

**UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZÓNICA DE MADRE
DE DIOS**

FACULTAD DE INGENIERIA

**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA
VETERINARIA - ZOOTECNIA**



TESIS

**“Efecto de tres tipos de dilutores sobre la viabilidad y motilidad
espermática en semen congelado de ovinos del trópico
en Madre de Dios”**

**PARA OPTAR EL TITULO
PROFESIONAL DE MEDICO
VETERINARIO – ZOOTECNIA**

AUTOR:

Bach. HURTADO ESPINOZA, Willer

ASESOR:

Mg. Sc. TICONA ADUVIRI, Wilebaldo Blair

Puerto Maldonado, diciembre 2023

**UNIVERSIDAD NACIONAL AMAZONICA DE MADRE
DE DIOS**

FACULTAD DE INGENIERIA

**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA
VETERINARIA - ZOOTECNIA**



TESIS

**“Efecto de tres tipos de dilutores sobre la viabilidad y motilidad
espermática en semen congelado de ovinos del trópico
en Madre de Dios”**

**PARA OPTAR EL TITULO
PROFESIONAL DE MEDICO
VETERINARIO – ZOOTECNIA**

AUTOR:

Bach. HURTADO ESPINOZA, Willer

ASESOR:

Mg. Sc. TICONA ADUVIRI, Wilebaldo Blair

Puerto Maldonado, diciembre 2023.

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso por darme la vida, la salud y la fe para afrontar cada día con optimismo y convicción.

A mis padres Ricardo Hurtado Guillen y Tula Marta Espinoza Salas por su esfuerzo y sacrificio, que me enseñaron a no rendirme nunca, a seguir mis ambiciones y a perseverar siempre.

A mi esposa Nancy por su paciencia, ayuda incondicional, motivación de superación y amor constante.

A mi hijo Gadiel no quiero a nadie en mi vida más que a ti porque me ayudaste a encontrar mi camino hacia la felicidad.

Willer Hurtado Espinoza

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la vida y por ayudarme con su infinita gracia y amor para alcanzar mis metas.

A la Universidad Nacional Amazónica Madre de Dios, Facultad de Ingeniería, Carrera Profesional de Medicina Veterinaria - Zootecnia por abrirme sus puertas y permitir desarrollarme profesionalmente.

A los docentes y la plana Administrativa por sus enseñanzas, paciencia y dedicación en mi formación profesional.

A mis jurados del trabajo de investigación al M. Sc. Jimmy Flores Mendoza, al M. Sc. Luis Alberto Arapa Salas y la Dra. Roxana Madueño Portilla, por sus consejos y apoyo continuo durante la redacción de esta tesis.

A mi asesor Mg. Sc. MVZ. Wilebaldo Blair Ticona Aduviri por compartir sus conocimientos y su gran contribución como asesor en la ejecución de la presente tesis. Al Ing. Dante Hermes Marca Choquecagua por toda la colaboración brindada durante el proceso de la ejecución del trabajo de investigación y al Dr. Julio Málaga Apaza en la parte estadística.

Al MVZ. Cesar Diaz Barrueta Administrador del Centro de Desarrollo Ganadero CEDEGA por facilitarme los materiales y equipos de laboratorio durante la ejecución del trabajo de investigación.

A mis padres Ricardo y Tula por darme todo el apoyo que necesitaba para alcanzar mis sueños, por animarme constantemente a ser una buena persona y por su amor incondicional.

A mi esposa y mi hijo por su amor, paciencia, comprensión, ánimo y apoyo incondicional.

A mis compañeros, amigos y familiares por acompañarme y apoyarme en la realización y elaboración de mi trabajo de investigación.

Willer Hurtado Espinoza

TURNITIN_WILLER HURTADO ESPINOZA

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

18%

FUENTES DE INTERNET

4%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	4%
2	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	1%
3	Submitted to Universidad Nacional Amazonica de Madre de Dios Trabajo del estudiante	1%
4	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	dspace.ucuenca.edu.ec Fuente de Internet	1%
6	ri.agro.uba.ar Fuente de Internet	1%
7	1library.co Fuente de Internet	1%
8	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
9	repositorio.umsa.bo Fuente de Internet	

PRESENTACIÓN

La inseminación artificial es una de las principales técnicas utilizadas para fomentar la mejora genética de los animales mediante el uso generalizado de machos ovinos de élite. El uso de semen de ovinos congelado ha tenido un impacto significativo en la producción ganadera mundial al acelerar en gran medida el flujo de material genético superior a las poblaciones con rasgos de producción inferiores, además de facilitar el transporte de semen a nivel internacional.

Las tasas de fertilidad pueden mejorarse prestando especial atención al diluyente y a la manipulación del semen para garantizar su viabilidad. Los diluyentes utilizados para el tratamiento del semen proporcionan las condiciones necesarias para mantenerlos vivos durante largo tiempo en el transcurso de la criopreservación.

Los diluyentes sintéticos disponibles en el mercado son capaces de proporcionar nutrientes, tener una buena acción amortiguadora, mantener el equilibrio electrolítico, conservar la presiónosmótica, inhibir el crecimiento bacteriano, aumentar el volumen seminal y proteger las células de la congelación para obtener un semen diluido capaz de generar elevados porcentajes de fertilidad. La función principal del dilutor seminal es proteger la integridad y funcionalidad de la membrana plasmática del espermatozoide proporcionando sustratos energéticos y permitir el mantenimiento de condiciones estables de pH y osmolaridad en el medio extracelular.

La congelación de semen de carnero implica variaciones específicas en todas las fases del proceso con el fin de garantizar condiciones óptimas y mejores resultados, es decir, el mayor número posible de espermatozoides móviles y fértiles tras el procedimiento.

RESUMEN

El estudio de investigación se realizó en el Centro de Desarrollo Ganadero CEDEGA, perteneciente al Gobierno Regional de Madre de Dios, ubicado en el distrito de Tambopata, provincia de Tambopata, región Madre de Dios, a 16 Km de la carretera interoceánica Puerto Maldonado y Cusco; con los objetivos de evaluar el efecto de dilutores triladyl, optixcell y andromed en la viabilidad y motilidad espermática al descongelado del semen de ovino del trópico en el Madre de Dios. Se utilizaron 05 carneros de 1 a 1.5 años (dos dientes), de los cuales la extracción del semen fue mediante el método de electroeyaculación. Se evaluó las características del semen colectado, luego se adicionó los dilutores en forma separada, posteriormente se congeló; pasado un tiempo de 30 días se evaluó la viabilidad y motilidad del semen descongelado. Los datos se analizaron previa transformación a valores angulares, con arreglo factorial de 2 (antes y después de congelación) x 3 (triladyl, optixcell y andromed), conducido al diseño completamente al azar, y los indicadores fueron interpretados mediante medidas de tendencia central y de dispersión. Los resultados de motilidad espermática con el dilutor Triladyl fue 83.4% pre congelado y un 68.4% post congelado superior a otros dilutores y la viabilidad espermática usando el dilutor triladyl fue 78.2% pre congelación y un 54.4% postcongelación del semen superior a los otros dilutores como el Optixcell y el Andromed. En conclusión, la motilidad y la viabilidad espermática es mayor en el momento de evaluación pre -congelación que post congelación; y también varía por efecto dilutor, en el cual triladyl conserva mejor la motilidad comparada a dilutores Optixcells y Andromed.

Palabras claves: Criopreservación, descongelación, dilutores, motilidad, viabilidad.

ABSTRACT

The research study was conducted at the Livestock Development Center CEDEGA, belonging to the Regional Government of Madre de Dios, located in the district of Tambopata, Tambopata province, Madre de Dios region, 16 km from the interoceanic highway between Puerto Maldonado and Cusco; with the objectives of evaluating the effect of triadyl, optixcell and andromed dilutors on the viability and sperm motility upon thawing of sheep semen from the tropics in Madre de Dios. We used 05 rams from 1 to 1.5 years old (two teeth), from which semen was collected by the electroejaculation method. The characteristics of the collected semen were evaluated, then the dilutants were added separately, and then frozen; after 30 days, the viability and motility of the thawed semen were evaluated. The data were analyzed after transformation to angular values, with a factorial arrangement of 2 (before and after freezing) x 3 (triadyl, optixcell and andromed), conducted in a completely randomized design, and the indicators were interpreted by means of measures of central tendency and dispersion. The results of sperm motility with the Triadyl dilutor was 83.4% pre-freezing and 68.4% post-freezing superior to other dilutors and sperm viability using the Triadyl dilutor was 78.2% pre-freezing and 54.4% post-freezing superior to the other dilutors such as Optixcell and Andromed. In conclusion, sperm motility and viability is higher at the time of evaluation pre-freezing than post-freezing; and also varies by dilutor effect, in which triadyl preserves better motility compared to Optixcells and Andromed dilutors.

Keywords: Cryopreservation, thawing, dilutors, motility, viability.

INTRODUCCIÓN

El proceso de congelación del semen permite la reproducción y diseminación de genes y su conservación durante mucho más tiempo (1). La recogida, utilización y fraccionamiento de semen de carneros de alta calidad genética favorece la mejora de los rasgos productivos del rebaño y aumenta el número de crías con respecto a la reproducción natural (4). El uso de semen congelado ha tenido un impacto significativo en la cría mundial, acelerando significativamente el flujo de material genético superior hacia poblaciones con rasgos de baja productividad y facilitando el transporte de semen a nivel internacional (3).

La crioconservación del semen se utiliza generalmente en los sistemas de crianza al facilitar la transferencia de genes procedentes de machos superiores y, en combinación con la inseminación artificial, puede aumentar la tasa de reproducción genética de los rasgos deseados dentro de los centros ganaderos (4).

Los diluyentes son productos químicos utilizados en la inseminación artificial para preservar, expandir y proteger los espermatozoides de diversos impactos durante el procesamiento, el almacenamiento y el transporte (6). La congelación de semen de ovino requiere modificaciones específicas en cada punto de aplicación para lograr los mejores resultados, es decir, el mayor número posible de espermatozoides móviles y fecundables tras el procedimiento (17).

Los diluyentes se utilizan para proteger los espermatozoides, garantizar su viabilidad, mantener un pH normal y proporcionar un entorno adecuado para que los espermatozoides reciban los nutrientes necesarios para fecundar el óvulo durante el mayor tiempo posible (7). En la región de Madre de Dios, es necesario desarrollar estos métodos de conservación del semen, a través del proyecto de investigación se evaluará el **“Efecto de tres tipos de dilutores sobre la viabilidad y motilidad espermática en semen congelado de ovinos del trópico en Madre de Dios”**, aplicando una técnica de congelación automático y realizando la evaluación de los espermatozoides antes y después de la crio preservación.

INDICE

PRESENTACIÓN.....	vi
RESUMEN.....	vii
INTRODUCCIÓN.....	ix
INDICE.....	x
INDICE DE TABLAS.....	xiii
INDICE DE FIGURAS.....	xv
INDICE DE GRAFICOS.....	xvii
INDICE DE ANEXOS.....	xviii
CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	19
1.1 Descripción del problema.....	19
1.2 Formulación de problema.....	20
1.3 Objetivos.....	20
1.3.1 Objetivos generales.....	20
1.3.2 Objetivos específicos.....	20
1.4 Variables.....	20
1.4.1 Variables dependientes.....	20
1.4.2 Variables independientes.....	20
1.5 Hipótesis.....	20
1.6 Operacionalización de variables.....	21
1.7 Justificación.....	21
1.8 Consideraciones éticas.....	22
CAPITULO II: MARCO TEORICO.....	23

2.1	Antecedentes de estudio	23
2.2	Marco teórico	24
2.2.1	Selección de reproductores ovinos	24
2.2.2	Recolección de semen	24
2.2.3	Vagina artificial.....	25
2.2.4	Electro eyaculador.....	25
2.2.5	Evaluación seminal macroscópica y microscópica.....	25
2.2.6	Dilutores	26
2.2.7	Tinción eosina y nigrosina.....	27
2.2.8	Congelación del semen en carneros.....	28
2.2.9	Descongelación de semen	28
2.3	Definición de términos	28
CAPITULO III: METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION		30
3.1	Lugar de estudio	30
3.2	Población y muestra	30
3.2.1	Población	30
3.2.2	Muestra	30
3.3	Materiales y métodos.....	31
3.3.1	Lugar de ejecución	31
3.3.2	Identificación de los animales	31
3.3.3	Desparasitación.....	31
3.3.4	Selección de los animales.....	31
3.3.5	Recolección de semen	31
3.3.6	Examen macroscópico del semen.....	32
3.3.7	Examen microscopio del semen	33
3.3.8	Dilución del semen	35

3.3.9	Empajillado y criopreservación del semen	35
3.4	Análisis estadístico	36
CAPITULO IV: RESULTADOS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN		37
4.1	Motilidad espermática	37
4.2	Viabilidad espermática	38
DISCUSIONES		41
CONCLUSIONES		43
SUGERENCIAS		44
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA		45
ANEXO		52

INDICE DE TABLAS

Tabla 01. Descripción de la operacionalización de variables	21
Tabla 02. Motilidad espermática (%) del semen de carneros, según dilutor y periodo de evaluación.	37
Tabla 03. Viabilidad espermática (%) del semen de carneros, según dilutor y periodo de evaluación.	39
Tabla 04. Cantidad y selección de ovinos machos para la investigación.	55
Tabla 05. Selección de ovinos de acuerdo a la edad, Condición corporal (CC), enfermedades y patologías reproductivas, circunferencia escrotal.	57
Tabla 06. Volumen de semen (ml) de Ovinos por cada eyaculado, recolectados semanalmente.	57
Tabla 07. Color de semen de ovinos recolectados semanalmente.	58
Tabla 08. pH del semen de ovinos recolectado semanalmente.	58
Tabla 09. Motilidad masal (%) de espermatozoides de ovinos.	59
Tabla 10. Motilidad individual (%) de espermatozoides de ovinos utilizando los dilutores Triladyl, Optixcell y Andromed.	60
Tabla 11. Viabilidad espermática (%) de semen de ovinos utilizando los dilutores Triladyl, Optixcell y Andromed.	61
Tabla 12. Motilidad espermática (%) de semen de ovinos postcongelación utilizando los dilutores Triladyl, Optixcell y Andromed.	62
Tabla 13. Viabilidad espermática (%) de semen de ovinos postcongelación utilizando los dilutores Triladyl, Optixcell y Andromed.	63

Tabla 14. ANVA para motilidad espermática del semen de carneros.....	64
Tabla 15. Medidas resumen.	64
Tabla 16. ANVA para viabilidad espermática del semen de carneros.	65

INDICE DE FIGURAS

Fig. 01. Centro de Desarrollo Ganadero CEDEGA, lugar donde se realizó la ejecución del trabajo de investigación (tesis)	66
Fig. 02. Laboratorios de Biotecnología reproductiva CEDEGA juntamente con los asesores y personal de apoyo.....	66
Fig. 03 y 04. Selección de ovinos para la investigación de acuerdo a las características requeridas	67
Fig. 05 y 06. Inspección genital y medida de la circunferencia escrotal de los ovinos.....	67
Fig. 07 y 08. Seleccionando a los animales (ovinos) de acuerdo a su Cronología dentaria.	68
Fig. 09 y 10. Procedimiento en la recolección de semen en ovinos por electroeyaculador.....	68
Fig. 11 y 12. Obtención y evaluación macroscópica (color, volumen y densidad) de semen obtenido de ovinos.	69
Fig. 13 y 14. Evaluación microscópica (Motilidad y viabilidad espermática) del semen de los ovinos	69
Fig. 15 y 16. Dilución del semen de ovino utilizando dilutores comerciales (Triladyl, optixcell y Andromed,).....	70
Fig. 20 y 21. Criopreservación de semen de ovinos utilizando nitrógeno líquido, método convencional.....	71
Fig. 22 y 23. Pajillas de semen de ovinos almacenados en el tanque criogénico (nitrógeno líquido).....	71

Fig. 24 y 25. Descongelación de las pajillas que contiene semen en un baño maría para su evaluación.....	72
Fig. 26 y 27. Evaluación de la viabilidad y motilidad espermática del semen de ovinos post congelación.....	72

INDICE DE GRAFICOS

Gráfico 01. Motilidad espermática del semen de ovinos pre y postcongelación.....	38
Gráfico 02. Viabilidad espermática del semen del ovino pre y postcongelación.....	39

INDICE DE ANEXOS

Anexo 01. Matriz de operacionalización de las variables.....	52
Anexo 02. Matrix de consistencia.....	53
Anexo 03. Constancia emitida por el administrador del Centro de Desarrollo Ganadero CEDEGA.....	54
Anexo 04. Tablas de recopilación de datos de la investigación realizada.	55
Anexo 05. Resultados estadísticos del trabajo de investigación.....	64
Anexo 06. Panel fotográfico	66

CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Descripción del problema

La ganadería ovina es uno de los principales sectores de la cría de animales en nuestro país, y está en constante crecimiento debido al aumento de la demanda de carne por parte de la población, pero la situación económica de los ganaderos hace imposible adquirir machos genéticamente superiores (21) y la inseminación artificial con semen congelado es una alternativa de solución, por lo tanto la congelación o criopreservación de semen es la técnica más valiosa para la conservación del semen de ovino (27). No obstante, cabe señalar que los resultados de la fertilidad del semen criopreservado depende de las características originales del semen fresco, del diluyente, de la técnica de crioconservación y de la eficacia del proceso de la inseminación artificial.

Los espermatozoides pueden dañarse durante la criopreservación y, hasta la fecha, no se han conseguido resultados satisfactorios debido a las bajas tasas de fertilidad (11), este suceso puede deberse a errores en el proceso de crioconservación y la dilución, que reducen el número de células viables y acortan su vida útil en el tracto reproductor del animal (42). Los daños que se producen durante la crioconservación pueden evitarse utilizando diluyentes que contengan crioprotectores adecuados, lo que puede mejorar la conservación de los espermatozoides y su capacidad de fecundación. Este es uno de los temas de investigación más importantes, sobre todo en nuestra región, donde los ovinos aún no están bien definidos (22).

1.2 Formulación de problema

¿Cuál será el efecto de tres dilutores en la viabilidad y motilidad espermática al descongelado del semen de ovino del trópico?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivos generales

- Evaluar el efecto de dilutores en la viabilidad y motilidad espermática al descongelado del semen de ovino del trópico en Madre de Dios.

1.3.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto del dilutor Triladyl en la viabilidad y motilidad del semen de ovino del trópico
- Evaluar el efecto del dilutor Optixcell en la viabilidad y motilidad del semen de ovino del trópico
- Evaluar el efecto del dilutor Andromed en la viabilidad y motilidad del semen de ovino del trópico

1.4 Variables

1.4.1 Variables dependientes

- Viabilidad y motilidad espermática en ovinos en pajuelas de 0.25 cc.

1.4.2 Variables independientes

- Dilutores Triladyl
- Dilutores Optixcell
- Dilutores Andromed

1.5 Hipótesis

Ha. El efecto de los dilutores en el porcentaje de la viabilidad y la motilidad espermática en ovinos del trópico tiene diferencia significativa.

Ho. El efecto de los dilutores en el porcentaje de la viabilidad y la motilidad espermática en ovinos del trópico no tiene diferencia significativa.

1.6 Operacionalización de variables

Tabla 01. Descripción de la operacionalización de variables

DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIONES OPERACIONALES	DIMENSIONES	INDICADORES	ITEMS
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Dilutor:</p> <p>Mantener o mejorar el entorno de los espermatozoides proporcionándoles energía y protección contra productos metabólicos y las fluctuaciones de temperatura</p>	<p>La dilución del semen se realizó en una proporción de 1:1 ml (semen: dilutor) utilizando dilutores comerciales como, Triladyl, Optixcell y Andromed, garantizando una cantidad de más 100 a 150 millones de espermatozoides totales por dosis de inseminación.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Triladyl • Optixcell • Andromed 	<p>Porcentaje (%)</p> <p>ml</p>	1
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Motilidad espermática</p> <p>La motilidad de los espermatozoides es una característica de la calidad seminal porque determina la eficacia de la migración de los espermatozoides a través del tracto genital de la hembra.</p> <p>Viabilidad espermática</p> <p>La viabilidad nos permite saber el número de espermatozoides vivos de una colecta de semen.</p>	<p>La muestra de semen se obtuvo previamente ubicada en el baño maría a 37°C. y se extrajo una gota utilizando una varilla de cristal se tomó una gota y fue colocado sobre un portaobjetos para su observación en el microscopio.</p> <p>La motilidad masal se observó al formarse "olas" y su calificación fue por el grado de motilidad en una escala de 0 a 5 donde (0= muy mala; 5= excelente).</p> <p>La Viabilidad del semen fue determinado por la tinción de eosina- nigrosina.</p> <p>Se toma una gota de semen y este fue colocado sobre un portaobjetos. Se añadió una gota de eosina, y se homogenizo la mezcla y luego se agregó una gota de nigrosina. Después de 1 minuto se realizó el frotis. A continuación, fue observado en el microscopio sin cubreobjetos y se inició con el recuento de las células vivas y muertas.</p>	<p>Motilidad individual</p> <p>masal</p> <p>Vivos muertos</p>	<p>Porcentaje (%)</p>	1

Fuente: Elaboración propia.

1.7 Justificación

La conservación y la dilución del semen contribuyen a aumentar la eficacia de la técnica y optimizar a los machos reproductores (14). Los diversos métodos de conservación permiten almacenar el semen durante mucho

tiempo (semen congelado). La congelación adecuada permite trasladar el material de una instalación a otra sin la necesidad de desplazar animales (5). La conservación de esperma congelado es un método relativamente económico, pero la viabilidad del semen suele disminuir a medida que aumenta el periodo de almacenamiento sufriendo cambios que reducen su vida útil (14).

Los diluyentes comerciales contienen antibióticos, pero estos cambian la composición del medio, pero protegen el equilibrio ácido-base y la nutrición espermática (5). La inseminación artificial es, por tanto, un medio eficaz de biotecnología reproductiva. Debido al reducido número de ovejas de alto valor genético, se recomienda mejorar su calidad mediante biotecnologías, como la congelación de semen (13), para conseguir mayores rendimientos, deben buscarse alternativas a la congelación de esperma que funcionen mejor con los diluyentes (15). Es por ello que a través de este proyecto de investigación se evaluó el **“Efecto de tres tipos de dilutores sobre la viabilidad y motilidad espermática en semen congelado de ovinos del trópico en Madre de Dios”**, aplicando una técnica de congelación manual y realizando la evaluación macroscópica y microscópica de los espermatozoides antes y después de la crio preservación (5).

1.8 Consideraciones éticas

El proyecto de investigación se realizó con 5 ovinos machos con un manejo responsable y adecuado tratando de evitar estrés al animal, en un ambiente libre con forraje y agua a disposición durante el tiempo que duro la investigación, así mismo la disposición de sombra y cuidado permanente. Antes de comenzar la investigación los ovinos donadores fueron desparasitados, y evaluados físicamente y durante el proceso de estudio no fueron sometidos a procedimientos dolorosos.

CAPITULO II: MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes de estudio

Según la investigación realizada por Escudero “Preservación de semen ovino por vitrificación y congelamiento lento, utilizando diferentes diluyentes comerciales”. Con motilidad espermática pre congelación utilizando el dilutor Triladyl obtuvo 98.60 %, con el uso del dilutor Optixcell fue de 72.8 %, observando la viabilidad individual pre congelado utilizando el dilutor Triladyl fue 97.60%, y con el Andromed 84.30%. Motilidad espermática postcongelación con el uso del dilutor Triladyl tuvo un resultado del 60.50%, Viabilidad espermática post congelación utilizando Triladyl fue de 59.50%, con el dilutor Andromed el resultado fue de 24.40%.

Ramos et al., (16) en su investigación titulada “Efecto de dilutores y tiempos de equilibrio en la criopreservación de semen ovino (*Ovis aries*)”. Obtuvo para la motilidad espermática precongelado en semen de ovino un 74.33% y la motilidad espermática post congelado un 44.7%.

Por otro lado, Hernández, et al., (57) con el título denominado “Effect of cryopreservation of sheep semen related to its viability and acrosomal status”, obtuvo en la motilidad espermática pre congelación con el dilutor Triladyl 84.6% promedio, la viabilidad espermática pre congelado 87.6%. Viabilidad espermática de semen post congelación con el dilutor Triladyl fue de 62.8%.

Según Crespo (68) en su investigación “Evaluación de semen bovino utilizando medios comerciales de criopreservación, provincia de Morona Santiago, Ecuador”. Comprobó que la viabilidad post descongelación era de 3 a 4; la Motilidad progresiva individual de 20 a 60 y el porcentaje de

espermatozoides normales fue de 81 a 98, valores considerados normales; el análisis de varianza y la prueba estadística de Tukey predicen que no existen diferencias significativas al usar cualquiera de los medios de criopreservación en las variables estudiadas.

Finalmente, Guerrero (23) con su trabajo de investigación titulado “Técnica de criopreservación de semen caprino, Santa Elena”; observó la motilidad espermática pre congelado con el uso del dilutor Optixcell donde fue 80.0%; la Viabilidad espermática Pre congelación con el uso del dilutor Optixcell que fue de 92.6%; Motilidad espermática de semen de ovinos post congelación con dilutor optixcell fue del 56.8% y la viabilidad espermática de semen de ovinos post congelación fue de 53.6%.

2.2 Marco teórico

2.2.1 Selección de reproductores ovinos

Los parámetros genéticos son muy importantes en este proceso, ya que permite obtener respuestas de selección directa y correlativa (19), desarrollando índices de selección y genético de los animales, lo que se traduce en una información que permite identificar a los animales de un valor genético excepcional o elevado, capaces de producir eficazmente y de transmitir su potencial genético a su descendencia (26).

2.2.2 Recolección de semen

En los pequeños rumiantes la utilización de las técnicas de reproducción asistida requiere la colecta de semen y el análisis cualitativo y cuantitativo del material recolectado. Los métodos de recolección de semen incluyen vaginas artificiales, eyaculación electrónica, dispositivos de recogida vaginal, tubos vasculares y recolección post mortem (17). Los parámetros de referencia para la evaluación del semen de carnero son los siguientes: La recogida de semen es una parte importante de la inseminación artificial (29). Con el tiempo, los métodos de recogida del semen fueron cambiando gradualmente (28). El primer método utilizado en la recolección de semen en la producción de ovinos fue la recolección del semen después de la cópula (54), siendo el método ideal de recolección de semen en ovejas y cabras el uso de la vagina artificial Gummi-Bertram, Hannover (27).

2.2.3 Vagina artificial

La vagina artificial consiste en un cilindro de goma rígida, de 12-15 cm de longitud y unos 5 cm de diámetro, en el interior se perfora un orificio con un tapón de rosca; al medio del dispositivo circulan agua y aire calentados a 40 a 42 °C, con el fin de simular la temperatura y la presión necesarias. Entre el tubo vaginal y el agua caliente es necesario que haya un tubo de látex, que sirve como funda para la vagina (30) se utiliza una hembra en estro para estimular la libido y por consiguiente la monta. La vagina artificial es colocada por el operador por la solapa lateral y con la mano derecha deberá sujetar de modo que el extremo abierto quede orientado hacia el macho (12). La válvula de la vagina debe estar orientado hacia abajo en un ángulo de aproximadamente 45°. El pene del reproductor al momento de tocar la superficie caliente de la vagina artificial, el semental emite un característico "golpe de riñón" y este eyacula en el tubo colector (31).

2.2.4 Electro eyaculador

Es una técnica utilizada para recoger semen de animales domésticos, especialmente rumiantes (bovinos, ovinos, caprinos y camélidos sudamericanos), consiste en aplicar estímulos eléctricos sobre el piso de la pelvis (0-10 voltios) durante 3 segundos aumentando el voltaje cada 5 segundos (61) (31). El animal debe estar colocado en una posición de cúbito lateral, debido a los estímulos realizados, el pene se exterioriza por desdoblamiento de la flexura sigmoidea, es importante colocar una gasa detrás del glande para mantener la limpieza y una copa colectora para recolectar el semen (8).

2.2.5 Evaluación seminal macroscópica y microscópica

La evaluación estandarizada del semen incluye varios parámetros categorizados según las características macroscópicas y microscópicas (40). El primero comprende el aspecto, color, pH y el volumen, mientras que el segundo incluye la concentración, motilidad, viabilidad, morfología, integridad de la membrana plasmática y acrosómica, así como la determinación de la trayectoria y la velocidad de movimiento (33).

Estas medidas proporcionan información sobre la cantidad y calidad del semen y la fertilidad espermática (34). Las pruebas de semen permiten valorar el potencial reproductivo del reproductor y evaluar los parámetros seminales en el laboratorio como indicador de la calidad del semen (35, 36).

2.2.6 Dilutores

Desde los primeros intentos de la inseminación artificial en ovinos se ha utilizado el semen fresco con resultados satisfactorios, pero actualmente, se ha comenzado con la utilización de agentes diluyentes que no sólo protege el semen sin alterar sus propiedades, sino que además aumentan la dosis por inseminación, incrementando el número de ovejas en un lote y mejoran la supervivencia del semen a bajas temperaturas (5°C) (19). Gracias a los avances en el uso de diluyentes, se han realizado estudios para evaluar, analizar, seleccionar y preservar las mejores propiedades del semen aplicando diferentes parámetros de evaluación (motilidad progresiva individual, concentración espermática, integridad de la membrana y vitalidad espermática) para garantizar la calidad requerida para la fertilización (31).

- **Andromed:** Es un diluyente disponible comercialmente para semen de toro y también utilizado con éxito en semen de otras especies, su presentación es en frascos de 200 ml. Este diluyente tiene las siguientes propiedades: a) es adecuado para la preservación de semen fresco a 5°C hasta 10°C, b) no tiene componentes de origen animal (tales como yema de huevo) (39), c) evitan los efectos no deseados de hormonas, bacterias y residuos de drogas, d) es un medio transparente y tiene imágenes bastante claras y visibles de los espermatozoides en el microscopio (40). Este diluyente Contiene fosfolípidos, ácido cítrico, TRIS, antioxidantes, azúcares, glicerol, tampones, antibióticos y agua altamente purificada (41). El diluyente AndroMed debe diluirse en relación 1:4 con agua destilada estéril precalentado a 32°C, siendo el volumen requerido de 4 partes de agua por 1 parte de concentrado (06).

- **Triladyl:** El diluyente Triladyl es un concentrado a base de TRIS para la criopreservación de semen (14). El preparado de esta solución es mezclando 1 parte de concentrado del triladyl, 1 parte de yema de huevo con 3 partes de agua destilada. La conservación de esta solución es de 5°C con una duración de 5 a 7 días (10). Triladyl también se utiliza para congelar semen de otros rumiantes como ovejas, cabras, camélidos sudamericanos, ciervos, etc (32). El diluyente Triladyl da mejores resultados tras la licuefacción del semen en comparación con otros diluyentes (12).
- **Optixcell:** Se trata de un diluyente fabricado por la empresa IMV Technologies, que combina fosfolípidos producidos artificialmente (imitan las propiedades de la yema de huevo) y estructurados en liposomas, contiene también sales minerales, carbohidratos, tampón, antioxidantes, agua ultrapura, glicerol, antibióticos (Gentamicina, Lincomicina, Espectinomomicina y Tilosina), no contiene proteína de origen animal (20). Es el primer diluyente de semen a base de liposomas sintetizados (sin proteína animal). Los liposomas son la solución que sustituyen la yema de huevo, permite preparar y conservar semen fresco y congelado de alta calidad (09).

2.2.7 Tinción eosina y nigrosina

Esta prueba también se conoce como prueba de viabilidad o prueba de Williams-Pollock, es una prueba de tinción superficial comúnmente utilizada para determinar la presencia de espermatozoides vivos y muertos en los laboratorios clínicos (37); los espermatozoides muertos presentan una alta permeabilidad de la membrana y su estructura es de color rojo o rosado, lo que ayuda distinguir la cabeza y cola del espermatozoide (36). El colorante de Eosina atraviesa la membrana de los espermatozoides muertos y los vuelve de color rosado, mientras que los espermatozoides vivos son incoloros. Por otro lado, el colorante Nigrosina tiñe en azul oscuro el perfil de los espermatozoides vivos (33). Estas tinciones se utilizan ampliamente porque que son efectivas, simples y permiten visualizar con rapidez los espermatozoides, y permiten evaluar la integridad de la membrana y la morfología (40).

2.2.8 Congelación del semen en carneros

La crioconservación de espermatozoides a una temperatura criogénica de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ en nitrógeno líquido detiene las reacciones metabólicas del semen (13). Esta ventaja permite almacenar el semen durante periodo de tiempo más largo, de modo que sus genes pueden preservarse para las generaciones futuras y asegurando así un ovino reproductor de excelencia (34). Esto También facilita el transporte de semen tanto a nivel local, nacional e internacional, permitiendo el recojo y almacenamiento en distintas épocas de la temporada reproductiva (24).

2.2.9 Descongelación de semen

La pajilla se encuentra y se mantienen en tanque criogénico, para poder descongelarlos se retiran con una pinza, luego se sumergen en baño maría a una temperatura de 37°C durante 15 segundos. Después del descongelado, la pajilla se retira del agua, se seca y seguidamente se corta el extremo del tapón con aire (01) (48). El extremo libre debe ser tapado con el dedo antes de cortar el otro extremo de la pajilla al retirar el tapón se extrae el semen contenido en la pajilla a un tubo de hemólisis previamente colocado al baño maría. La velocidad del enfriamiento, congelación y descongelación del semen es fundamental en cuanto al grado de magnitud de los daños causados a los espermatozoides (38).

2.3 Definición de términos

- **Espermatozoides:** Son células haploides formadas durante la espermatogénesis, que tienen cabeza, cuello y flagelo; son portadores funcionales de material genético (4).
- **Dilutor:** Solución acuosa diseñada para aumentar el volumen de la eyaculación y conservar todas las propiedades funcionales de los espermatozoides necesarias para la fecundación (7).
- **Criopreservación:** Es un paso fundamental en el procesamiento del semen que permite almacenar y conservar indefinidamente espermatozoides sin que pierdan su capacidad fecundante, ovocitos y embriones a temperaturas inferiores a $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ nitrógeno líquido (19).

- **Motilidad:** Es uno de los parámetros más utilizados para evaluar la calidad de los espermatozoides y describir su estado energético (11).
- **Acrosoma:** El acrosoma es de estructura membranosa que ocupa la parte anterior de la cabeza de los espermatozoides, recubre el núcleo y surge se origina en el complejo de Golgi durante la espermatogénesis (32).

CAPITULO III: METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION

3.1 Lugar de estudio

El estudio de investigación fue realizado en el Centro de Desarrollo Ganadero CEDEGA, que pertenece al Gobierno Regional de Madre de Dios, ubicado en el distrito de Tambopata, provincia de Tambopata, región Madre de Dios, a 16 Km de la carretera interoceánica Puerto Maldonado y Cusco (49), a una altitud de 219 m.s.n.m., a 12° 38' 30,29" de latitud Sur y 69° 17' 03,52" longitud oeste. El clima de Madre de Dios es tropical; cálido, húmedo y con una precipitación pluvial promedio anual de unos 1,700 mm, con una temperatura media de 27 °C (mín. 22 °C y máx. 35°C), una humedad relativa de 77.5 % y una precipitación media de 292 mm (50).

3.2 Población y muestra

3.2.1 Población

La población de ovinos macho reproductores disponibles en el Fundo "San Hilario" es de 40 animales, y para ser seleccionados se consideró una condición corporal (CC), la edad, el diámetro testicular, ausencia de enfermedades reproductivas (46).

3.2.2 Muestra

La muestra se consideró no probabilística por conveniencia (44), donde para la investigación se utilizó 05 ovinos reproductores, con una edad 1 a 1.5 años (Dos dientes) aproximadamente, clínicamente sanos, con buena condición corporal (CC) de 3 a 3.5 y sin defectos patológicos reproductivos (47).

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Lugar de ejecución

La alimentación de los ovinos se realizó en un sistema extensivo, el Centro de Desarrollo Ganadero cuenta con pasturas a base de *Brachiaria brizantha*, donde cada potrero cuenta con agua limpia y fresca a libre disposición (*ad libitum*) (49); los ovinos permanecieron en el campo desde las 6 am hasta las 5 pm, luego fueron introducidos al corral hasta el día siguiente, repitiendo la rutina durante 35 días mientras duró la investigación.

3.3.2 Identificación de los animales

Para la identificación de los animales (ovinos machos) se utilizaron aretes de diferentes colores con la finalidad de diferenciar los tratamientos para llevar un registro y se introdujo en la oreja izquierda de cada animal con sus respectivos nombres para su identificación (51).

3.3.3 Desparasitación

Antes de realizar el trabajo de investigación, todos los animales (ovinos) fueron desparasitados mediante la administración vía oral con un producto veterinario que contenía albendazol, con una dosis de 1 ml por cada 30 kg de peso corporal y la administración vía subcutánea de ivermectina a una dosis de 1 ml por cada 30 kg de peso corporal (52).

3.3.4 Selección de los animales

Para realización del estudio de investigación, se seleccionaron 5 animales reproductores (ovinos) de la raza Santa Inés de aproximadamente 1.5 a 2 años de edad (cronometría dentaria), sexo macho, con eficiente aptitud reproductiva y clínicamente sanos (25), con buena condición corporal de 3 a 3.5 CC, libre de enfermedades reproductivas, con buena circunferencia escrotal y libido (53); como se muestra en el anexo 04.

3.3.5 Recolección de semen

Consistió en introducir por la vía rectal la sonda, que desencadena estímulos eléctricos similares a los que envía el cerebro a las gónadas,

glándulas sexuales, y al pene, dando como resultado una erección y eyaculación (04), se cortó el pelo al rededor del pene y se procedió a la limpieza con agua la zona prepucial externa y la zona interna con solución salina estéril, se mantuvieron a los animales tranquilos y bajo sombra para evitarle estrés. Se preparo el equipo de recolección de semen, que consistió en un tubo de ensayo de cristal debidamente protegido de la luz solar directa, para impedir daños en los espermatozoides (62). El electroeyaculador se prepara utilizando la batería interna y, tras asegurarse de que estuviera encendido, se introdujo por el ano previamente lubricado, prestando atención a las varillas de contacto del electroeyaculador, deben estar en posición ventral para estimular las glándulas de vesícula seminal y así evitar lesiones (63).

La fuente de generación de impulsos se calibro a bajo voltaje (3 - 4.5V) con una frecuencia de impulsos de un segundo a intervalos de un segundo como base para iniciar la ejecución hasta que salga el pene del prepucio, de lo contrario se aumentó el voltaje y la frecuencia de impulsos cambia gradualmente hasta la salida del pene y posterior eyaculación (58).

Se aseguro de que el tubo colector estuviera listo para el momento de la eyaculación del ovino ya que la cantidad es mínima y no puede desperdiciarse. El tubo de recolectado del semen fue rotulado, sellado y colocado en Baño María a 37° C. El semen se recolecto una vez por semana, protegido de la luz solar, en una caja de Tecnopor, para su posterior evaluación, procesamiento y congelación (14).

3.3.6 Examen macroscópico del semen

Luego de la recolección del semen, se procedió a realizar el examen macroscópico para determinar el color, volumen, consistencia (densidad) y pH, los resultados se muestran en el anexo 04. El semen debe ser de Color blanco-lechoso o cremoso pálido (54). Un color rojizo indica la presencia de sangre, mientras que un color gris o marrón indican contaminación o infección, en cuyo caso se debe desechar el eyaculado y examinar al macho (55). Respecto al volumen del semen se observó directamente en el tubo graduado, se tiene en cuenta que el volumen promedio del

eyaculado de un carnero es de 0.5 ml a 2 ml (43), y el pH se evaluó retirando una gota de semen del tubo y se colocó sobre una tira indicadora de pH, el pH normal oscila entre 6.2 y 6.8 (56, 59).

3.3.7 Examen microscopio del semen

Después haber realizado el examen macroscópico se procedió a realizar el examen microscópico donde se observó motilidad, viabilidad y la concentración espermática.

- **Motilidad Masal espermática**

La muestra de semen se encuentra ubicada en el baño maría a 37°C. Se obtiene una gota y con la ayuda de una varilla de cristal se colocó sobre un portaobjetos, fue llevado al microscopio para ser observado con el lente de 10x (28). La motilidad en masa se observó al formarse “olas” y se calificó el grado de motilidad con una puntuación de 0 a 5 (0 = muy mala; 5= excelente) (58). Hubo presencia de movimiento de onda, por ende, no fue necesario analizar la motilidad posteriormente. Sin embargo, si estuviese ausente, se debió realizar el examen de motilidad progresiva individual (47).

- **Motilidad individual**

La prueba se realizó diluyendo el eyaculado con citrato sódico al 3% en proporción de 2:1 (dos gotas de eyaculado x cada gota de diluyente). Cuidadosamente se homogenizo la muestra en el portaobjetos, se colocó el cubreobjetos para su observación en el microscopio con el lente de 40x (59). La motilidad individual se observó en función del tipo de movimiento de los espermatozoides, ya sea rectilíneo o browniano (ondulatorio o rotacional), y también de la cantidad de espermatozoides que están en movimiento en porcentaje de (0-100%) (17). Esta evaluación de la motilidad individual y los porcentajes es sumamente subjetiva e importante. Para determinarla se contaron 10 espermatozoides por campo microscópico y se registró el tipo de movimiento (5).

Viabilidad espermática

Se utilizó la tinción de eosina- nigrosina para determinar la Viabilidad de los espermatozoides. Después de la recolección del semen y después de

observar la motilidad, donde se tomó una gota de semen y se la colocó sobre un portaobjetos, y se añade una gota del colorante de eosina, se homogenizo la mezcla y seguidamente se agregó una gota de nigrosina (61). Al cabo de un minuto se realizó un frotis, luego se observó al microscopio, donde se contaron un total de 200 células distribuidas en el frotis, se evaluó el porcentaje de vivos, a partir de las 200 células contabilizadas (60).

Los espermatozoides encontrados vivos en el momento de la tinción no se tiñen, pero los espermatozoides muertos se observaron de color rosado. Bajo el mismo principio y con el mismo frotis se realizó el recuento de los espermatozoides normales/anormales.

El porcentaje de espermatozoides vivos se determinó mediante la siguiente formula:

$$X = \frac{n \times 100}{N}$$

Donde:

X = Porcentaje de espermatozoides vivos.

N = número total de espermatozoides contados.

n = número de espermatozoides anormales hallados.

- **Concentración espermática**

La concentración espermática, se determinó utilizando una cámara de Neubauer (hemo citómetro); para ello se diluyo el semen puro, en solución de formol citrato en una proporción de 1:20. La cámara de Neubauer se instala deslizando la lámina con un poco de presión a lo largo de los bordes humedecidos donde se formaron los anillos de Newton (66, 54). La cámara de Neubauer consta de 2 hemicámaras, cada una de ellas contiene 16 cuadrados pequeños. Con la ayuda de una pipeta Pasteur se tomó una alícuota de semen diluido y homogeneizado y se colocó a cada hemicámara por capilaridad entre el piso de la cámara y la lámina que la cubre a esta. El tiempo para la sedimentación de las células espermáticas

es de 5 minutos (67), los resultados de obtuvieron utilizando la siguiente formula:

Total, espermatozoides en (4 x 40 cuadrados) X

10.000.000 para obtener la concentración/ml.

Este número se multiplico a continuación por el número de ml recogidos para obtener el número total de espermatozoides en el eyaculado.

3.3.8 Dilución del semen

La dilución del semen se realizó en una proporción de 1:1 ml (semen: dilutor) utilizando los diluyentes comerciales como Triladyl, Optixcell y AndroMed® (65), asegurando un recuento más de 100 a 150 millones de espermatozoides totales por inseminación. La dilución se ejecutó a una temperatura de 37°C teniendo presente que el diluyente se añadió con una pipeta entibiada, limpia y seca se dejó gotear por las paredes del tubo de recolección (41).

3.3.9 Empajillado y criopreservación del semen

Para la criopreservación de semen se utilizó un protocolo de congelación lenta, que consta de un proceso de enfriamiento y uno de congelación (26). En la primera etapa del enfriamiento, el semen de los ovinos se diluyó 1:1 con la primera fracción del diluyente a 35 °C; a continuación, la temperatura fue disminuyendo hasta alcanzar los 5 °C en un lapso de 90 min (1 °C por cada 3 min). En la segunda etapa, se añadió la segunda fracción del diluyente en una proporción 1:1 con el semen previamente diluido, durante 30 min se incubó la muestra a 5 °C, necesarios para estabilizarlo (13). Al término de este proceso de estabilización, el semen fue envasado en pajillas de 0.25 cc. A continuación, las pajillas fueron congeladas con los vapores de nitrógeno líquido, reduciendo la temperatura de 5°C a -25°C en un lapso de 6 min (5 °C/min), luego finalmente fueron sumergidas en el nitrógeno líquido (29).

- **Descongelado**

Luego de 30 días se procedió a descongelar las pajillas de semen, se colocó en un baño de maría las pajillas de 0,25 cc a temperatura de 35 - 37°C (similar a la temperatura testicular), se sumergieron durante 40 segundos (18), luego fueron retirados y limpiados con papel toalla desechable. Se realizó el mismo procedimiento para comprobar la movilidad y la viabilidad de los espermatozoides postcongelación (5).

3.4 Análisis estadístico

Los datos porcentuales de las variables motilidad y viabilidad espermáticas se analizaron previa transformación a valores angulares, bajo el arreglo factorial de 2 x 3 conducido al diseño completamente al azar utilizando el paquete estadístico de SAS v.9.4, y los promedios fueron contrastados con la prueba múltiple de significación de Tukey con $\alpha = 0.05$; y los resultados se han interpretado utilizando medidas de tendencia central y de dispersión (64).

CAPITULO IV: RESULTADOS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

4.1 Motilidad espermática

En el ANVA del anexo 2 (tabla 02), se observa que la variable motilidad espermática del semen de carneros, son significativamente diferentes ($p < 0.05$), la variabilidad por efecto de factores; así como el factor periodo de evaluación, tipo de dilutor influyen en la variación de la variable motilidad espermática; lo cual se presenta en forma detallada en la siguiente tabla.

Tabla 02. Motilidad espermática (%) del semen de carneros, según dilutor y periodo de evaluación.

Dilutores	Periodo Evaluación	n	Promedio	V.E.
Triladyl	Pre	5	83.4 ^a	81 – 86
	Post	5	68.4 ^a	66 - 71
Optixcell	Pre	5	72.8 ^c	71 – 74
	Post	5	57.8 ^c	56 - 59
Andromed	Pre	5	77.0 ^b	75 – 80
	Post	5	62.0 ^b	60 - 65

Fuente: Elaboración propia.

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Letras de color rojo indican diferencias estadísticas por efecto dilutor (a, b y c).

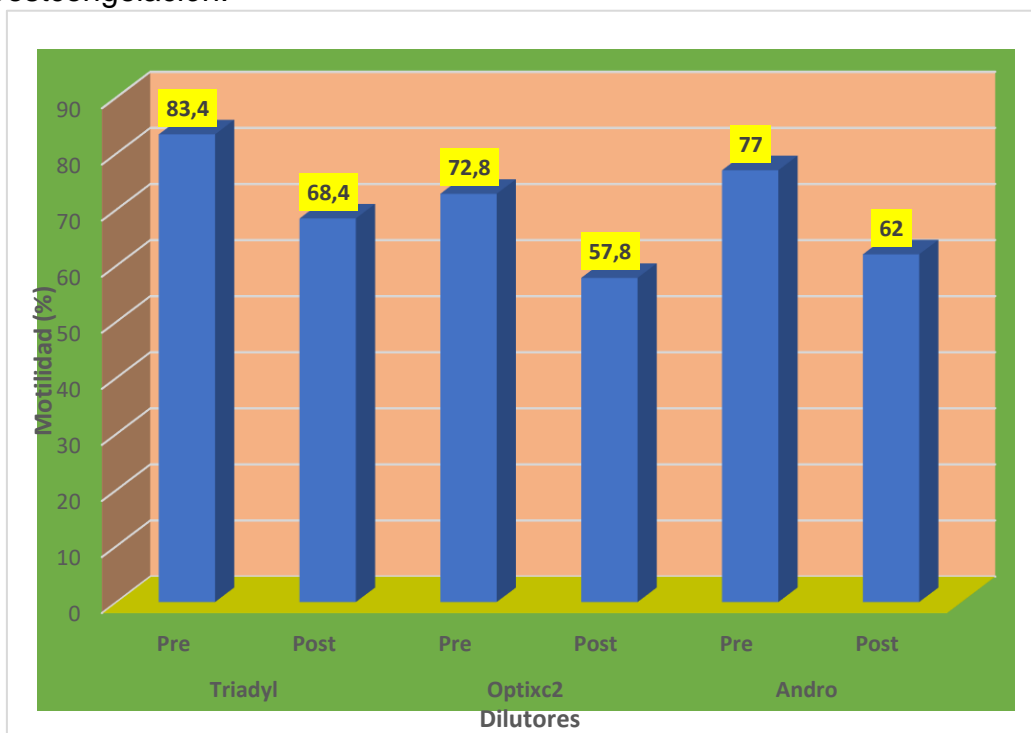
n: número o cantidad de animales

V.E. Valores extremos.

Pre: pre congelado

Post: post congelado

Gráfico 01. Motilidad espermática del semen de ovinos pre y postcongelación.



Fuente: Elaboración propia.

Pre: pre congelado

Post: post congelado

En la tabla 02 y en la grafico 01, se presentan valores de la variable motilidad espermática del semen de carneros; en donde dentro de cada dilutor por efecto periodo de evaluación pre y post congelación se aprecia la amplia diferencia de motilidad espermática ($p < 0.05$), variación debido al tiempo de preservación. Mientras el efecto dilutor antes de la congelación, es que el semen diluido con Triladyl muestra mayor motilidad de 83.4 %, seguido de Andromed 77.0 % y Optixcell menor motilidad de 72.8 %; asimismo en post congelación el semen con Triladyl refleja la mayor motilidad de 68.4 %, Andromed 62.0 % y Optixcell 57.8 % ($p < 0.05$).

4.2 Viabilidad espermática

El ANVA del anexo 2 (tablas 02), muestra diferencias altamente significativas ($p < 0.05$); en la variación de la variable viabilidad espermática del semen de carneros, que existe asimismo los factores periodo de evaluación, tipo de dilutor tuvieron efecto en la variación de la variable; lo cual se presenta en forma detallada en la siguiente tabla.

Tabla 03. Viabilidad espermática (%) del semen de carneros, según dilutor y periodo de evaluación.

Dilutores	Periodo Evaluación	N	Promedio	V.E.
Triladyl	Pre	5	78.2 ^a	78 – 82
	Post	5	54.4 ^a	54 - 57
Optixcell	Pre	5	72.4 ^b	72 – 74
	Post	5	44.4 ^a	43 - 46
Andromed	Pre	5	73.2 ^b	45 – 47
	Post	5	45.2 ^a	73 - 75

Fuente: Elaboración propia.

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

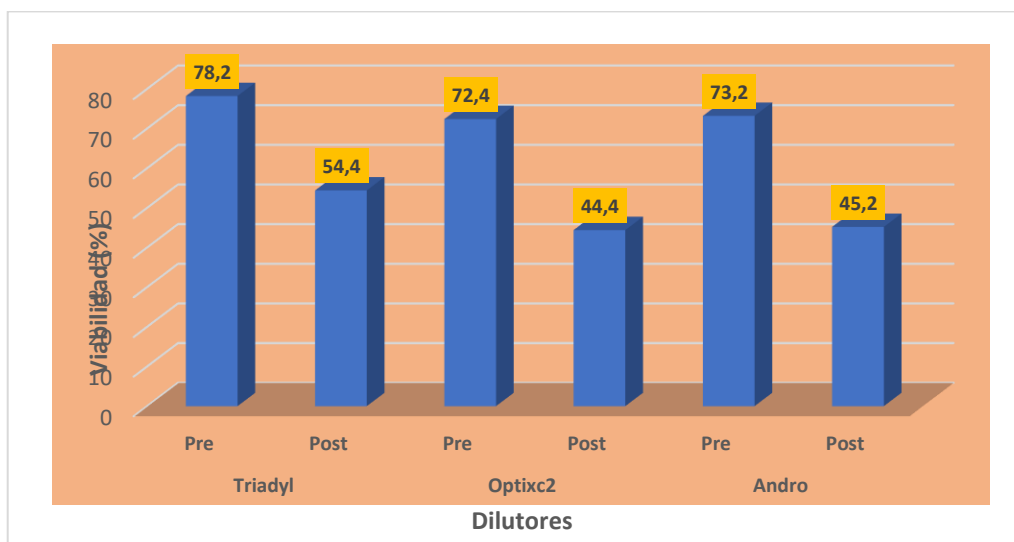
n: número o cantidad de animales

V.E. Valores extremos.

Pre: pre congelado

Post: postcongelado

Gráfico 02. Viabilidad espermática del semen del ovino pre y postcongelación.



Fuente: Elaboración propia.

Pre: pre congelado

Post: post congelado

La tabla 03 y gráfico 02, muestran valores de la variable viabilidad espermática del semen de carneros; en donde dentro de cada dilutor por efecto periodo de evaluación pre y post congelación se observa la amplia diferencia de viabilidad espermática ($p < 0.05$), esta variabilidad se debería al tiempo de preservación. Mientras el efecto dilutor antes de la

congelación, es que el semen diluido con Triladyl muestra mayor motilidad de 78.2 %, seguido de Andromed 73.2 % y con Optixcell menor viabilidad de 72.4 %; asimismo en post congelación el semen con Triladyl refleja la mayor viabilidad de 54.4 %, Andromed 45.2 % y Optixcell 44.4 % ($p < 0.05$).

DISCUSIONES

Motilidad espermática pre congelación

La motilidad individual del semen analizado con el dilutor triladyl, en la investigación realizada se obtuvo el promedio de 83.4%, mientras que Escudero (41), obtuvo 98.60 % de motilidad espermática. Otro trabajo de investigación de Ramos et al (16), obtuvo los siguientes resultados 74.33 %, por otro lado, Hernández (57), en su trabajo de investigación obtuvo 84.6 % de promedio. Con el dilutor Optixcell, la motilidad individual encontrada en el siguiente trabajo fue de 72.8 %, según el trabajo de investigación de Guerrero (23), con el dilutor optixcell se obtiene 80.0 % promedio. Con el Andromed la motilidad individual encontrada fue de 77.0%, mientras Escudero (41), difiere un resultado de 85.30%.

Viabilidad espermática pre congelación

La viabilidad individual encontrada en el siguiente trabajo con el dilutor triladyl fue de 78.2 %, mientras que Escudero (41), difiere un porcentaje de 97.60 %, los resultados de Hernández (57), fue de 87.6 % para la viabilidad espermática. El Optixcell, la viabilidad individual encontrada en el siguiente trabajo con el dilutor optixcell fue de 72.4 %, mientras Guerrero (23), obtuvo los resultados de 92.6 % promedio de viabilidad espermática en semen fresco. Con el Andromed la viabilidad individual encontrada en el siguiente trabajo con el dilutor andromed fue de 73.2 %, mientras que Escudero (41), tuvo resultados de 84.30%

Motilidad espermática de semen de ovinos post congelación

El dilutor Triladyl, la motilidad individual post descongelación en el siguiente trabajo con el dilutor triladyl fue de 68.4 %, mientras que Escudero (41), encontró resultados de 60.50%, el trabajo de investigación de Ramos et al. (16), tuvo resultados de 44.17% con el dilutor triladyl al descongelado, en el trabajo de investigación de Hernández (57), obtuvo 42.7 %. El dilutor Optixcell, la motilidad individual encontrada en el siguiente trabajo con el dilutor optixcell fue de 57.8 %, mientras, según el trabajo de Guerrero (23), obtuvo los siguientes resultados 56.8 % en promedio. El dilutor Andromed,

la motilidad individual encontrada en el siguiente trabajo con el dilutor andromed fue de 62.0 %, mientras que Escudero obtuvo resultados de 25.40%,

Viabilidad espermática de semen de ovinos post congelación

Con el dilutor Triladyl, la motilidad individual encontrada en el siguiente trabajo con el dilutor triladyl fue de 54.4 %, mientras que Escudero (41), en su trabajo de investigación encontró los siguientes resultados de 59.50%, Hernández (57), difiere en su trabajo de investigación un 62.8 %. Con el dilutor Optixcell, la motilidad individual encontrada en el siguiente trabajo con el dilutor Optixcell fue de 44.4 %, mientras que en el trabajo de investigación de Guerrero (23), fue de 53.6% en promedio. El dilutor Andromed, la motilidad individual encontrada en el siguiente trabajo con el dilutor andromed fue de 45.2 %, mientras que Escudero (41), obtuvo el siguiente resultado de 24.40%.

La diferencia por el efecto dilutor Triladyl contiene mayor motilidad y viabilidad espermática esto se debe al mayor porcentaje de capacidad crioprotectora en el semen fresco, ya que el Triadyl contiene yema de huevo de origen animal, donde su función es la nutrición y protección de las células espermáticas mientras los otros dilutores mencionado como Optixcell y Andromed no contienen ingredientes de origen animal, por lo que no son eficaces para nutrir y proteger las células espermáticas (15).

CONCLUSIONES

El dilutor Triladyl conserva mejor la motilidad y viabilidad espermática de ovinos en el momento de evaluación pre - congelación y post congelación comparando con otros dilutores que fueron utilizados en la investigación.

Con el uso del dilutor Optixcell disminuye la conservación de la motilidad y viabilidad espermática en el momento de evaluación pre - congelación y post congelación comparando con los demás dilutores Triladyl y el Andromed.

El dilutor Andromed es una alternativa para la conservación de la motilidad y viabilidad espermática en ovinos en el momento de evaluación pre - congelación y post congelación, pero en menor proporción que el dilutor Triladyl.

SUGERENCIAS

- El dilutor Triladyl se debe utilizar para conservar los espermatozoides del semen de los carneros, en el manejo reproductivo o inseminación artificial para coadyuvar o garantizar la mayor tasa de fertilidad en borregas.
- Difundir la recolección y la criopreservación de semen de ovino entre los productores ganaderos, para incentivar el mejoramiento genético de sus rebaños (carne, leche y lana).
- Realizar trabajos de investigación con otras razas de ovinos (pelo y leche) utilizando dilutores comerciales y naturales para comparar los resultados obtenidos en la presente investigación.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Cueto, M. Gibbons, A. Bruno, M. Fernández, G. Manual de obtención, procesamiento y conservación del semen ovino. In: INTA ediciones. Segunda edición. 2016. 1-22.
2. Hernández, R. Efecto del ritmo y frecuencia del eyaculado, sobre las características seminales en ovinos de raza Katahdin. Tesis de Posgrado. Universidad del Papaloapan. 2018. 1-64.
3. Sandoval, R. Santiani, A. Ruiz, L. Leyva, V. Coronado, L. Delgado A. Ovine semen cryopreservation using three extenders and four combinations of permeant and non-permeant agents. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2007;18(2): 107 - 114.
4. Gómez, C. Evaluación de la efectividad de un electroeyaculador experimental comparado a uno de marca comercial en ovinos. Tesis de Pregrado. Universidad Central del Ecuador. 2013. 1-88.
5. Sánchez, N. Efecto de dos dilutores sobre la motilidad y el porcentaje de espermatozoides vivos en el semen congelado de ovino (*Ovis aries*). *Ciencias Animales y lechería*. Tesis de grado. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 2009. 1-92.
6. Beriau, I. Calvo, E. Pérez, M. Efecto de la temperatura ambiente en el empaquetado de pajuelas sobre la calidad de semen ovino. Tesis Posgrado. Universidad de la República. 2016. 1-65.
7. Tejerina, F. Valoración mediante imágenes digitales del semen descongelado de verraco. Tesis Doctoral. Universidad de León. 2007. 1-75.
8. Balcázar, J. Porras, A. Manual de prácticas de manejo reproductivo de ovinos y caprinos. Universidad Nacional Autónoma de México. 2009. 1-64.
9. Carmenate, P. Gamcik, P. Different diluents for ram semen stored at room temperature or for 12 h at 5 °C and their effect on fertility. *Animal Breeding Abstracts*. 1986; 54(7): 1 – 7.
10. Cortes, S. Montero, T. y Vásquez, I. Viabilidad espermática de semen ovino durante 48 horas. VI Jornadas sobre Producción Animal. Zaragoza – España. Tomo I. 1995. 422 – 424.

11. Palacín I, Vicente, S. Santolaria, P. Yániz, J. Standardization of CASA sperm motility assessment in the ram. *Small Ruminant Research*. 2013; 112 (1-3): 128 - 35.
12. Suárez, M. Efecto de la suplementación de L - cisteína en el dilutor Tes-Tris-Yema, sobre la calidad espermática postdescongelamiento en alpaca (*vicugna pacos*). Tesis de pregrado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2014. 87 - 91.
13. Contri, A. Valorz, C. Faustini, M. Wegher, L. Carluccio, A. Effect of semen preparation on casa motility results in cryopreserved bull spermatozoa. *Theriogenology*. 2010; 74(3): 424-35.
14. Gil, J. Olivera, J. Preservación (Refrigeración y congelación) de semen ovino y su uso en la Inseminación Artificial Cervical. XXXIII Jornadas Uruguayas de Buiatría. 2005; 55 - 67
15. Pillajo, G. Evaluación de la viabilidad, motilidad y cambios de morfología espermática post descongelación de semen ovino de dos razas empleando tres tipos de diluyentes comerciales. Tesis de pregrado. Universidad Agraria del Ecuador. 2015. 1-113.
16. Ramos, L. Rojas, A. Martínez, Z. Efecto de dilutores y tiempos de equilibrio en la criopreservación de semen ovino (*Ovis aries*). *Revista de Investigación e innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*. 2017; 4(2): 63 – 71.
17. Cabrera, P. Orellana, J. Pantoja, P. Efecto de dos dilutores sobre la motilidad e integridad de la membrana espermática en semen congelado de ovinos. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2010; 5 (2): 154 - 160.
18. Ruiz, L. Sandoval, R. Santian, A. Evaluación de la calidad espermática del semen ovino posdescongelación al emplear dos fuentes energéticas y dos crioprotectores. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2015; 16(1); 49 - 56.
19. Hammerstedt, R. Graham, J. Nolan, J. Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. *Journal of Andrology*. 1990; 11(1): 73 - 88.

20. Cabrera, P. Integridad de la membrana citoplasmática en semen refrigerado y congelado de toros usando dos dilutores sintéticos. Tesis de pregrado. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2021. 1-99.
21. Pervage, S. Hassan, M. Ershaduzzaman, M. Khandoker M. Preservation of liquid semen and Artificial Insemination in native sheep. Research in Agricultural and Applied economics. 2010; 7(2): 305 – 308.
22. Acharya, M. Burke, J. Rorie R. Effect of Semen Extender and Storage Temperature on Motility of Ram Spermatozoa. Advances in Reproductive Sciences. 2020; 8(1): 14- 30.
23. Guerrero, G. Técnica de criopreservación de semen caprino, Santa Elena. Tesis de Pregrado. Universidad Estatal de Península de Santa Elena. 2021. 1-57.
24. Mellisho, S. Gallegos, C. Alvarado, M. Cabrera, P. Garcia G. “Reproducción e Inseminación Artificial en Ovinos”. Primera Edición. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2004. 1-136.
25. Romero, O. Evaluación de la Condición Corporal y Edad de los ovinos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Chile. 2015; 79: 1 - 4.
26. Córdova, A. Saltijeral, J. Muñoz, R. Córdova, M. Córdova, C. Guerra, J. Efecto del método de obtención de semen de ovino sobre la calidad espermática. 2006; 8(1): 1 - 4.
27. O’Hara, L. Hanrahana, J. Richardson, L. Donovan, A. Fair, S. Evans, A. Lonergan P. Effect of storage duration, storage temperature, and diluent on the viability and fertility of fresh ram sperm. Theriogenology. 2010; 73(4): 541 – 9.
28. Duarte, S. Boggero, C. Luna, J. Bonaparte, J. Fernández, G. Sosa, J. Extracción de semen con vagina artificial en carneros. Una práctica adquirida durante el cursado de Producción Ovina. V Jornada de Difusión de la Investigación y Extensión. 2004; 2: 1 - 2.
29. Noel, A. Dilución y congelación de semen de macho cabrio con el uso de dos dilutores tris y triladyl. Tesis de Pregrado. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2017. 1-50.

30. Guillén, M. Preñez en ovejas Dohne Merino por inseminación artificial con dos dilutores y tiempos de refrigeración. *Ciencia y Desarrollo*. 2019; 18(1): 50–7.
31. Yamasaki, A. Pedraza, P. Peralta, M. Yong, G. Rothschuh, J. Yamasaki, D. Diseño y construcción de electroeyaculador para ovinos y caprinos. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 2005; 8: 1 - 23.
32. López, J. Congelación de semen en la especie ovina: Características Biológicas de las dosis descongeladas. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. 1995. 1-157.
33. Carrillo, D. Hernández, D. Caracterización seminal de individuos ovinos criollos colombianos de pelo en el departamento de Sucre. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*. 2016; 8(2): 197 – 203.
34. Choque, F. Evaluación de la viabilidad espermática del semen refrigerado y tasa de preñez en ovejas criollas. Tesis de pregrado. Universidad Nacional del Altiplano. 2017, 48 - 53.
35. Cáceres, B. Evaluación espermática de semen de ovino tratado por la técnica de gradiente de densidad. Tesis de Pregrado. Universidad Ricardo Palma. 2013. 1-102.
36. Zhang, L. Wang, Y. Sun, X. Kang, Y. Sohail, T. Wang, J. Li, Y. Effects of different diluents on semen quality of hu ram stored at 4 °C. 2023; 13(18): 2823.
37. Mallma, P. Colorantes Diff – Quik y Eosina – Nigrosina en la evaluación morfológica de espermatozoides antes y después de la criopreservación del semen del toro Holstein. Tesis de Pregrado. Universidad Nacional de Micaela Bastidas de Apurímac. 2019. 1-69.
38. Prospero, V. Orellana, J. Pantoja, C. Efecto de dos dilutores sobre la motilidad e integridad de la membrana espermática en semen congelado de ovinos. *Revista de Investigación Veterinarias del Perú*. 2010; 21 (2): 154 -160.
39. Galarza, D. “Eficacia de dos diluyentes: TRIS + Lecitina de soya (AndroMed®) y Tris + yema de huevo (Triladyl ®), en la crioconservación de semen de toro de la raza Jersey en Cuenca. Tesis

- de Pregrado. Facultad de Ciencias Agropecuarias Universidad de Cuenca. 2013. 1-93.
40. Laruta, F. Loza, M. Delgado, P. Evaluación de características microscópicas de semen de llama (*Lama glama*) crioconservados en dos dilutores. *Journal of the Selva Andina animal science*. 2016; 3(1):1-12.
 41. Escudero, J. "Preservación de semen ovino mediante vitrificación y congelamiento lento, utilizando diferentes diluyentes comerciales. Tesis de Pregrado. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 2013, 67-81.
 42. Ramónéz, C. Evaluación de dos agentes crioprotectores no permeables y un diluyente comercial (triladyl) en la congelación de semen bovino. Tesis de Posgrado. Universidad de Cuenca. 2013. 1-100.
 43. Hafez, E. Hafez, B. Reproducción e inseminación artificial en animales. Mexico: Mc Graw – Hill Interamericana. 2004. 1-246.
 44. Otzen, T. Manterola, C. Técnicas de muestro sobre una población a estudio. *International Journal of Morphology*. 2017; 35(1): 227 – 232.
 45. Gómez, C. Evaluación de la efectividad de un electroeyaculador experimental comparado a uno de marca comercial en ovinos. Tesis de Pregrado. Universidad Central del Ecuador. 2013; 56 - 61.
 46. Steward, J. Protocolo de evaluación reproductiva del Macho ovino, en la unidad Rural ovina de la Universidad de los Llanos, Sede Barcelona. Tesis de pregrado. Universidad de los Llanos. 2021. 1-102.
 47. Farfán, D. Evaluación cualicuantitativa y congelabilidad del semen de carneros en dos temporadas en la sierra sur del Ecuador. Tesis de posgrado. Universidad de Cuenca. 2017. 1-73.
 48. Maza, J. Navarrete, L. Aguilar, A. Zamora, R. Magaña, H. Calidad seminal en ovinos Pelibuey con inclusión de Hibiscus rosa-sinensis en la dieta. *Nova Scientia*. 2015; 7(15): 33 – 48.
 49. Vargas, C. Crecimiento folicular y niveles séricos de progesterona en vacas criollas sometidas a protocolos de sincronización de celo en el Centro de Desarrollo Ganadero (CEDEGA) - Puerto Maldonado. Tesis

- de pregrado. Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios. 2018. 1-76.
50. Senamhi. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú - SENAMHI - Gobierno del Perú. Plataforma digital única del Estado Peruano. 2022.
51. Bodkhe, J. Dighe, H. Gupta, A. Bopche, L. Animal identification. International Conference on Advanced Computation and Telecommunication. 2018. 1 – 4.
52. Coyne, L. Cortada, L. Dalzell, J. Claudius, O. Haukeland, S. Luambano, N. Talwana, H. Plant-Parasitic Nematodes and Food Security in Sub-Saharan Africa". Annual Review of Phytopathology. Annual Reviews. 2018; 56 (1): 381–403.
53. Balcázar, J. Porras, A. Manual de prácticas en Manejo reproductivo en ovinos y caprinos. Universidad Nacional Autónoma de México. 2013. 1-64.
54. Cueto, M. Gibbons, A. Garcia, J. Wolff, M. Arrigo, J. Manual de obtención de procesamiento y conservación del semen ovinos, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires, Argentina. 2010. 1-24.
55. García, J. Urbajo, A. Manual de laboratorio para el análisis de semen. Prieria Edición OmniaScience. Omnia Publisher SL. 2012. 1-29.
56. Delgado, B. Evaluación espermática de semen de ovino tratado por la técnica de gradiente de densidad. Tesis de pregrado. Universidad Ricardo Palma. 2013. 1-112.
57. Hernandez, R. Fernandez, S. Rodriguez, R. Juarez, M. Soto, R. Effect of cryopreservation of sheep semen related to its viability and acrosomal status. Revista Salud Animal. 2012; 34(2): 78-83.
58. Palmer, C. Welfare aspects of theriogenology: Investigating alternatives to electroejaculation of bulls. Theriogenology. 2005; 64(1): 469-479.
59. Vredenburg, W. Parrish, J. Intracellular pH of bovine sperm increases during capacitation. Molecular Reproduction and Development. 1995; 40: 490 - 502.

60. Aisen, E. Medina, V. Venturino, A. Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations. *Theriogenology*. 2002; 57(1): 1801-1808.
61. Carrascal, E. Moya, D. Herrera, N. Cañas, J. Características seminales de ovinos bajo condiciones ambientales del Caribe Colombiano. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2022; 33(4): 1 – 11.
62. Córdova, A. Saltijeral, J. Muñoz, R. Córdova, M. Córdova, C. Guerra, J. Efecxto del método de obtención de semen de ovino sobre la calidad espermática. *Revista Electronica de Veterinaria*. 2006; 7(8): 1- 4.
63. Arieta, R. Fernández, J. Machaca, J. Métodos de extracción de semen bovino. *Revista Electrónica de Veterinaria*. 2014; 15(5): 1 - 8.
64. García, L. Estadística aplicada para la investigación Científica. Editor Independently Published. 2020; 55 – 81.
65. Noel, A. Dilución y congelación de semen de Macho Cabrio con el uso de dos dilutores Tris y Triladyl. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Agraria La Molina. 2017. 1-50.
66. Hernández, R. Efecto del ritmo y frecuencia del eyaculado, sobre las características seminales en ovinos raza Katahdin. Tesis de postgrado. Universidad del Papaloapan. 2018. 1-64.
67. Choquepuma, W. Ordoñez, C. Quispe, H. & Cucho, H. Efecto de la congelación en los parámetros morfométricos del espermatozoide carnero. *Asociación Peruana de Reproducción Animal. Spermova*. 2017; 7(1): 48 - 52.
68. Crespo, C. Evaluación de semen bovino utilizando medios comerciales de preservación, provincia de Morona Santiago, Ecuador. Universidad nacional de Córdoba. Tesis de pregrado. 2020. 1-35.

ANEXO


Anexo 01. Matriz de operacionalización de las variables

DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIONES OPERACIONALES	DIMENSIONES	INDICADOR ES
<p style="text-align: center;">VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p style="text-align: center;">Dilutor:</p> <p>Mantener o mejorar el entorno de los espermatozoides proporcionándoles energía y protección contra productos metabólicos y las fluctuaciones de temperatura</p>	<p>La dilución del semen se realizó en una proporción de 1:1 ml (semen: dilutor) utilizando dilutores comerciales como, Triladyl, Optixcell y Andromed, garantizando una cantidad de más 100 a 150 millones de espermatozoides totales por dosis de inseminación.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Triladyl • Optixcell • Andromed 	<p>Porcentaje (%)</p> <p>ml</p>
<p style="text-align: center;">VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p style="text-align: center;">Motilidad espermática</p> <p>La motilidad de los espermatozoides es una característica de la calidad seminal porque determina la eficacia de la migración de los espermatozoides a través del tracto genital de la hembra.</p> <p style="text-align: center;">Viabilidad espermática</p> <p>La viabilidad nos permite saber el número de espermatozoides vivos de una colecta de semen.</p>	<p>La muestra de semen se obtuvo previamente ubicada en el baño maría a 37°C. y se extrajo una gota utilizando una varilla de cristal se tomó una gota y fue colocado sobre un portaobjetos para su observación en el microscopio.</p> <p>La motilidad mas al se observó al formarse "olas" y su calificación fue por el grado de motilidad en una escala de 0 a 5 donde (0= muy mala; 5= excelente).</p> <p>La Viabilidad del semen fue determinado por la tinción de eosina-nigrosina.</p> <p>Se toma una gota de semen y este fue colocado sobre un portaobjetos. Se añadió una gota de eosina, y se homogenizo la mezcla y luego se agregó una gota de nigrosina. Después de 1 minuto se realizó el frotis. A continuación, fue observado en el microscopio sin cubreobjetos y se inició con el recuento de las células vivas y muertas.</p>	<p style="text-align: center;">Motilidad individual</p> <p style="text-align: center;">masal</p> <p style="text-align: center;">Vivos muertos</p>	<p>Porcentaje (%)</p>


Anexo 02. Matrix de consistencia

TÍTULO: "EFECTO DE TRES TIPOS DE DILUTORES SOBRE LA VIABILIDAD Y MOTILIDAD ESPERMÁTICA EN SEMEN CONGELADO DE OVINOS DEL TROPICO ENMADRE DE DIOS"				
NOMBRE DEL TESISISTA: WILLER HURTADO ESPINOZA				
PROBLEMA	OBJETIVO	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Cuál será el efecto de tres dilutores en la viabilidad y motilidad espermática al descongelado del semen de ovino del trópico?	<p>General:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar el efecto de dilutores en la viabilidad y motilidad espermática al descongelado del semen de ovino del trópico. 	<p>Ha. El efecto de los dilutores en el porcentaje de la viabilidad y la motilidad espermática en ovinos del trópico tiene diferencia significativa.</p> <p>Ho. El efecto de los dilutores en el porcentaje de la viabilidad y la motilidad espermática en ovinos del trópico no tiene diferencia significativa.</p> <p>Ha. El efecto del dilutor Triadyl en el porcentaje de la viabilidad y la motilidad espermática en ovinos del trópico no tiene diferencia significativa.</p> <p>Ho. El efecto del dilutor Triadyl en el porcentaje de la viabilidad y la motilidad espermática en ovinos del trópico tiene diferencia significativa.</p>	<p>Variables dependientes</p> <p>Dimensiones: Motilidad individual del espermatozoide</p> <p>Vivos y muertos</p> <p>Indicadores: porcentaje %</p> <p>Variables independientes</p> <p>Dimensiones:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Dilutores Triadyl • Dilutores Optixcell • Dilutores Andromed <p>Indicadores: Porcentaje (%), ml</p>	<p>Enfoque: Cuantitativo</p> <p>Diseño: experimental</p> <p>Nivel: investigación</p> <p>Tipo: laboratorio</p> <p>Métodos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluación de los animales • Selección de los animales • Recolección de semen. • Examen macroscópico del semen. • Examen microscópico del semen. • Dilución del semen. • Empajillado del semen. • Criopreservación del semen. • Almacenamiento • Descongelación de las pajillas • Análisis del semen post congelación. <p>Técnicas instrumentales de muestreo: No probabilista</p> <p>De recolección de datos: tabulada utilizando el programa a Excel</p> <p>De procesamiento de datos: Con arreglo factorial de 2 (antes y después de congelación) x 3 (triladyl, optixcell y andromed), conducido al diseño completamente al azar, Los indicadores fueron interpretados mediante medidas de tendencia central y de dispersión</p> <p>De análisis: paquete estadístico de SAS v.9.4</p> <p>Población: 40 unidades.</p> <p>Muestra: 5 ovinos</p>
<p>¿Cuál será el efecto del dilutor Andromed en la motilidad y viabilidad del semen de ovino del trópico?</p> <p>¿Cuál será el efecto del dilutor Triadyl en la motilidad y viabilidad del semen de ovino del trópico?</p> <p>¿Cuál será el efecto del dilutor Optixcell en la motilidad y viabilidad del semen de ovino del trópico?</p>	<p>Objetivos Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Evaluar el efecto del dilutor Triadyl en la motilidad y viabilidad del semen de ovino del trópico □ Evaluar el efecto del dilutor Optixcell en la motilidad y viabilidad del semen de ovino del trópico. • Evaluar el efecto del dilutor Andromed en la motilidad y viabilidad del semen de ovino del trópico • 	<p>Ha. El efecto del dilutor Optixcell en el porcentaje de la viabilidad y la motilidad espermática en ovinos del trópico no tiene diferencia significativa.</p> <p>Ho. El efecto del dilutor Optixcell en el porcentaje de la viabilidad y la motilidad espermática en ovinos del trópico tiene diferencia significativa.</p> <p>Ha. El efecto del dilutor Andromed en el porcentaje de la viabilidad y la motilidad espermática en ovinos del trópico no tiene diferencia significativa.</p> <p>Ho. El efecto del dilutor Andromed en el porcentaje de la viabilidad y la motilidad espermática en ovinos del trópico tiene diferencia significativa.</p>		

Anexo 03. Constancia emitida por el administrador del Centro de Desarrollo Ganadero CEDEGA



GOBIERNO REGIONAL MADRE DE DIOS
CENTRO DE DESARROLLO GANADERO - CEDEGA



*“Año de la Unidad, la paz y el desarrollo”
“Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú”*

Constancia

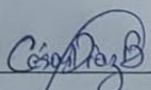
El que suscribe, Administrador (e) del Centro de Desarrollo Ganadero de Madre de Dios - CEDEGA.

Hace constar:

*Que el Sr. **Willer HURTADO ESPINOZA** con DNI 48327207, desarrolló su proyecto de investigación titulado “Efecto de tres tipos de dilutores sobre la viabilidad y motilidad espermática en semen congelado de ovinos del trópico en Madre de Dios”, en el Laboratorio de Biotecnología del Centro de Desarrollo Ganadero CEDEGA.*

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que estime necesario.

Puerto Maldonado, 31 de octubre del 2023.



MV. CESAR DÍAZ BARRUETA
ADMINISTRADOR (E)
CENTRO DE DESARROLLO GANADERO
CEDEGA

Anexo 04. Tablas de recopilación de datos de la investigación realizada.

Tabla 04. Cantidad y selección de ovinos machos para la investigación.

N°	NÚMERO DE ANIMAL (Ovinos)	EDAD	CC	ENFERMEDADES Y PATOLOGIA REPRODUCTIVAS (SI) o (NO)	OBSERVACIONES
1	OVINO 01	Dos dientes	3.5	NO	
2	OVINO 02	Dientes de leche	2.5	NO	
3	OVINO 03	Dientes de leche	2	SI	Pedera
4	OVINO 04	Dientes de leche	2.5	NO	Pelibuey
5	OVINO 05	Dos dientes	3	NO	
6	OVINO 06	Dientes de leche	4	NO	
7	OVINO 07	Dientes de leche	4	NO	Castrados
8	OVINO 08	Dientes de leche	2	NO	
9	OVINO 09	Dientes de leche	3.5	NO	
10	OVINO 10	Dientes de leche	4	NO	Castrados
11	OVINO 11	Dientes de leche	4	NO	Castrados
12	OVINO 12	Dientes de leche	3.5	NO	Castrados
13	OVINO 13	Dientes de leche	3.5	NO	Castrados
14	OVINO 14	Cuatro Dientes	2.5	NO	
15	OVINO 15	Diente de leche	3.5	NO	Castrados
16	OVINO 16	Dos dientes	3	NO	
17	OVINO 17	Dientes de leche	4.5	NO	Castrados
18	OVINO 18	Dientes de leche	4	NO	Castrados
19	OVINO 19	Cuatro Dientes	3	NO	Desvió del pene
20	OVINO 20	Seis Dientes	3.5	NO	Desvió del pene
21	OVINO 21	Dientes de leche	3	NO	Castrados

22	OVINO 22	Dientes de leche	3.5	NO	Castrados
23	OVINO 23	Dos dientes	3	NO	
24	OVINO 24	Dos dientes	4.5	SI	Balanopostitis
25	OVINO 25	Dos dientes	4.5	NO	Ausencia de libido
26	OVINO 26	Dientes de leche	3	NO	Castrados
27	OVINO 27	Dientes de leche	4.5	NO	Castrados
28	OVINO 28	Dientes de leche	3	NO	Castrados
29	OVINO 29	Dientes de leche	3.5	NO	Castrados
30	OVINO 30	Dientes de leche	3.5	NO	Castrados
31	OVINO 31	Cuatro dientes	4	NO	Orquitis
32	OVINO 32	Dientes de leche	4.5	NO	Castrados
33	OVINO 33	Dientes de leche	4.5	NO	Castrados
34	OVINO 34	Dos dientes	3.5	NO	
35	OVINO 35	Dientes de leche	3	NO	Castrados
36	OVINO 36	Dientes de leche	3	NO	Castrados
37	OVINO 37	Dientes de leche	3	NO	Castrados
38	OVINO 38	Dientes de leche	3.5	NO	Castrados
39	OVINO 39	Dientes de leche	3	NO	Castrados
40	OVINO 40	Dientes de leche	4	NO	Castrados

Fuente: Elaboración Propia

CC: Condición corporal

Tabla 05. Selección de ovinos de acuerdo a la edad, Condición corporal (CC), enfermedades y patologías reproductivas, circunferencia escrotal.

N°	ANIMAL (Ovino)	NOMBRE	EDAD	CC	ENFERMEDADES Y PATOLOGIA REPRODUCTIVAS (SI) o (NO)	C. E.
1	OVINO 01	TITO	DOS DIENTES	3.5	NO	27
2	OVINO 05	PANCHO	DOS DIENTES	3	NO	26.5
3	OVINO 16	DANES	DOS DIENTES	3	NO	25.5
4	OVINO 23	PEPE	DOS DIENTES	3	NO	27
5	OVINO 34	JUANITO	DOS DIENTES	3.5	NO	26

Fuente: Elaboración Propia.

I = Primera semana; II = Segunda semana; III = Tercera semana; IV = Cuarta semana; V = Quinta semana.

Tabla 06. Volumen de semen (ml) de Ovinos por cada eyaculado, recolectados semanalmente.

N°	ANIMAL (Ovino)	NOMBRE	SEMANA				
			I	II	III	IV	V
1	OVINO 01	TITO	0.9	1.5	1.2	1.3	1.4
2	OVINO 05	PANCHO	1.6	1.4	1.5	1.7	1.5
3	OVINO 16	DANES	1.2	1.1	1.3	1.2	1.1
4	OVINO 23	PEPE	1.2	0.7	0.9	1.1	0.9
5	OVINO 34	JUANITO	1.3	1.7	1.4	1.5	1.5

Fuente: Elaboración Propia.

I = Primera semana; II = Segunda semana; III = Tercera semana; IV = Cuarta semana; V = Quinta semana.

Tabla 07. Color de semen de ovinos recolectados semanalmente.

N°	ANIMAL	NOMBRE	SEMANA				
			I	II	III	IV	V
1	OVINO 01	TITO	B - L	B - C	B - L	B - L	B - L
2	OVINO 05	PANCHO	B - L	B - L	B - L	B - C	B - L
3	OVINO 16	DANES	B - L	B - L	B - C	B - L	B - L
4	OVINO 23	PEPE	B - C	B - L	B - L	B - L	B - L
5	OVINO 34	JUANITO	B - L	B - L	B - L	B - L	B - L

Fuente: Elaboración Propia.

I = Primera semana; II = Segunda semana; III = Tercera semana; IV = Cuarta semana; V = Quinta semana.

Blanco Lechoso = B - L; Blanco cremosos = B - C

Tabla 08. pH del semen de ovinos recolectado semanalmente.

N°	ANIMAL	NOMBRE	SEMANA				
			I	II	III	IV	V
1	OVINO 01	TITO	6.4	6.6	6.3	6.4	6.3
2	OVINO 05	PANCHO	6.3	6.7	6.7	6.6	6.5
3	OVINO 16	DANES	6.2	6.4	6.4	6.7	6.5
4	OVINO 23	PEPE	6.5	6.3	6.6	6.5	6.4
5	OVINO 34	JUANITO	6.2	6.4	6.2	6.4	6.5

Fuente: Elaboración Propia.

I = Primera semana; II = Segunda semana; III = Tercera semana; IV = Cuarta semana; V = Quinta semana.

Tabla 09. Motilidad masal (%) de espermatozoides de ovinos.

DILUTOR	ANIMAL (Ovino)	NOMBRE	SEMANA				
			I	II	III	IV	V
TRILADYL	OVINO 01	TITO	3	3.5	3.5	3.5	4
	OVINO 05	PANCHO	3.5	3	4	3.5	3
	OVINO 16	DANES	3	2.5	3	3	3.5
	OVINO 23	PEPE	3.5	4	3.5	3.5	4
	OVINO 34	JUANITO	2.5	3.5	4	4	3.5
OPTIXCELL	OVINO 01	TITO	2.5	3.5	3	3	3
	OVINO 05	PANCHO	3	4	3	3.5	2.5
	OVINO 16	DANES	3	3.5	3.5	4	3.5
	OVINO 23	PEPE	3.5	4	3	2.5	2.5
	OVINO 34	JUANITO	3	3	3.5	3	3.5
ANDROMED	OVINO 01	TITO	3.5	3	2.5	4	2.5
	OVINO 05	PANCHO	4	3	3	3.5	2.5
	OVINO 16	DANES	2.5	4	2.5	3	4
	OVINO 23	PEPE	3	2.5	3.5	3.5	3
	OVINO 34	JUANITO	4	3.5	3	2.5	2.5

Fuente: Elaboración Propia.

I = Primera semana; II = Segunda semana; III = Tercera semana; IV = Cuarta semana; V = Quinta semana.

Tabla 10. Motilidad individual (%) de espermatozoides de ovinos utilizando los dilutores Triladyl, Optixcell y Andromed.

DILUTOR	ANIMAL (Ovino)	NOMBRE	SEMANA				
			I	II	III	IV	V
TRILADYL	OVINO 01	TITO	85	89	87	85	84
	OVINO 05	PANCHO	83	84	86	82	87
	OVINO 16	DANES	84	81	78	81	83
	OVINO 23	PEPE	86	87	83	85	84
	OVINO 34	JUANITO	83	82	81	78	79
OPTIXCELL	OVINO 01	TITO	72	73	69	74	73
	OVINO 05	PANCHO	75	76	72	73	75
	OVINO 16	DANES	73	72	73	71	74
	OVINO 23	PEPE	71	74	75	73	76
	OVINO 34	JUANITO	73	69	69	71	73
ANDROMED	OVINO 01	TITO	78	73	74	72	76
	OVINO 05	PANCHO	77	80	79	77	78
	OVINO 16	DANES	76	75	77	74	75
	OVINO 23	PEPE	81	78	81	80	79
	OVINO 34	JUANITO	71	78	75	79	81

Fuente: Elaboración Propia.

I = Primera semana; II = Segunda semana; III = Tercera semana; IV = Cuarta semana; V = Quinta semana.

Tabla 11. Viabilidad espermática (%) de semen de ovinos utilizando los dilutores Triladyl, Optixcell y Andromed.

DILUTOR	ANIMAL (Ovino)	NOMBRE	SEMANA				
			I	II	III	IV	V
TRILADYL	OVINO 01	TITO	81	82	84	83	81
	OVINO 05	PANCHO	77	72	74	71	76
	OVINO 16	DANES	79	76	79	77	80
	OVINO 23	PEPE	80	82	78	79	82
	OVINO 34	JUANITO	78	76	80	75	74
OPTIXCELL	OVINO 01	TITO	74	70	73	70	71
	OVINO 05	PANCHO	70	73	72	73	74
	OVINO 16	DANES	72	74	76	74	73
	OVINO 23	PEPE	74	73	70	74	72
	OVINO 34	JUANITO	73	71	69	73	71
ANDROMED	OVINO 01	TITO	74	73	71	73	71
	OVINO 05	PANCHO	73	75	75	74	74
	OVINO 16	DANES	76	78	74	77	71
	OVINO 23	PEPE	73	76	71	73	74
	OVINO 34	JUANITO	72	74	72	71	72

Fuente: Elaboración Propia.

I = Primera semana; II = Segunda semana; III = Tercera semana; IV = Cuarta semana; V = Quinta semana.

Tabla 12. Motilidad espermática (%) de semen de ovinos postcongelación utilizando los dilutores Triladyl, Optixcell y Andromed.

DILUTOR	ANIMAL (Ovino)	NOMBRE	SEMANA				
			I	II	III	IV	V
TRILADYL	OVINO 01	TITO	70	74	72	70	69
	OVINO 05	PANCHO	68	69	71	67	72
	OVINO 16	DANES	69	66	63	66	68
	OVINO 23	PEPE	71	72	68	70	69
	OVINO 34	JUANITO	68	67	66	63	64
OPTIXCELL	OVINO 01	TITO	57	58	54	59	58
	OVINO 05	PANCHO	60	61	57	58	60
	OVINO 16	DANES	58	57	58	56	59
	OVINO 23	PEPE	56	59	60	58	61
	OVINO 34	JUANITO	58	54	54	56	58
ANDROMED	OVINO 01	TITO	63	58	59	57	61
	OVINO 05	PANCHO	62	65	64	62	63
	OVINO 16	DANES	61	60	62	59	60
	OVINO 23	PEPE	66	63	66	65	64
	OVINO 34	JUANITO	56	63	60	64	66

Fuente: Elaboración Propia.

I = Primera semana; II = Segunda semana; III = Tercera semana; IV = Cuarta semana; V = Quinta semana.

Tabla 13. Viabilidad espermática (%) de semen de ovinos postcongelación utilizando los dilutores Triladyl, Optixcell y Andromed.

DILUTOR	ANIMAL (Ovino)	NOMBRE	SEMANA				
			I	II	III	IV	V
TRILADYL	OVINO 01	TITO	57	55	59	57	55
	OVINO 05	PANCHO	52	54	51	49	53
	OVINO 16	DANES	56	54	51	53	55
	OVINO 23	PEPE	56	58	59	55	58
	OVINO 34	JUANITO	53	49	55	53	48
OPTIXCELL	OVINO 01	TITO	46	42	45	42	43
	OVINO 05	PANCHO	42	45	44	45	46
	OVINO 16	DANES	44	46	48	46	45
	OVINO 23	PEPE	46	45	42	46	44
	OVINO 34	JUANITO	45	43	41	45	43
ANDROMED	OVINO 01	TITO	46	45	44	45	43
	OVINO 05	PANCHO	45	47	47	46	46
	OVINO 16	DANES	48	50	46	49	43
	OVINO 23	PEPE	45	47	43	43	46
	OVINO 34	JUANITO	44	43	44	42	44

Fuente: Elaboración Propia.

I = Primera semana; II = Segunda semana; III = Tercera semana; IV = Cuarta semana; V = Quinta semana.

Anexo 05. Resultados estadísticos del trabajo de investigación

Tabla 14. ANVA para motilidad espermática del semen de carneros.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2257.37	5	451.47	117.78	<0.0001
tiempo	1687.50	1	1687.50	440.22	<0.0001
Dilutores	569.87	2	284.93	74.33	<0.0001
tiempo*Dilutores	0.00	2	0.00	0.00	>0.9999
Error	92.00	24	3.83		
Total	2349.37	29			

Tabla 15. Medidas resumen.

tiempo	Dilutores	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	CV	Mín	Máx	Mediana
POST CONGELACIÓN	Andromed	Motilidad	5	62.00	2.12	0.95	3.42	60.00	65.00	62.00
POST CONGELACIÓN	Optixcell	Motilidad	5	57.80	1.30	0.58	2.26	56.00	59.00	58.00
POST CONGELACIÓN	Triladyl	Motilidad	5	68.40	2.30	1.03	3.37	66.00	71.00	69.00
PRECONGELACIÓN	Andromed	Motilidad	5	77.00	2.12	0.95	2.75	75.00	80.00	77.00
PRECONGELACIÓN	Optixcell	Motilidad	5	72.80	1.30	0.58	1.79	71.00	74.00	73.00
PRECONGELACIÓN	Triladyl	Motilidad	5	83.40	2.30	1.03	2.76	81.00	86.00	84.00

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Motilidad	30	0.96	0.95	2.79

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.47552

Error: 3.8333 gl: 24

tiempo	Medias	n	E.E.
POST CONGELACIÓN	62.73	15	0.51 A
PRECONGELACIÓN	77.73	15	0.51 B

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=2.18661

Error: 3.8333 gl: 24

Dilutores	Medias	n	E.E.
Optixcell	65.30	10	0.62 A
Andromed	69.50	10	0.62 B
Triladyl	75.90	10	0.62 C

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=3.82867

Error: 3.8333 gl: 24

tiempo	Dilutores	Medias	n	E.E.
POST CONGELACIÓN	Optixcell	57.80	5	0.88 A
POST CONGELACIÓN	Andromed	62.00	5	0.88 B
POST CONGELACIÓN	Triladyl	68.40	5	0.88 C
PRECONGELACIÓN	Optixcell	72.80	5	0.88 D
PRECONGELACIÓN	Andromed	77.00	5	0.88 E
PRECONGELACIÓN	Triladyl	83.40	5	0.88 F

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Tabla 16. ANVA para viabilidad espermática del semen de carneros.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	5714.30	5	1142.86	311.69	<0.0001
tiempo	5306.70	1	5306.70	1447.28	<0.0001
Dilutores	378.20	2	189.10	51.57	<0.0001
tiempo*Dilutores	29.40	2	14.70	4.01	0.0315
Error	88.00	24	3.67		
Total	5802.30	29			

Medidas resumen

tiempo	Dilutores	Variable	n	Media	D.E.	E.E.	CV	Min	Máx	Mediana
POST CONGELACIÓN	Andromed	Viabilidad	5	45.20000	1.48324	0.66332	3.28150	43.00000	47.00000	45.00000
POST CONGELACIÓN	Optixcell	Viabilidad	5	44.40000	1.14018	0.50990	2.56796	43.00000	46.00000	44.00000
POST CONGELACIÓN	Triladyl	Viabilidad	5	54.40000	2.50998	1.12250	4.61393	52.00000	57.00000	54.00000
PRECONGELACIÓN	Andromed	Viabilidad	5	73.20000	1.30384	0.58310	1.78120	72.00000	75.00000	73.00000
PRECONGELACIÓN	Optixcell	Viabilidad	5	72.40000	1.14018	0.50990	1.57483	71.00000	74.00000	72.00000
PRECONGELACIÓN	Triladyl	Viabilidad	5	78.20000	3.03315	1.35647	3.87871	74.00000	82.00000	78.00000

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Viabilidad	30	0.98	0.98	3.12

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=1.44309

Error: 3.6667 gl: 24

tiempo	Medias	n	E.E.	
POST CONGELACIÓN	48.00	15	0.49	A
PRECONGELACIÓN	74.60	15	0.49	B

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$)**Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=2.13855**

Error: 3.6667 gl: 24

Dilutores	Medias	n	E.E.	
Optixcell	58.40	10	0.61	A
Andromed	59.20	10	0.61	A
Triladyl	66.30	10	0.61	B

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$)**Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=3.74451**

Error: 3.6667 gl: 24

tiempo	Dilutores	Medias	n	E.E.	
POST CONGELACIÓN	Optixcell	44.40	5	0.86	A
POST CONGELACIÓN	Andromed	45.20	5	0.86	A
POST CONGELACIÓN	Triladyl	54.40	5	0.86	B
PRECONGELACIÓN	Optixcell	72.40	5	0.86	C
PRECONGELACIÓN	Andromed	73.20	5	0.86	C
PRECONGELACIÓN	Triladyl	78.20	5	0.86	D

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Anexo 06. Panel fotográfico

Fig. 01. Centro de Desarrollo Ganadero CEDEGA, lugar donde se realizó la ejecución del trabajo de investigación (tesis)



Fig. 02. Laboratorios de Biotecnología reproductiva CEDEGA juntamente con los asesores y personal de apoyo.



Fig. 03 y 04. Selección de ovinos para la investigación de acuerdo a las características requeridas



Fig. 05 y 06. Inspección genital y medida de la circunferencia escrotal de los ovinos



Fig. 07 y 08. Seleccionando a los animales (ovinos) de acuerdo a su Cronología dentaria.



Fig. 09 y 10. Procedimiento en la recolección de semen en ovinos por electroeyaculador



Fig. 11 y 12. Obtención y evaluación macroscópica (color, volumen y densidad) de semen obtenido de ovinos.



Fig. 13 y 14. Evaluación microscópica (Motilidad y viabilidad espermática) del semen de los ovinos



Fig. 15 y 16. Dilución del semen de ovino utilizando dilutores comerciales (Andromed, Triladyl y optixcell)



Fig. 17,18 y 19. Materiales y proceso de empajillamiento de semen de ovinos



Fig. 20 y 21. Criopreservación de semen de ovinos utilizando nitrógeno líquido, método convencional.



Fig. 22 y 23. Pajillas de semen de ovinos almacenados en el tanque criogénico (nitrógeno líquido).



Fig. 24 y 25. Descongelación de las pajillas que contiene semen en un baño maría para su evaluación.

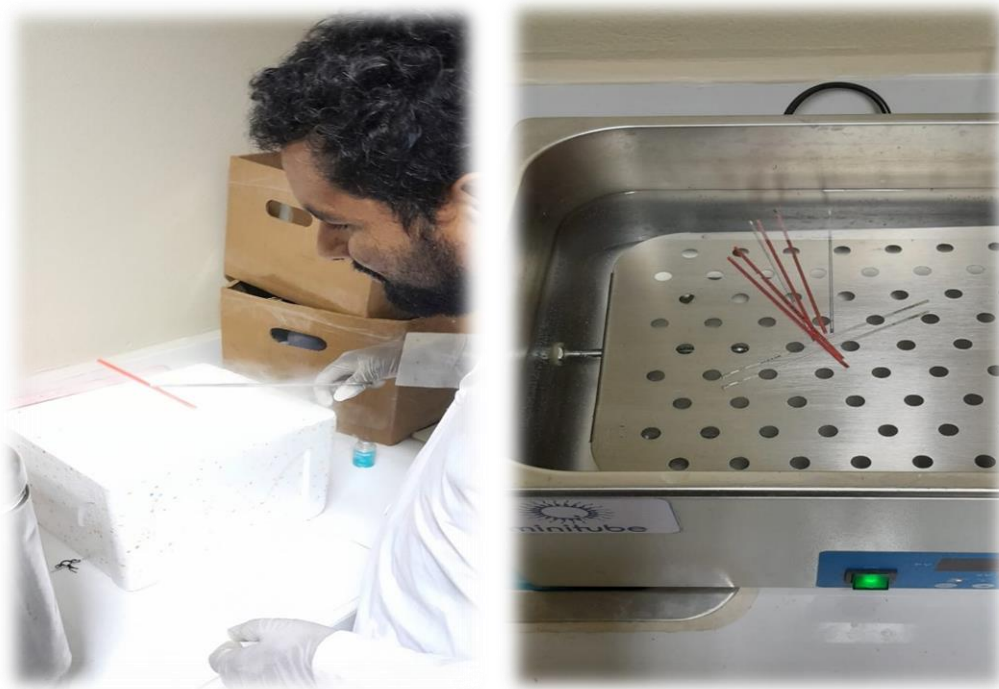


Fig. 26 y 27. Evaluación de la viabilidad y motilidad espermática del semen de ovinos post congelación.

