vitalidad de 85.8, 54.7% respectivamente.
- b) Marin (9), En su estudio de investigación “Comparación del acción del efecto de la y o de la yema de hue ema de huevo de codorniz, pata y o de codorniz, pata y gallina sobre las variables espermáticas de toros antes y después del proceso de criopreservación, encontró diferencias estadísticas en la motilidad individual 78.4 %, 63.1% respectivamente, en la vitalidad 65.7%, 52.5% respectivamente con dilutor yema de huevo de codorniz.
- c) Carpio (10), en su trabajo de investigación “Evaluación de dos diluyentes para la crioconservación de semen bovino: yema de huevo vs leche descremada”, encontró una motilidad individual con un dilutor tris yema de huevo antes de congelar un 82.5%, y un 80% post descongelacion.
- d) Cabrera et al (11), en su trabajo de investigación “Efecto del dilutor tris y citrato con yema de huevo de cordorniz sobre la viabilidad espermática en semen ovino congelado en pajillas,” la motilidad del semen refrigerado, previo a la congelación y conservado con dilutor Tris fue 82.3% y con Citrato de 79.2%. La motilidad, luego de



la descongelación fue de 62.0 y de 56.8% para los dilutores Tris y Citrato, respectivamente.

- e) Quispe (12) encontró en semen fresco $44.76 \pm 10.31\%$ motilidad individual progresiva, y para semen descongelado 19.57 ± 5.18 . Valverde (12) encontró espermatozoides colectados de epidídimo en semen descongelado 33.4 ± 2.4 a $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$; 22.8 ± 2.81 a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Saavedra (13) obtuvo una vitalidad en semen fresco de 77.17 ± 6.05 , siendo inferiores a nuestros resultados. Esto podría deberse principalmente a la concentración y el componente de los Dilutores, la edad del animal.

3.2 Marco teórico

3.1.1 Situación ganadera del ganado bovino

La población bovinos en el Perú es de 5,2 millones de cabezas según el IV CENAGRO, 2012 (15), incrementando un 14.7% y 35.3% en comparación a los años 1994 y 1972, respectivamente. El 63.9% de los bovinos son Criollos, siendo las razas predominantes Brown Swiss (17.6 %), Holstein (10.3 %) y Cebú (3.4%). El 73% se encuentra en la sierra, 12 % en la costa y 15 % en la selva según el MINAGRI, 2017 (16).

3.1.2 Taxonomía

Clase	Mamíferos
Orden	Ungulados
Familia	Bóvidos
Genero	Bos
Especie	Bos Taurus

Saavedra et al (17)

3.1.3 Raza Fleckvieh

La raza bovina Fleckvieh se genera en Alemania y procede del cruce de Simmenthal suizo con razas que existían localmente del sur de Alemania, con aptitud de producción de leche, carne, la raza se viene criando en Perú en sistemas de producción muy diversos, orientados generalmente al aprovechamiento de pastos



y recursos propios de las explotaciones distribuidas en todo el país en cantidad en crecimiento.

Las nodrizas de aptitud cárnica son buenas productoras de leche en cantidad y calidad, permitiendo al ternero desarrollar todo su potencial cárnico con rápidos crecimientos y buenos índices de conversión (2000 gr./G.M.D y 5, respectivamente). Las canales son tipo-U (muy buena conformación) con rendimientos medios del 60%. La calidad de la carne, por sus características organolépticas, de color, terneza y jugosidad, propias de carnes provistas de cierta infiltración grasa en el tejido muscular (marmoreo), es muy apreciada por los consumidores (18).

3.1.4 Criopreservación espermática

La Criopreservación tiene como objetivo fundamental prolongar la viabilidad de los espermatozoides de forma indefinida, ya que a temperatura ambiente o de refrigeración los espermatozoides se degeneran con cierta rapidez, debido principalmente al agotamiento de las reservas energéticas. La inseminación artificial con semen congelado ha demostrado ser la tecnología reproductiva que más ha contribuido a acelerar el progreso genético de las diferentes especies ganaderas, especialmente del ganado vacuno de aptitud láctea; sin embargo, el éxito de esta tecnología depende de que el semen utilizado mantenga su poder fecundante tras su descongelación. Para conseguir dicho objetivo, en todo protocolo de congelación seminal han de controlarse rigurosamente los sucesivos pasos que constituyen el proceso de Criopreservación, y de forma especial aquellos que influyen más directamente sobre la estructura y función de las membranas espermáticas, y sobre el metabolismo celular (19).

3.1.5 Dilutores del semen bovino

El diluyente seminal debe aportar fuente de energía, no debe deteriorarse durante el almacenamiento previo a su uso, debe proteger a los espermatozoides durante el enfriamiento, congelación y descongelación, y finalmente, debe ser resistente al crecimiento bacteriano (20, 21). Así mismo, debe reunir una serie de propiedades básicas relacionadas con su pH, capacidad tampón, osmolaridad, y fuerza iónica. Los diluyentes utilizados para la congelación del semen de la mayoría de las especies domésticas invariablemente incluyen los siguientes ingredientes:



- Agua bidestilada o ultrapura, como disolvente para el resto de los componentes.
- Sustancias iónicas y no iónicas para mantener la osmolaridad y amortiguar el pH del medio.
- Materiales orgánicos, generalmente yema de huevo o leche, con capacidad para prevenir o atenuar el shock por frío.
- Agentes crioprotectores, normalmente el glicerol.
- Azúcares simples como fuente de energía, o di y trisacáridos como crioprotectores adicionales.
- Antibióticos para controlar el crecimiento bacteriano (22).

3.1.6 Yema de huevo en la criopreservación espermática

La yema de huevo como las proteínas de la leche representan un riesgo higiénico por tratarse de productos de origen animal, y por tanto, su uso podría asociarse a la introducción de contaminación microbiana en las muestras de semen, con la consiguiente producción de endotoxinas capaces de dañar la capacidad fecundante de los espermatozoides (23). Además, la presencia de hormonas esteroideas en la yema de huevo, se ha sugerido que puede reducir la capacidad fecundante de los espermatozoides. Por otra parte, la yema de huevo y la leche contienen partículas groseras que interfieren en la valoración de la calidad espermática.

La estructura del huevo de codorniz está compuesta por la yema en 42.3%. clara 46.1%, membrana 1.4%, y cascara 10.2%. en la yema se encuentra las principales vitaminas, lípidos y minerales del huevo y por ello es la parte nutricionalmente más valiosa. Contiene agua aproximadamente del 50%. El huevo de codorniz tiene una concentración mayor de proteínas, extracto de etéreo y calcio en los huevos de codorniz que en los de gallina, de la misma manera la concentración de ácidos grasos omega 3 del tipo ácido eicosapentaenoico (epa) en los huevos de codorniz es tres veces mayor que en los huevos de gallina (24).

Tabla 02. Comparación de composición de huevo de gallina y codorniz

	100 g de porción comestible	
	Gallina	Codorniz
Agua	75.3	74.4
Proteína	12.50	13.10
Lípidos totales	10.00	11.10
Cenizas	0.94	1.11



Fosforo (mg)	178.00	226.00
Sodio (mg)	126.00	141.00
Potasio (mg)	121.00	132.00
Calcio (mg)	49.00	64.00
Magnesio (mg)	10.00	12.50

Mendiola (26).

La comparación del huevo de codorniz y gallina está basada en los contenidos de colesterol y perfil de ácidos grasos de huevos de codorniz y gallina, son los habitualmente se consumen o comercializan. La composición proximal se determina utilizando técnicas específicas (25).

3.1.7 Evaluación de semen

3.1.7.1 Motilidad espermática

La motilidad espermática es la capacidad que tiene el espermatozoide para fecundar a un ovocito, en el cual este parámetro es el más utilizado para valorar la calidad de un eyaculado o de una dosis seminal. La motilidad activa de los espermatozoides es imprescindible para la colonización del oviducto durante la fase de transporte, y para que tenga lugar la fecundación. Además, la motilidad es la expresión de viabilidad espermática y de integridad celular. Un eyaculado con un porcentaje bajo de espermatozoides móviles, o ausencia de motilidad, automáticamente es descartado para su conservación (27, 28).

La capacidad de movimiento adquirida por los espermatozoides de diferentes especies se da durante la etapa de maduración a lo largo del epidídimo (29). Cuando la maduración epididimal se ha completado, los espermatozoides se mantienen en estado quiescente durante algunos días en la cola del epidídimo (30).

La observación visual de una muestra de semen con un microscopio de contraste de fases y platina a 37°C es una valoración subjetiva que se le da a la motilidad espermática. En el eyaculado de los rumiantes debido a la elevada concentración espermática, se puede valorar la motilidad masal, definida como el movimiento en remolinos del total de espermatozoides de la muestra valorada de forma subjetiva en una escala de 0 a 5, con una



puntuación de 5 cuando se observan oleadas o remolinos con movimientos rápidos y vigoroso, y de 0 cuando no se observa movimiento en ondas. Después de la dilución del eyaculado fresco, o la descongelación del semen congelado, se estima el porcentaje de motilidad progresiva. Las dosis descongeladas con una motilidad progresiva inferior al 40% normalmente se descartan para su uso en inseminación artificial (31).

3.1.7.2 Vitalidad espermática

El estudio de la viabilidad espermática describe la integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides, mediante el uso de dos fluorocromos combinados: uno de ellos sólo es capaz de atravesar las membranas plasmáticas dañadas o degeneradas, y por tanto permite identificar a las células muertas o en proceso de degeneración, mientras que el otro es capaz de atravesar membranas celulares intactas y por tanto permite identificar la población de células viables (32).

Con respecto a la correlación entre la viabilidad espermática y la capacidad fecundante del espermatozoide hay discrepancia entre los autores (33, 34), hablan de una correlación elevada entre la viabilidad espermática y la capacidad fecundante de las dosis, siempre que se respete una concentración espermática mínima por pajuela. Sin embargo (35), observó que la viabilidad espermática apenas se correlacionaba con la fertilidad. Los marcadores para viabilidad espermática pueden usarse en combinación con otros fluorocromos que permiten valorar otras estructuras del espermatozoide, como la integridad de la membrana acrosomal o la funcionalidad mitocondrial

3.3 Marco conceptual

- a) **Semen.** El semen es el conjunto de espermatozoides y sustancias fluidas que se producen en el aparato genital masculino de los animales y de la especie humana (36). Así mismo, Christensen et al (37), define como una suspensión celular líquida que contienen 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.
- b) **Curvas de congelamiento.** Es el proceso de congelación del semen exponiendo los espermatozoides a una pérdida de agua y a un incremento de la concentración de



solutos dentro y fuera de la célula, buscando una velocidad y tiempo óptimo de congelación para prevenir la formación de cristales intracelulares y minimizar el tiempo de exposición a la concentración de solutos. El enfriamiento debe realizarse de forma lenta, con el fin de mantener las características de las proteínas del plasma seminal que interaccionarán con las del núcleo espermático (38).

- c) **Motilidad total.** La motilidad total consiste en observar las ondas que produce una masa espermática en movimiento y debe realizarse inmediatamente después de la obtención del eyaculado en condiciones isotermas.

Tabla 03. Clasificación de motilidad en masa del semen

Clasificación	Características	Porcentaje (%)
Muy bueno	Movimientos masivo muy marcado y rápidos	70 - 100
Bueno	Movimientos en masa aparente, pero moderados	50 - 69
Suficiente	Ondas en movimientos apenas apreciables	30 - 409
Pobre	No hay ondas, semen sin movimiento	< 30

Olivera (35).

- d) **Motilidad individual progresiva.** La motilidad progresiva consiste en estimar el porcentaje de espermatozoides con movimiento en una muestra de semen diluido en una solución isoosmótica (39). La motilidad individual de una muestra de semen se expresa como el porcentaje de células móviles bajo un campo microscópico. Esta prueba de la motilidad debe hacerse con la ayuda de un microscopio óptico (aumento 100X) a una temperatura de 37 °C (40).

Tabla 04. Evaluación descriptiva de la motilidad individual progresiva

Clasificación	Porcentaje (%)
Muy bueno	80 – 100
Bueno	60 -79
Suficiente	40 -59
Pobre	< 40

- a) **Vitalidad.** Mide el número de espermatozoides vivos y se expresa como el porcentaje de células muertas. Los espermatozoides no son capaces de volver a sellar la



plasmalema comprometida, y por lo tanto, no puede mantener esas concentraciones de iones y co factores esenciales para la supervivencia de los espermatozoides (35).

Para medir la vitalidad de una muestra de semen, se utilizan colorantes vitales, tales como el colorante eosina-nigrosina, con el cual los espermatozoides muertos serán teñidos de color rojo o en rosa, mientras que los vivos quedan sin teñir; aquellos espermatozoides que se observan en la lámina sin teñirse son aquellos espermatozoides que poseen una membrana celular intacta y no permeable al paso del colorante (35).

- e) **Dilutor.** El Dilutor es una solución acuosa que permite aumentar el volumen del eyaculado, preservar las características funcionales de los espermatozoides y mantener el nivel de fertilidad adecuado (41).
- f) **Criopreservación.** La Criopreservación es el proceso por el son congelados las células o tejidos a muy bajas temperaturas, por lo general a temperatura de ebullición del nitrógeno líquido (-196 °C), para poder mantenerlo en condiciones de vida suspendida por mucho tiempo (42).



CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1 Tipo y nivel de investigación

Tipo de investigación es Experimental, El nivel de investigación es relacional, porque se busca entender la relación o asociación entre variables, sin establecer causalidad (43).

4.2 Diseño de la investigación

El diseño es completamente experimental, se formaron tres grupos de tratamiento de dilutores de espermatozoides, tris yema de huevo de codorniz 5%, 10%, y gallina al 20%. Tres curvas de congelamiento 15°C/ minuto, 20°C/ minuto y 25°C/ minuto.

4.3 Población y muestra

La población fue representada por eyaculados (tres) del semen de un toro de raza Fleckvieh.

El tamaño muestral fue por conveniencia. Se utilizó semen de un toro de raza Fleckvieh de tres colecciones (eyaculados) cada 15 días

4.4 Procedimiento

4.4.1 Toma de muestras

La colección de semen fue por el método de la vagina artificial que consiste en un tubo cilíndrico de plástico rígido y resistente, de siete centímetros de diámetro y 35 a 40 centímetros de largo, recubierto internamente por una camisa de goma que se dobla sobre los extremos del cilindro formando una cámara que se llena con agua caliente (45 a 46 °C) y aire, con el fin de proveer el estímulo adecuado de temperatura y presión, lográndose así la eyaculación.

4.4.2 Colección del semen mediante la vagina artificial

Para la monta se utilizó como señuelo una vaca. Así mismo, Antes de colectar el semen se tomó en cuenta dos aspectos importantes: la higiene y el estímulo del semental.



En este sentido, se apoyó con el método la monta falsa, que consiste en permitir al semental montar sobre el señuelo y desviar el pene tomando con la palma de la mano la piel del prepucio sin ofrecerle la vagina.

En el siguiente intento de monta se colocó la punta del pene desviado en la entrada de la vagina; inmediatamente el toro se lanzó hacia delante en un empuje final que acompañó a la eyaculación.

- El área de recolección de semen conto con un puesto de monta, piso sólido y anti resbalante, defensas de seguridad.
- Para proceder a la recolección del eyaculado con el animal y la vagina artificial, con la mano derecha se sostuvo la vagina artificial, se colocó el extremo lubricado por delante del pene, y como respuesta al estímulo (presión y temperatura) semejante a la vagina de la vaca en celo, el toro penetro la vagina en toda su extensión, realizando lo que se conoce como golpe de lomo, después de la eyaculación el animal desmonto casi inmediatamente.
- Se procedió a retirar el tubo graduado (conteniendo el eyaculado), protegiéndolo debidamente de la luz solar directa, cambios drásticos de temperatura (choque térmico) y contaminación, se identificó la muestra y se llevó al laboratorio para su procesamiento inmediato.

4.4.3 Evaluación del semen

a. Evaluación macroscópica

La primera evaluación que se realizo fue la macroscópica, que consta de los siguientes pasos:

- **Volumen:** Se observó directamente sobre el tubo graduado, y se registró el volumen obtenido.
- **Color:** Se consideró normales los colores que van del blanco al amarillento, siendo patológicos, los colores rosado, amarronado y verdoso.
- **pH:** Para ver si está dentro del parámetro entre 6.8 a 7.5.

La evaluación macroscópica fue para ver la viabilidad del semen, no fue parte del estudio estas variables porque solo fue de un toro.

b. Evaluación microscópica

Motilidad total. Para la evaluación de la motilidad total de espermatozoides del semen colectado, se mezcló 5µl de espermatozoides con 10 µl de cloruro de sodio al

0.9% a 37°C en tubos eppendorf de 2 ml. Se aspiró 5µl y se colocó sobre la lámina portaobjetos que se encuentra sobre una platina a 37°C.

Se consideró la cantidad de espermatozoides motiles del total de 200 espermatozoides observados en varios campos microscópicos por cada tratamiento antes y después de la congelación del semen. Así mismo, se colocó una gota del semen sobre un portaobjetos atemperado a 37°C, sobre una platina térmica de microscopio, y se observó a 40 X de aumento.

Motilidad individual progresiva. Se consideró a la motilidad de espermatozoides con movimientos rectilíneos y progresivos que atraviesan el campo del microscopio observado.

Para la evaluación se depositaron 5 µl de espermatozoides colectados en una lámina de portaobjetos previamente atemperadas, luego se cubrió con láminas cubre laminas y se observó a 40X. Se consideró cuando un espermatozoide cruzo un campo microscópico. Se expresó en porcentajes del total de 200 espermatozoides contados.

Vitalidad espermática. La viabilidad espermática fue evaluada utilizando una solución de eosina/nigrosina. Se realizó un frotis preparado con una alícuota de 5 µl de la solución y la misma cantidad espermática. Se contó 200 células en microscopio óptico a 100X, se consideró espermios muertos aquellos coloreados.

c. Preparación de Dilutores

Tabla 05. Composición del dilutor Tris – yema de huevo de codorniz y gallina

Componente	TYHC 5%	TYHC 10%	TYHG 20%
Tris (g)	3.63	3.63	3.63
Ácido cítrico (g)	1.99	1.99	1.99
Glucosa (g)	0.50	0.50	0.50
Yema de huevo de codorniz	5	10	20
(%) *			
Glicerol (%) ***	5	5	5
Penicilina (UI)	100 000	100 000	100 000
Agua bidestilada (ml)	100	100	100

Concentración del grupo tratamiento (*), concentración del grupo control (**), para la fracción B (***).

d. Congelación de semen

Enfriamiento. Se realizo en 2 horas hasta llegar a 15 °C, luego fue colocado a refrigeración a 4 °C por dos horas hasta su equilibramiento.



Se colocó en dos tubos (fracción A y B, este último contenía al glicerol)

Luego se unió las dos fracciones antes de cargado de la pajilla.

Cargado de pajilla. Se utilizó pajuelas de 0.5 ml, los cuales fueron identificados de acuerdo con el diluyente y curva de congelamiento, luego fueron sellados con alcohol polivinílico.

Estabilización. Una vez preparado la pajuela con el semen fresco (sin congelar), se mantuvo en un refrigerador para su estabilización, a una temperatura de 5 °C, este proceso duró entre 3 y 5 horas aproximadamente.

Curvas de congelamiento. Para la curva de congelamiento se formaron 3 niveles:

Curva 1: Descenso desde 4 hasta -160 °C con frecuencia de 15 °C/min.

Curva 2: Descenso desde 4 hasta -160 °C con frecuencia de 20 °C/min.

Curva 3: Descenso desde 4 hasta -160 °C con frecuencia de 25 °C/min.

Almacenamiento. Se almacenó en tanque criogénico a -196 °C. Colocados en canastillas identificadas

Descongelamiento. Se realizó con una terna a 37 °C por un min.

Luego se evaluó después de 3 días de congelado, según las variables de respuesta.

4.5 Técnica e instrumentos

4.5.1 Material Biológico

- Toro de 2 años

4.5.2 Materiales y equipos de laboratorio

- Baño maría
- Pajuelas de semen de 0.5µl
- Microscopio óptico
- Vagina artificial

4.5.3 Materiales de escritorio

- Papel bond A4
- Laptop
- Impresora
- Cámara fotográfica

4.6 Análisis estadístico



e. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SAS v 9.4. Las variables de respuesta se comprobaron la normalidad y homogeneidad de varianza mediante la prueba de Shapiro – Wilk a través del procedimiento UNIVARIATE, luego se utilizó el procedimiento GLM (modelo lineal general) para datos desbalanceados y se realizó el análisis de varianza bajo diseño completamente azar determinando la significancia ($P < 0.05$) entre grupos cuyo modelo fue:

Modelo lineal generalizado

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Y_{ij} = Representa la variable de respuesta (motilidad total, motilidad progresiva, vitalidad)

μ = Media general

T_i = Es el Efecto del tratamiento (Tris – yema de huevo de codorniz 5, 10%; Tris - yema de huevo de gallina 20%)

ϵ_{ijk} = Error experimental

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Análisis de resultados

5.1.1 Motilidad total

En la tabla 04. Se observa diferencias significativas ($p < 0.05$) antes de congelar el semen con Dilutores tris yema de huevo de codorniz al 5 y 15% (71.92 ± 3.84 , 74.67 ± 12.39) respectivamente y gallina 20% (82.73 ± 3.98). En la congelación con el Dilutor Tris yema de huevo de codorniz al 5% muestran diferencias significativas en la curva $20^\circ\text{C}/\text{min}$ (21.76 ± 1.40), con las curvas $15^\circ/\text{min}$ y $25^\circ\text{C}/\text{min}$ (18.10 ± 1.90 , 17.43 ± 1.31), respectivamente. En la congelación con el Dilutor Tris yema de huevo de codorniz al 15% muestran diferencias significativas en la curva $20^\circ\text{C}/\text{min}$ (36.68 ± 2.33), con las curvas $15^\circ/\text{min}$ y $25^\circ\text{C}/\text{min}$ (32.69 ± 1.44 , 33.24 ± 1.45) respectivamente. En la congelación con el Dilutor Tris yema de huevo de Gallina al 20% muestran diferencias significativas en la curva $15^\circ\text{C}/\text{min}$ (55.29 ± 1.54), con las curvas $15^\circ/\text{min}$ y $25^\circ\text{C}/\text{min}$ (46.99 ± 1.47 , 46.20 ± 1.09) respectivamente.

Tabla 06. Motilidad total (media \pm desviación estándar) de espermatozoides con Dilutor Tris – yema de huevo de codorniz y gallina en Criopreservación

% de Yema de huevo	N	Fresco	Curvas de congelamiento		
			C 1 ($15^\circ\text{C}/\text{min}$)	C2 ($20^\circ\text{C}/\text{min}$)	C3 ($25^\circ\text{C}/\text{min}$)
TYHC (5%)	15	71.92 ± 3.84^a	18.10 ± 1.90^b	21.76 ± 1.40^c	17.43 ± 1.31^b
TYHC (10%)	15	74.67 ± 2.39^d	32.69 ± 1.44^e	36.68 ± 2.33^f	33.24 ± 1.45^e
TYHG (20%)	15	82.73 ± 3.98^g	46.99 ± 1.47^h	55.29 ± 1.54^i	46.20 ± 1.09^h

Los datos representan la media \pm desviación estándar. (a, b, c, d, e, f, g, h). Muestran diferencias significativas entre las curvas de congelamiento, y la adición de yema de huevo de codorniz y gallina del estudio ($p < 0.05$). Las mismas letras no muestra diferencias significativas entre los lugares del estudio ($p > 0.05$).



5.1.2 Motilidad progresiva

En la tabla 05. Se observa similitudes en el semen antes de congelar con Dilutores tris yema de huevo de codorniz al 5 y 10% (37.53 ± 1.27 , 36.28 ± 2.36), respectivamente; Sin embargo, existe diferencia significativa con el Dilutor Tris yema de huevo de gallina al 20% (41.88 ± 2.69). En la congelación con el Dilutor Tris yema de huevo de codorniz al 5% muestran diferencias significativas en la curva $15^\circ\text{C}/\text{min}$ (13.64 ± 2.28), con las curvas $20^\circ\text{C}/\text{min}$ y $25^\circ\text{C}/\text{min}$ (15.39 ± 2.11 , 15.61 ± 2.87), respectivamente. En la congelación con el Dilutor Tris yema de huevo de codorniz al 15% muestran diferencias significativas en la curva $20^\circ\text{C}/\text{min}$ (26.34 ± 2.30), con las curvas $15^\circ/\text{min}$ y $25^\circ\text{C}/\text{min}$ (24.33 ± 2.43 , 24.43 ± 1.41), respectivamente. En la congelación con el Dilutor Tris yema de huevo de Gallina al 20% muestran diferencias significativas en la curva $15^\circ\text{C}/\text{min}$ (33.71 ± 1.77), con las curvas $15^\circ/\text{min}$ y $25^\circ\text{C}/\text{min}$ (31.43 ± 2.70 , 31.68 ± 1.92), respectivamente.

Tabla 07. Motilidad progresiva (media \pm desviación estándar) de espermatozoides con Dilutor Tris – yema de huevo de codorniz y gallina en Criopreservación

% de Yema de huevo	N	Fresco	Curvas de congelamiento		
			C 1 ($15^\circ\text{C}/\text{min}$)	C2 ($20^\circ\text{C}/\text{min}$)	C3 ($25^\circ\text{C}/\text{min}$)
TYHC (5%)	15	37.53 ± 1.27^a	13.64 ± 2.28^b	15.39 ± 2.11^c	15.61 ± 2.87^c
TYHC (10%)	15	36.28 ± 2.36^a	24.33 ± 2.43^d	26.34 ± 2.30^e	24.43 ± 1.41^d
TYHG (20%)	15	41.88 ± 2.69^f	31.43 ± 2.70^g	33.71 ± 1.77^h	31.68 ± 1.92^g

Los datos representan la media \pm desviación estándar. (a, b, c, d, e, f, g, h). Muestran diferencias significativas entre las curvas de congelamiento, y la adición de yema de huevo de codorniz y gallina del estudio ($p < 0.05$). Las mismas letras no muestra diferencias significativas entre los lugares del estudio ($p > 0.05$).

5.1.3 Vitalidad espermática

En la tabla 06. Se observa diferencias significativas ($p < 0.05$) antes de congelar el semen con Dilutores tris yema de huevo de codorniz al 5 y 10% (81.97 ± 1.79 , 87.95 ± 1.97) respectivamente y gallina 20% (93.15 ± 1.99). En la congelación con el Dilutor Tris yema de huevo de codorniz al 5% muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) en la curva $20^\circ\text{C}/\text{min}$ (23.53 ± 0.92), con las curvas $15^\circ/\text{min}$ y $25^\circ\text{C}/\text{min}$ (20.79 ± 1.24 , 20.89 ± 1.53) respectivamente. En la congelación con el Dilutor Tris yema de huevo de codorniz al 10% muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) en la curva $20^\circ\text{C}/\text{min}$ (42.47 ± 1.13), con las curvas $15^\circ\text{C}/\text{min}$ y $25^\circ\text{C}/\text{min}$ (39.29 ± 10.01 , 38.89 ± 1.93) respectivamente. En la congelación con el Dilutor Tris yema de huevo de Gallina al



20% muestran diferencias significativas ($p < 0.05$) en la curva $15^\circ\text{C}/\text{min}$ (55.65 ± 1.28), con las curvas $20^\circ\text{C}/\text{min}$ y $25^\circ\text{C}/\text{min}$ (52.16 ± 1.71 , 53.35 ± 1.8^h) respectivamente.

Tabla 08. Motilidad total (media \pm desviación estándar) de espermatozoides con Dilutor Tris – yema de huevo de codorniz y gallina en Criopreservación

% de Yema de huevo	n	Fresco	Curvas de congelamiento		
			C 1 ($15^\circ\text{C}/\text{min}$)	C2 ($20^\circ\text{C}/\text{min}$)	C3 ($25^\circ\text{C}/\text{min}$)
TYHC (5%)	15	81.97 ± 1.79^a	20.79 ± 1.24^b	23.53 ± 0.92^c	20.89 ± 1.53^b
TYHC (10%)	15	87.95 ± 1.97^d	39.29 ± 10.01^e	42.47 ± 1.13^f	38.89 ± 1.93^e
TYHG (20%)	15	93.15 ± 1.99^g	52.16 ± 1.71^h	55.65 ± 1.28^i	53.35 ± 1.08^h

Los datos representan la media \pm desviación estándar. (a, b, c, d, e, f, g, h). Muestran diferencias significativas entre las curvas de congelamiento, y la adición de yema de huevo de codorniz y gallina del estudio ($p < 0.05$). Las mismas letras no muestra diferencias significativas entre los lugares del estudio ($p > 0.05$).

5.2 Discusión

En la motilidad espermática total antes de congelar se observa una mayor motilidad total de los espermatozoides antes de ser congelados usando el tris yema de huevo de gallina al 20% (82.73 ± 3.98), seguidamente del 10% de tris yema de huevo de codorniz (74.67 ± 2.39), y al 5% de tris de yema de huevo de codorniz en promedio (71.92 ± 3.84). estos resultados difieren de los encontrados por Huamanñahui (7) en donde encontró un 84.3 ± 7.27 de motilidad total a un 15% de tris yema de huevo de codorniz, y un 82.3 ± 9.21 al 20% de tris yema de huevo de gallina. Esta variación se debe a que la colección de semen se realizó mediante una vagina artificial, y no a aspiración directa de la cola del epidídimo.

Con respecto a las curvas de congelación que se obtuvo una mayor motilidad total con la curva de $20^\circ/\text{min}$ al 20% de tris de yema de huevo de gallina (55.29 ± 1.54), y al 15% de tris de yema de huevo de codorniz (36.68 ± 2.33). Estudios sobre motilidad total reportados por Quispe (2015) fueron de 49.26 ± 15.68 , en semen descongelado a una curva de $5^\circ\text{C}/\text{min}$. Martins et al (2009) reporto 51.6 ± 11.6 de motilidad total, estos resultados se encuentran por debajo de nuestros resultados.

Las variaciones se podrían referir al tiempo de congelación de los espermatozoides, los componentes de los Dilutores, cantidad de Dilutor, edad del animal, entre otros factores. La yema de huevo tiene un efecto beneficioso sobre la motilidad a un 10 y $5^\circ\text{C}/\text{min}$ (41). Las proteínas de la yema de huevo como la lecitina realizan acción protectora para los espermatozoides frente al Shock de frio y manteniendo la vitalidad del espermatozoide.



Por otro lado, la Fracción lipídica de la yema de huevo preservan la motilidad e integridad de las membranas del acrosoma y mitocondrias del espermatozoide (10).

La yema de huevo de codorniz tiene más fosfatidicolina, ácidos grasos poliinsaturados y menos fosfatidiletanolamina, por lo que mejora la motilidad antes de congelar y después de congelar (41). El efecto de la yema de huevo de codorniz y gallina, fueron similares, esto debido al porcentaje de inclusión al Dilutor. Sin embargo, son satisfactorios estos resultados obtenidos.

En la motilidad individual progresiva antes de congelar se observa una mayor motilidad progresiva de los espermatozoides antes de ser congelados usando el tris yema de huevo de gallina al 20% (41.88 ± 2.69), seguidamente del 5% de tris yema de huevo de codorniz (37.54 ± 1.27), y al 10% de tris de yema de huevo de codorniz en promedio (36.28 ± 2.36). Estos resultados son similares a los encontrados por Huamanñahui (7) en donde encontró un 35.7 ± 6.13 de motilidad total a un 15% de tris yema de huevo de codorniz, y un 34.6 ± 5.08 al 20% de tris yema de huevo de gallina.

Esta similitud podría deberse a que los porcentajes actúan mejor sobre la motilidad individual progresiva y la motilidad total., así mismo, a la forma de colección del semen, ya que en el epidídimo estos espermatozoides están capacitados al igual que después de la eyaculación. Sin embargo, difieren a los encontrados por Marin (8), 78.4% antes de congelar y 63.1% después de congelar, esto puede ser influenciado por edad del animal y el número de muestras, y factores ambientales.

Con respecto a las curvas de congelación que se obtuvo una mayor motilidad progresiva con la curva de $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ al 20% de tris de yema de huevo de gallina (33.71 ± 1.77), y al 10% de tris de yema de huevo de codorniz (26.34 ± 2.30), y 13.64 ± 2.28 al 5% de tris yema de huevo de codorniz, esto nos indica que menor concentración del Dilutor de tris yema de huevo, el porcentaje de motilidad disminuye, teniendo una relación directa sobre la motilidad progresiva.

Estudios sobre motilidad individual progresiva reportados por Quispe (11) fueron de 44.76 ± 10.31 para semen fresco, y para semen descongelado 19.57 ± 5.18 . nuestros resultados son superiores después de descongelar, esto puede ser debido a que el semen que se estudio fue de eyaculación. Sin embargo, Valverde (12) encontró espermatozoides colectados de epidídimo en semen descongelado 33.4 ± 2.4 a $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$; 22.8 ± 2.81 a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Siendo estos resultaos superiores a nuestros resultados.

Estas diferencias encontradas, podrían deberse a la concentración del Dilutor tris yema de huevo, el protocolo de dilución, las curvas de congelación, procedimiento de evaluación



espermática, y la edad del animal, frecuencia de extracción del semen y la forma de colección del semen.

En la vitalidad espermática antes de congelar se observa una mayor vitalidad de los espermatozoides antes de ser congelados usando el tris yema de huevo de gallina al 20% (93.15 ± 1.99), seguidamente del 10% de tris yema de huevo de codorniz (87.95 ± 1.97), y al 5% de tris de yema de huevo de codorniz en promedio (81.97 ± 1.79). estos resultados son superiores a los encontrados por (7) en donde encontró un 86.2 ± 2.20 de vitalidad a un 15% de tris yema de huevo de codorniz, y un 85.8 ± 3.99 al 20% de tris yema de huevo de gallina.

Saavedra et al (13) obtuvo una vitalidad en semen fresco de 77.17 ± 6.05 , siendo inferiores a nuestros resultados. Esto podría deberse principalmente a la concentración y el componente de los Dilutores, la edad del animal.

El Dilutor tris yema de huevo de codorniz al 10% a una curva de congelación de $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ muestra mejores resultados (42.47 ± 1.13) de vitalidad, sin embargo el Dilutor tris yema de huevo de gallina al 20% muestra resultados superiores (55.65 ± 1.28), estos resultados coincidiendo con (7), quien obtuvo un 55.2 ± 4.89 de vitalidad al 20% de Dilutor tris yema de huevo de gallina, y un 56.2 ± 3.46 con Dilutor tris yema de huevo de codorniz al 15%, siendo este último superior a los encontrados en nuestros resultados.



CAPÍTULO VI CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

- El mayor porcentaje de motilidad total en semen antes de congelar fue con el Dilutor tris yema de huevo de gallina al 20% (82.73%), seguido del Dilutor tris yema de huevo de codorniz al 10% (74.67%). Así mismo, en las curvas de congelación se evidencio en el Dilutor tris yema de huevo de gallina al 20% a 20°C/ min (55.29%) de motilidad total, seguido del 10% de Dilutor tris yema de huevo de codorniz (36.68%).
- En la motilidad progresiva el Dilutor tris yema de huevo de gallina tuvo mejores resultados con 41.88% de motilidad progresiva, seguidamente del Dilutor tris yema de huevo de codorniz al 5% (37.53%) en semen antes de congelar. Así mismo, en las curvas de congelación el Dilutor tris yema de huevo de gallina al 20% tuvo 33.71% de motilidad progresiva a 20°C/ min, sin embargo el Dilutor tris yema de huevo de gallina obtuvo mejores resultados a 25°C/ min (15.61%).
- En la vitalidad espermática el Dilutor tris yema de huevo de gallina al 20% tuvo resultados superiores 93.15%, seguido del Dilutor tris yema de huevo de codorniz al 10% (87.15%). Así mismo, en las curvas de congelación tuvo mejores resultados a 20°C/min (55.65%, 42.47%) respectivamente.

6.2 Recomendaciones

- Determinar otras características espermáticas referidas con a la morfología de espermatozoides.
- Evaluar el porcentaje de fertilidad usando pajillas congeladas con Dilutores de tris de yema de huevo de codorniz al 15%.

Comparar con otros Dilutores comerciales en la Criopreservación de semen bovino.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cabrera PL. Integridad de la membrana citoplasmática en semen refrigerado y congelado de toros usando dos dilutores sintéticos. 2021
2. Moussa M, Martinet V, Trimeche A, Tainturier D, Aton,M, Low density lipoproteins extracted from hen egg yolk by an easy method: cryoprotective effect on frozen-thawed bull semen. *Theriogenology*. 2002; 57: 1695-1706.
3. Sumar J, Leyva V. Colección de semen mediante vagina artificial en alpaca. *Proceeding of the IVth International Conference on South America Camelids*. Punta Arenas, Chile. 1981.
4. Bravo W, Alarcón V. Preservación de semen y Avances recientes en la Inseminación Artificial de Llamas y Alpacas *Spermova*. 2013; 3(2): 158 – 160.
5. O'connell M, McClure N, Lewis SEM. The effects of cryopreservation on sperm morphology, motility and mitochondrial function. *Human reproduction*. 2002; 17(3): 704-709.
6. Meyer RA, Barth AD. Effect of acrosomal defects on fertility of bulls used in artificial insemination and natural breeding. *The Canadian Veterinary Journal*. 2001; 42(8): 627.
7. Giraldo JJ. Una mirada al uso de la inseminación artificial en bovinos. *Revista Lasallista de investigación*. 2019; 16(1):244-252.
8. Huamanñahui AF. Evaluación del dilutor Tris con yema de huevo de codorniz antes y después de la congelación de espermatozoides epididimarios de toros criollos postmortem. 2018.
9. Marín LI. Comparación del efecto de la yema de huevo de codorniz, pata y gallina sobre las variables espermáticas de toros antes y después del proceso de criopreservación. 2014.
10. Carpio SV. Evaluación de dos diluyentes para la crioconservación de semen bovino: yema de huevo vs leche descremada (Bachelor's thesis). 2015.
11. Cabrera P, Ayulo A, Pantoja C. Efecto del dilutor TRIS y citrato con yema de huevo de cordoniz sobre la viabilidad espermática en semen ovino congelado en pajillas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. (2011); 22(2): 105-113.



12. Quispe A. Evaluación de la Supervivencia y Fertilidad In Vivo de Espermatozoides del epidídimo de toros criollos post mortem. *Universidad Nacional del Altiplano. Puno*; 2015.
13. Valverde EE. Efecto de dos temperaturas de almacenamientos (5 y 20° C) de epidídimos provenientes de toros de matadero sobre la calidad y congelabilidad de espermatozoides; 2016.
14. Saavedra GD, Gonzalez N, Gil L. Conservación seminal en toros Cebú. Efecto de la retirada del plasma seminal y su posterior incorporación sobre la calidad espermática en los protocolos de Criopreservación; 2018.
15. [CENAGRO]. IV Censo Nacional Agropecuario (IV CENAGRO). 2012.
16. [MINAGRI]. 2017. Ministerio de agricultura y riego. Situación de las actividades Ganado bovino en el Perú. 2017. disponible en: <http://minagri.gob.pe/portal/40-sector-agrario/situacion-del-ganado>.
17. Escobar J. Ganadería lechera con raza simmental (fleckvieh). Corporación Universitaria la Sallista Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias Administración de Empresas Agropecuarias Caldas – Antioquia. 2010.
18. Hammerstedt RH, Volonté C, Racker E. Motility, heat, and lactate production in ejaculated bovine sperm. *Archives of biochemistry and biophysics*. 1988; 266(1): 111-123.
19. Maule JP. The semen of animals and artificial insemination. *The semen of animals and artificial insemination*. 1962.
20. Mann T. The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. *The biochemistry of semen and of the male reproductive tract* 1964.
21. Salisbury GW, VanDemark NL, Lodge, J.R. Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle (No. Ed. 2): WH Freeman and Company; 1978.
22. Bousseau S, Brillard JP. In vitro and in vivo results of fertility in cattle, following inseminations performed with semen diluted and frozen in a diluent free of animal origin products (Biociphos Plus). In *European AI Vets. Sixth Meeting. Edinburgh, Scotland*; 1994.
23. Mendiola Chávez EM. Evaluación comparativa nutricional entre los huevos de codorniz japónica (*Coturnix coturnix*) y gallina criolla (*Gallus gallus*) en la primera etapa de postura; 2002.



24. Closa SJ, Marchesich C, Cabrera M, Morales JC. Composición de huevos de gallina y codorniz. *Arch. latinoam. Nutr.* 1999; 181-5.
25. Den Daas NJHG. Laboratory assessment of semen characteristics. *Animal Reproduction Science.* 1992; 28(1-4): 87-94.
26. Holt WV. Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences. *Theriogenology.* 2000; 53(1): 47-58.
27. Yanagimachi R. Mammalian fertilization. *The physiology of reproduction*; 1994.
28. Bedford JM. Maturation, transport and fate of spermatozoa in the epididymis. *Handbook of physiology.* 1975; 303-318.
29. NAAb (National Association of Animal Breeders) Technical conference proceedings 1986: 102.
30. Garner DL, Gledhill BL, Pinkel D, Lake S, Stephenson D, Van Dilla MA, Johnson LA. Quantification of the X-and Y-chromosome-bearing spermatozoa of domestic animals by flow cytometry. *Biology of Reproduction.* 1983; 28(2): 312-321.
31. Decuadro H, Camus A, Guy D. Assessment of bull semen characteristics by flow cytometry and their relation with non return rates: a preliminary study in France. In *14th Meeting European AI VETS.* 2002; 105-108.
32. Christensen P, Boelling D, Pedersen KM, Korsgaard IR, Jensen J. Relationship between sperm viability as determined by flow cytometry and nonreturn rate of dairy bulls. *Journal of andrology.* 2005; 26(1): 98-106.
33. Graham JK. Assessment of sperm quality: a flow cytometric approach. *Animal reproduction science.* 2001; 68(34): 239-247.
34. [Rae]. Real Academia Española. 2016. <http://www.rae.es/>.
35. Olivera JN. Manual de evaluación de semen en bovinos. Trabajo práctico educativo; 2009.
36. Martín JMD. Respuesta a la congelación descongelación del esperma de macho cabrio (Doctoral dissertation, Universidad de Córdoba (ESP); 2003.
37. Evans G, Maxwell WMC, Salamon S. Inseminación artificial de ovejas y cabras. Editorial Acribia. Zaragoza, España; 1990: 204.



38. Agüero G. Evaluación de las características semifinales de sementales bovinos mediante el analizador seminal computarizado (CASA). *Universidad central de Venezuela*; 2012.
39. Januskauskas A, Zilinskas H. Bull semen evaluation post-thaw and relation of semen characteristics to bull's fertility. *Veterinarija ir zootechnika*; 2002: 17-39.
40. Rueda M. Diluyentes para la conservación de semen porcino. *Rev. Comput. de Prod. Porc.* 2011; 18: 19-28.
41. Belascoain M, Diaz E, Hiiter S. Técnicas para la criopreservación de embriones bovinos; 2010.
42. Supo J. Niveles y tipos de investigación: Seminarios de investigación. Perú: Bioestadístico; 2015.
43. Fiser PS, Fairfull RW. The effects of rapid cooling (cold shock) of ram semen, photoperiod, and egg yolk in diluents on the survival of spermatozoa before and after freezing. *Cryobiology*. 1986; 23(6): 518-524.



ANEXOS





Figura 1. Preparación de dilutor tris yema de huevo



Figura 2. Preparación del semental de raza Fleshviek para la colección del semen



Figura 3. Colección de semen mediante vagina artificial



Figura 4 Evaluación espermática post colección del semen



Figura 5. Identificación de pajillas para empajillar el semen



Figura 6. Cargado de pajillas con semen diluido



Figura 7. Estabilización de pajillas con semen después de su cargado



Figura 8 Programación de las diferentes curvas de congelamiento

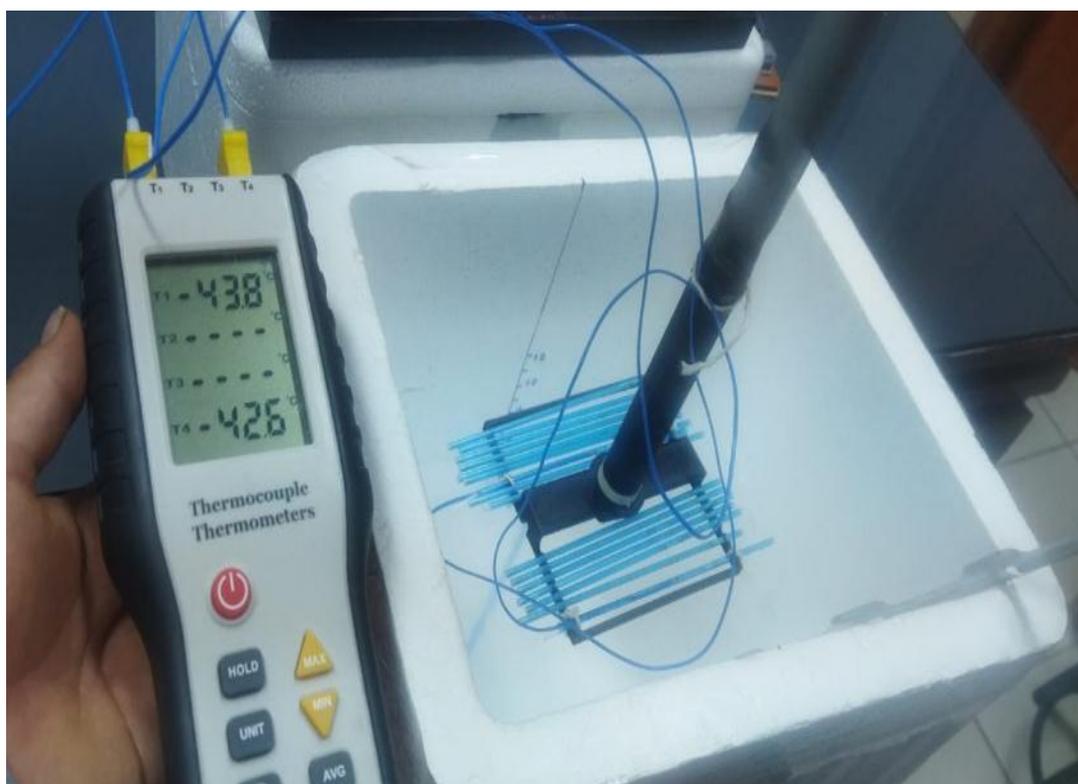


Figura 9. Congelamiento de las pajillas con las curvas de congelación.



Figura 10. Almacenamiento de pajillas en tanque criogénico.

Tabla 09. Datos obtenidos en motilidad total por concentración de tris yema de huevo, curvas de congelación y por número de eyaculado después de la congelación del semen.

N° de eyaculado	N° de pajillas	Concentración de tris yema de huevo								
		Huevo de codorniz 5%			Huevo de codorniz 10%			Huevo de gallina 20%		
Primer eyaculado	1	74	84.9	73.5	72.2	76.8	75.1	79.5	87.3	75.2
	2	72.8	77.1	74.1	72.6	76.1	75	81.8	86.4	76.6
	3	77.1	77.3	77.9	73	76.4	74.5	79.1	87.1	77.3
	4	76.3	76.8	73.6	72.8	76.6	74.8	78.3	86.8	80.1
	5	73.3	77.5	73.1	72.5	76.4	73.9	80.8	85.8	75
Segundo eyaculado	1	67.2	71.9	66.8	71.6	75.6	72.3	81.2	90.2	80.3
	2	67.4	72.1	67.1	72.8	74.8	72.8	80.7	89.8	80.5
	3	68.7	71.4	67.6	71.3	75.1	72.1	79.9	90.6	80.3
	4	67.5	72.8	67.4	71.2	75.8	72.6	80.1	90.3	79.2
	5	68.1	71.6	66.7	71.8	74.6	72.5	80.6	89.7	79.8
Tercer eyaculado	1	70.2	73.6	68.5	74.7	80.2	76.2	83.6	85.2	82.1
	2	70.8	72.7	69.8	74.1	80.6	75.7	83.8	85.5	82.5
	3	71.1	73.8	68.5	74.6	79.1	74.5	83.3	84.7	82.6
	4	70.6	72.5	68.6	73.8	79.5	74.9	84	86.2	82.1
	5	69.2	73.5	69.6	74.8	79.6	73.9	83.5	83.2	80.2

Tabla 10. Datos obtenidos en motilidad total por concentración de tris yema de huevo y por número de eyaculado antes de la congelación del semen.

N° de eyaculado	N° de pajillas	% Concentración de tris yema de huevo								
		Huevo de codorniz 5%			Huevo de codorniz 10%			Huevo de gallina 20%		
		15 °C	20° C	25° C	15 °C	20° C	25° C	15 °C	20° C	25° C
Primer eyaculado	1	15.8	19.2	16.8	30.3	34.8	32.1	47.6	53.8	46.8
	2	16.5	20	16.1	31.5	35.6	31.9	46.5	54.3	45.3
	3	16.1	22.3	16.7	33	34.6	32.3	45.6	54.1	47
	4	16.3	20.3	15.9	32.8	34.9	31.8	46.2	53.7	45.8
	5	15.9	19.6	15.5	32.5	35.2	32.6	47.9	53.4	46.6
Segundo eyaculado	1	17.2	21.9	16.8	31.6	35.6	32.4	46.2	55.2	45.3
	2	17.4	22.1	17.1	32.3	34.9	32.8	45.8	54.9	45.6
	3	18.6	21.3	17.6	31.2	35.1	32.1	44.9	55.6	45.2
	4	17.5	22.7	17.3	31.3	35.8	32.7	45.1	55.3	44.2
	5	18.1	21.6	16.7	31.8	34.7	32.6	45.7	54.7	44.8
Tercer eyaculado	1	20.2	23.6	18.3	34.7	40.2	36.2	48.7	58.6	46.9
	2	20.8	22.7	19.9	34.1	40.6	35.8	48.9	54.9	47.8
	3	21.1	23.2	18.5	34.6	39.1	34.5	48.3	55.6	47.6
	4	20.7	22.5	18.6	33.8	39.5	34.9	49	57.6	47.1
	5	19.3	23.4	19.6	34.8	39.6	33.9	48.5	57.6	47



Tabla 11. Datos obtenidos en motilidad rectilínea individual por concentración de tris yema de huevo y por número de eyaculado antes de la congelación del semen.

N° de eyaculado	N° de pajillas	% Concentración de tris yema de huevo								
		Huevo de codorniz			Huevo de codorniz			Huevo de gallina		
		5%			10%			20%		
Primer eyaculado	1	35.9	37.8	36.1	33.6	35.8	33.4	37.8	41.9	38.7
	2	35.7	37.1	36.7	33.5	35.1	33.7	38.5	41.5	39.5
	3	35.5	37.7	36.4	33.1	35	34.3	38.6	41.6	39.1
	4	35.8	37.3	37.1	32.9	35.6	34.3	38	41.2	38.9
	5	35.4	37.4	36.1	33.8	35.5	34.5	37.8	41.1	39.2
Segundo eyaculado	1	37.1	39.2	38.9	34.4	36.9	35.8	41.7	42.6	39.2
	2	37.2	39.8	38.7	34.5	36.2	35.4	41.4	42.1	39.9
	3	37.6	39.3	38.1	34.1	36.1	35.5	41.5	42.3	39.4
	4	37.8	39.4	38.2	34.7	36.6	35.6	41.6	42.2	39.1
	5	37.5	39	38.5	34.2	36.4	35	40.9	42.6	39
Tercer eyaculado	1	36.3	39.3	37.1	38.1	41.1	39	43.8	46.8	45.6
	2	36.7	39.2	37.3	37.6	40.3	39.4	43.1	46.1	45.4
	3	36.2	39.4	37.5	37.5	40.5	39.2	43.6	46.1	45.1
	4	35.9	38.9	37.6	37.4	40.8	39	43.5	46.5	45.5
	5	36.1	39.5	37.6	37.1	41.2	38.7	43.2	46	45.2

Tabla 12. Datos obtenidos en motilidad rectilínea individual por concentración de tris yema de huevo, curvas de congelación y por número de eyaculado después de la congelación del semen.

N° de eyaculado	N° de pajillas	% Concentración de tris yema de huevo								
		Huevo de codorniz			Huevo de codorniz			Huevo de gallina		
		5%			10%			20%		
		15 °C	20° C	25° C	15 °C	20° C	25° C	15 °C	20° C	25° C
Primer eyaculado	1	16.1	17.1	18.5	26.7	28.8	25.7	32.1	34.3	32.8
	2	15.9	16.9	19.1	26.1	28.9	25.2	31.9	33.9	32.6
	3	16.3	17.5	18.9	26.5	29	25.6	31.8	34.1	33.1
	4	15.7	17.4	18.6	25.9	28.7	24.9	32.2	33.8	32.9
	5	15.8	17.3	18.1	26.3	28.5	25.1	31.7	34.2	32.9
Segundo eyaculado	1	14.9	16.7	15.7	24.9	26.5	25.9	34.2	35.8	33.2
	2	14.1	16	15.2	24.1	26.7	25.1	34.1	35.3	33.3
	3	14.5	16.4	15.6	24.5	27.1	25.3	34.5	35.7	32.9
	4	14	16.1	15.4	24.3	26.8	25.7	34.6	35.5	33.1
	5	13.9	16.6	15.5	28.7	26.9	25.2	34.3	35.6	33
Tercer eyaculado	1	10.9	12.9	11.2	21.5	23.9	22.4	27.9	31.9	28.7
	2	10.6	12.1	11.8	21.6	23.1	22.8	28.1	31.5	29.3
	3	10.7	12.8	11.5	21.1	23	22.4	28.3	31.6	29.1
	4	10.8	12.5	17.3	20.9	23.7	22.5	28	31.3	28.9
	5	10.5	12.6	11.7	21.9	23.5	22.6	27.8	31.1	29.4



Tabla 13. Datos obtenidos en vitalidad espermática por concentración de tris yema de huevo y por número de eyaculado antes de la congelación del semen.

N° de eyaculado	N° de pajillas	% Concentración de tris yema de huevo								
		Huevo de codorniz			Huevo de codorniz			Huevo de gallina		
		5%			10%			20%		
Primer eyaculado	1	80	83.6	81.2	88.3	91.4	87.3	90.3	91.9	91
	2	82.1	83.5	81.8	87.5	91.5	87.3	90.7	92.5	91.3
	3	81.3	83.1	81.5	88.1	91.9	87.5	90.1	92.3	92.5
	4	81.6	83.2	81.6	89	89.9	87.6	90.4	92.7	92.6
	5	81.6	83.8	81.3	88.4	91.3	87.1	89.9	92	92.1
Segundo eyaculado	1	83.1	84.9	83.9	86.9	89.2	87.9	91.7	93.4	92.2
	2	81.5	84.7	83.1	88.7	89.4	88.5	91.2	92.8	93.1
	3	81.7	84.6	82.9	87.3	89.5	88.4	92.1	93.4	93.4
	4	82.7	84.5	83.5	88.1	89.6	88.3	91.6	93.1	93
	5	82.6	84.8	83.5	87.6	89.8	88.7	91.4	93.5	92.7
Tercer eyaculado	1	79.3	82.8	78.9	85.5	88.2	86.3	94.3	97.5	94.1
	2	79.5	82.4	78.2	85.4	88.5	86.7	94.2	97.3	94.8
	3	79.3	82.3	79.1	85.9	88.6	86.9	94.7	97.4	94.6
	4	79.7	82.1	79.5	84.8	88.7	86.1	94.1	97.1	94.5
	5	80	82.6	79.7	85.2	88.4	80.8	94.6	97.4	94.2

Tabla 14. Datos obtenidos vitalidad espermática por concentración de tris yema de huevo, curvas de congelación y por número de eyaculado después de la congelación del semen.

N° de eyaculado	N° de pajillas	% Concentración de tris yema de huevo								
		Huevo de codorniz			Huevo de codorniz			Huevo de gallina		
		5%			10%			20%		
		15 °C			20° C			25° C		
Primer eyaculado	1	20.1	23.5	21.3	38.3	41.4	37	50.2	54.3	52.1
	2	20.9	23.6	21.8	37.9	41.5	37.1	50.6	54.6	52.3
	3	20.5	23.1	21.5	38.1	41.9	36.9	50.3	54.8	52.5
	4	20.7	23.4	21.6	38	39.9	37.3	50.7	54.3	52.6
	5	20.3	23.8	21.4	38.4	41.2	37.4	50.9	54.1	52
Segundo eyaculado	1	23.1	24.9	22.1	39.5	42.9	37.1	51.3	55.2	52.9
	2	21.3	24.7	21.9	38.9	42.8	38.5	51.6	55.7	53.1
	3	21.7	24.3	22.5	39.4	42.1	38.4	51.9	55.3	53.4
	4	22.7	24.5	22	39.2	42.7	38.6	51.4	54.9	53
	5	22.6	24.6	22.8	39.5	42.6	38.1	51.5	55.1	52.8
Tercer eyaculado	1	19.3	22.9	18.9	40.2	43.2	41.3	54.3	57.5	55.1
	2	19.5	22.5	18.2	40.5	43.6	41.8	54.2	57.2	54.9
	3	19.4	22.3	19.1	40.9	43.8	41.9	54.8	57.3	54.6
	4	19.8	22.1	19.6	39.9	43.9	41.1	54.1	57.1	54.8



5 20 22.7 18.7 40.7 43.5 40.9 54.6 57.4 54.2

MOTILIDAD TOTAL

Tabla 15. Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para motilidad total pre congelación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	F	P > F
% de Tris yema de huevo	2832.49	8	27.94	2.01
Dentro de los grupos	1596.76	126		
Total	4429.26	134		

Pre congelación

Tabla 16. Análisis de varianza (ANOVA) para Motilidad total post congelación

% de concentración de tris yema de huevo	N°	Suma	Promedio	Varianza
Huevo de codorniz 5%	45	3236.6	71.92	14.81
Huevo de codorniz 10%	45	3361.8	74.71	5.64
Huevo de gallina 20%	45	3722.8	82.73	15.83

Post congelación

Tabla 17. Resumen de análisis de varianza (ANOVA) para motilidad total post congelación

	H. codorniz 5%	H. codorniz 10%	H. gallina 20%
15°C/minuto			
N°	15	15	15
Suma	271.5	490.3	704.9
Promedio	18.1	32.69	46.99
Varianza	3.62	2.07	2.16
20°C/minuto			
Cuenta	15	15	15
Suma	326.4	550.2	829.3
Promedio	21.76	36.68	55.29
Varianza	1.97	5.49	2.37
25°C/minuto			
Cuenta	15	15	15
Suma	261.4	498.6	693
Promedio	17.43	33.24	46.20
Varianza	1.71	2.104	1.19



Tabla 18. Análisis de varianza (ANOVA) para motilidad total post congelación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	F	P > F
Curvas de congelamiento	898.98	2	178.78	3.07
% de tris yema de huevo	20790.82	2	4134.68	3.07
Interacción	164.46	4	16.35	2.44
Dentro del grupo	316.79	126		
Total	22171.05	134		

MOTILIDAD INDIVIDUAL PROGRESIVA**Pre congelación****Tabla 19.** Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para motilidad individual progresiva pre congelación

% de concentración de tris yema de huevo	N°	Suma	Promedio	Varianza
Huevo de codorniz 5%	45	1688.9	37.53	1.60
Huevo de codorniz 10%	45	1632.4	36.28	5.56
Huevo de gallina 20%	45	1884.4	41.88	7.25

Post congelación**Tabla 20.** Análisis de varianza (ANOVA) para motilidad individual progresiva post congelación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	F	P > F
% de Tris yema de huevo	777.16	8	19.31	2.01
Dentro de los grupos	633.90	126		
Total	1411.06	134		

Tabla 21. Resumen de análisis de varianza para motilidad individual progresiva post congelación

	H. codorniz 5%	H. codorniz 10%	H. gallina 20%
	15°C/minuto		
N°	15	15	15
Suma	204.7	365	471.5



Promedio	13.65	24.33	31.43
Varianza	5.23	5.92	7.31

20°C/minuto

N°	15	15	15
Suma	230.9	395.1	505.6
Promedio	15.39	26.34	33.71
Varianza	4.45	5.27	3.12

25° C/minuto

N°	15	15	15
Suma	234.1	366.4	475.2
Promedio	15.61	24.43	31.68
Varianza	8.27	1.98	3.67

Tabla 22. Análisis de varianza (ANOVA) para motilidad individual progresiva post congelación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	F	P > F
Curvas de congelamiento	92.49	2	9.21	3.07
% de tris yema de huevo	6868.70	2	683.59	3.07
Interacción	27.35	4	1.36	2.44
Dentro del grupo	633.02	126		
Total	7621.57	134		

VITALIDAD ESPERMÁTICA**Pre congelación**

Tabla 23. Resumen del análisis de varianza (ANOVA) para vitalidad espermática pre congelación

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Huevo de codorniz 5%	45	3688.6	81.97	3.22
Huevo de codorniz 10%	45	3958	87.96	3.86
Huevo de gallina 20%	45	4191.7	93.15	3.96

Tabla 24. Análisis de varianza (ANOVA) para vitalidad espermática pre congelación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	F	P > F
--------	-------------------	--------------------	---	-------



% de Tris yema de huevo	2817.05	8	91.38	2.01
Dentro de los grupos	485.56	126		
Total	3302.61	134		

Post congelación

Tabla 25. Resumen de análisis de varianza (ANOVA) para vitalidad espermática post congelación

	H. codorniz 5%	H. codorniz 10%	H. gallina 20%
15°C/minuto			
Cuenta	15	15	15
Suma	311.9	589.4	782.4
Promedio	20.79	39.29	52.16
Varianza	1.54	1.02	2.93
20°C/minuto			
Cuenta	15	15	15
Suma	313.4	637	834.8
Promedio	20.89	42.47	55.65
Varianza	2.35	1.27	1.63
25° C/minuto			
Cuenta	15	15	15
Suma	234.1	583.4	800.3
Promedio	15.61	38.89	53.35
Varianza	8.27	3.72	1.17

Tabla 26. Análisis de varianza (ANOVA) para vitalidad espermática post congelación

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	F	P > F
Curvas de congelamiento	316.06	2	59.52	3.07
% de tris yema de huevo	27409.15	2	5161.79	3.07
Interacción	167.82	4	15.80	2.44
Dentro del grupo	334.53	126		
Total	28227.56	134		



