

# FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

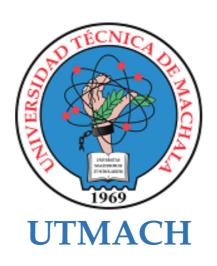
#### CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

Valoración de la calidad espermática del semen porcino utilizando tres diluyentes conservantes diferentes en la Granja Santa Inés

ZAPATA PALADINES GEANCARLO GABRIEL MEDICO VETERINARIO

VALERIANO GAONA PAULO ALESSANDRO MEDICO VETERINARIO

> MACHALA 2025



# FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

# CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

Valoración de la calidad espermática del semen porcino utilizando tres diluyentes conservantes diferentes en la Granja Santa Inés

ZAPATA PALADINES GEANCARLO GABRIEL MEDICO VETERINARIO

VALERIANO GAONA PAULO ALESSANDRO MEDICO VETERINARIO

> MACHALA 2025



# FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

# CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

TRABAJOS EXPERIMENTALES

Valoración de la calidad espermática del semen porcino utilizando tres diluyentes conservantes diferentes en la Granja Santa Inés

ZAPATA PALADINES GEANCARLO GABRIEL MEDICO VETERINARIO

VALERIANO GAONA PAULO ALESSANDRO MEDICO VETERINARIO

SANCHEZ QUINCHE ANGEL ROBERTO

MACHALA 2025



# Valoración de la calidad espermática del semen porcino utilizando tres diluyentes conservantes diferentes en la Granja Santa Inés-Paulo Valeriano-Geancarlo Zapata



Nombre del documento: Valoración de la calidad espermática del semen porcino utilizando tres diluyentes conservantes diferentes en la Granja Santa Inés-Paulo Valeriano-Geancarlo Zapata.pdf ID del documento: a0f817083d029f54e739357ebd7529335c3ba998 Tamaño del documento original: 145,42 kB

Depositante: Sánchez Quinche Angel Roberto Fecha de depósito: 21/7/2025

Tipo de carga: interface

fecha de fin de análisis: 21/7/2025

Número de palabras: 7562 Número de caracteres: 49.859

Ubicación de las similitudes en el documento:

#### Fuente principal detectada

N° Descripciones Similitudes Ubicaciones **Datos adicionales** www.veterinariargentina.com | Revista Veterinaria Argentina » La valoración se... 🖒 Palabras idénticas: < 1% (42 palabras)

https://www.veterinariargentina.com/revista/2022/01/la-valoracion-seminal-en-las-unidades-..

# CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

Los que suscriben, ZAPATA PALADINES GEANCARLO GABRIEL y VALERIANO GAONA PAULO ALESSANDRO, en calidad de autores del siguiente trabajo escrito titulado Valoración de la calidad espermática del semen porcino utilizando tres diluyentes conservantes diferentes en la Granja Santa Inés, otorgan a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tienen potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

Los autores declaran que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las dispociones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

Los autores como garantes de la autoría de la obra y en relación a la misma, declaran que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asumen la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

ZAPATA PALADINES GEANCARLO GABRIEL

0706630274

VALERIANO GAONA PAULO ALESSANDRO

0706216611

ESPECIAL TAN

#### **DEDICATORIA**

Con todo mi amor y gratitud, dedico este trabajo a:

A mi mamá, Virginia Gaona, la persona más importante en mi vida. Gracias por ser el ejemplo más grande de esfuerzo y valentía que pude tener. El orgullo y admiración que siento por usted no pueden ser expresados con palabras. Agradezco cada sacrificio que ha hecho por ayudarme a cumplir mis sueños, y por siempre apoyarme y alentarme a alcanzarlos. Ver la mujer dedicada y trabajadora que es, ha sido mi fuente de inspiración para seguir adelante en los momentos en los que creía que no podía continuar. Sin usted, no sería la persona que soy hoy. Cada meta alcanzada ha sido posible gracias a usted y al amor tan grande que me ha entregado. Este logro sin duda también es suyo.

A mis hermanas, Heymi, Saleth y Heyssel, por brindarme su amor sincero y apoyarme en la travesía de mis estudios. Su compañía en casa siempre ha sido mi fuente de alegría y paz en los momentos de dificultad.

Paulo Alessandro Valeriano Gaona

#### **DEDICATORIA**

A Dios, por ser mi guía constante, mi fortaleza en la adversidad y la luz que iluminó cada paso de este camino. Gracias por darme la sabiduría, la paciencia y el valor para alcanzar este logro, que sin Ti no habría sido posible.

A mis amados padres, Ligia Paladines y Carlos Zapata, por su amor incondicional, por su esfuerzo incansable y por cada sacrificio que hicieron por mí. Siento en lo más profundo todo lo que han entregado para que yo pueda alcanzar mis sueños. Agradezco profundamente su esfuerzo, sus sacrificios y cada palabra de aliento en los momentos en que más los necesitaba. Han sido mi ejemplo de fortaleza y entrega, y su presencia constante me ha dado fuerzas para no rendirme. Este logro es tan suyo como mío, y llevaré siempre en el corazón todo lo que han hecho por mí.

A mi querido hermano Bryan Zapata, mi ángel en el cielo, te llevo en cada rincón de mi corazón. Aunque ya no estés físicamente, tu presencia me acompaña, me abraza y me da fuerzas cuando siento que no puedo más. Sé que me miras desde el cielo, sonriendo, orgulloso, celebrando cada paso que doy. Tu amor no se ha ido, vive en mí, y seguirá vivo por siempre.

A mis hermanos, Holguer Zapata y Carla Zapata, gracias por su amor sincero, por su apoyo incondicional y por estar siempre a mi lado. Su presencia en mi vida ha sido un abrazo constante, una fuerza silenciosa que me impulsó cuando lo necesitaba. Los amo profundamente, y me siento afortunada de tenerlos como hermanos.

A mis sobrinos, gracias por llenar mi vida de alegría, por sus sonrisas sinceras y el cariño con el que siempre me han acompañado. Su presencia ha sido una luz en mi camino y un motivo más para seguir adelante. A mi cuñada y a mi cuñado, gracias por su apoyo incondicional, por estar presentes con consideración, buena voluntad y siempre dispuestos a brindar una palabra de aliento.

Gracias por creer en mí, por caminar a mi lado y por ser parte irremplazable de este logro que nace del amor y el esfuerzo compartido.

Geancarlo Gabriel Zapata Paladines

#### **AGRADECIMIENTO**

Hoy culmina un capítulo muy importante en nuestras vidas, uno que no habríamos podido escribir sin la gracia y el respaldo de Dios, cuyo amor y guía nos sostuvieron en cada paso. Tampoco habría sido posible sin el apoyo incondicional, el amor genuino y la guía firme de personas que marcaron nuestro camino. Este logro no nos pertenece solo a nosotros, sino también a todos aquellos que creyeron en nosotros, incluso en los momentos en que dudamos de nuestras propias fuerzas.

A nuestros padres, quienes han sido el pilar de nuestra formación, gracias por su amor infinito, por cada palabra de aliento, cada sacrificio silencioso y por enseñarnos que la perseverancia y la humildad abren caminos donde parece no haber ninguno. Ustedes son, y siempre serán, nuestra mayor fuente de inspiración; a nuestros hermanos, hermanas, sobrinos, cuñada, cuñado y a toda nuestra familia, por estar siempre presentes con su cariño y fe en nosotros; y a nuestros amigos de aula, por compartir este camino con compromiso, apoyo y amistad. Su compañía hizo más ligera cada jornada y más valiosa esta experiencia.

Expresamos un especial agradecimiento, al Dr. Angel Sánchez, quien no solo nos guió con paciencia y sabiduría durante el desarrollo de esta tesis, sino que además nos enseñó con su ejemplo el verdadero sentido de la vocación académica. Su dedicación, su disposición constante y su confianza en nuestro trabajo han dejado una huella imborrable en nuestra formación profesional.

Extendemos nuestra gratitud a nuestros especialistas, al Dr. Guido Apolo y al Dr. Freddy Macas, gracias por aportar su conocimiento, experiencia y tiempo en este proceso. Sus observaciones y orientaciones fortalecieron significativamente el contenido de este proyecto y ampliaron nuestra mirada crítica y científica.

También queremos extender nuestro agradecimiento a todos los docentes que, a lo largo de nuestra formación, compartieron su conocimiento y pasión por la profesión. Cada clase, cada corrección, cada consejo ha contribuido a que hoy seamos mejores. Asimismo, agradecemos a la Universidad por brindarnos no solo las herramientas académicas necesarias para formarnos como profesionales, sino también un espacio para desarrollarnos como personas, investigadores y ciudadanos comprometidos con nuestra vocación.

A todos ustedes, gracias de corazón. Este logro es tanto nuestro como suyo.

# ÍNDICE DE CONTENIDO

| I  | INTR   | ODUCCIÓN   | 20 |
|----|--------|--|----|
|    | 1.1 C  | bjetivos   | 21 |
|    | 1.1.1  | Objetivo General   | 21 |
|    | 1.1.2  | Objetivos Específicos:                                       | 21 |
| II | MAR    | CO TEÓRICO   | 22 |
|    | 2.1 P  | roducción porcina  | 22 |
|    | 2.2 A  | natomía del aparato reproductor del verraco                  | 23 |
|    | 2.2.1  | Testículos   | 23 |
|    | 2.2.2  | Escroto  | 23 |
|    | 2.2.3  | Epidídimo  | 24 |
|    | 2.2.4  | Conducto deferente   | 24 |
|    | 2.2.5  | Pene   | 24 |
|    | 2.2.6  | Prepucio   | 25 |
|    | 2.2.7  | Próstata   | 25 |
|    | 2.2.8  | Glándulas vesiculares  | 25 |
|    | 2.2.9  | Glándulas bulbouretrales                                     | 26 |
|    | 2.3 E  | spermatozoide  | 26 |
|    | 2.4 E  | spermatogénesis  | 26 |
|    | 2.5 N  | laduración del espermatozoide                                | 27 |
|    | 2.6 In | nseminación Artificial                                       | 28 |
|    | 2.6.1  | Importancia de la IA en la producción porcina                | 28 |
|    | 2.6.2  | Ventajas de la IA en comparación con la reproducción natural | 29 |
|    | 2.7 E  | yaculado y sus fracciones                                    | 29 |
|    | 2.7.1  | Fracción pre- espermática                                    | 29 |

| 2    | .7.2   | Fracción espermática o rica en espermatozoides             | 30 |
|------|--------|--|----|
| 2    | .7.3   | Fracción post espermática                                  | 30 |
| 2.8  | Cal    | lidad Espermática  | 30 |
| 2    | .8.1   | Factores que afectan la calidad espermática                | 31 |
| 2.9  | Eva    | aluación macroscópica                                      | 32 |
| 2    | .9.1   | Volumen  | 32 |
| 2    | .9.2   | Color  | 32 |
| 2    | .9.3   | Olor   | 33 |
| 2    | .9.4   | Aspecto  | 33 |
| 2    | .9.5   | pH   | 33 |
| 2.10 | ) Eva  | aluación microscópica                                      | 33 |
| 2    | .10.1  | Motilidad  | 33 |
| 2    | .10.2  | Morfología   | 34 |
| 2    | .10.3  | Viabilidad   | 35 |
| 2    | .10.4  | Borde apical normal o análisis acrosomal (NAR)             | 35 |
| 2.11 | An     | omalías  | 35 |
| 2.12 | 2 Dil  | uyentes conservantes en la inseminación artificial porcina | 36 |
| 2    | .12.1  | Características y funciones de los diluyentes              | 37 |
| 2    | .12.2  | Componentes de los diluyentes                              | 38 |
|      | 2.12.2 | 2.1 Glucosa  | 38 |
|      | 2.12.2 | 2.2 TES, HEPES, MOPS, TRIS                                 | 38 |
|      | 2.12.2 | 2.3 Sales de iones inorgánicos                             | 38 |
|      | 2.12.2 | 2.4 Antibióticos   | 39 |
| 2    | .12.3  | Tipos de Diluyentes por su duración                        | 39 |
|      | 2.12.3 | 3.1 Diluyentes de corto plazo                              | 39 |
|      |        |  |    |

|     | 2.12.3  | 3.2 Diluyentes de largo plazo    | 40 |
|-----|---------|----------------------------------|----|
| III | MATER   | IALES Y MÉTODOS                  | 40 |
| 3.  | 1 Mat   | teriales                         | 40 |
|     | 3.1.1   | Materiales de campo              | 40 |
|     | 3.1.2   | Materiales de laboratorio        | 41 |
|     | 3.1.3   | Materiales de oficina            | 41 |
|     | 3.1.4   | Localización del estudio         | 42 |
|     | 3.1.5   | Población y muestra              | 42 |
|     | 3.1.6   | Variables                        | 43 |
| 3.2 | 2 Mee   | dición de variables              | 43 |
|     | 3.2.1   | Motilidad masal                  | 43 |
|     | 3.2.2   | Motilidad individual             | 43 |
|     | 3.2.3   | Motilidad progresiva             | 44 |
|     | 3.2.4   | Viabilidad                       | 44 |
|     | 3.2.5   | Morfología                       | 44 |
| 3   | 3 Met   | todología                        | 45 |
|     | 3.3.1   | Metodología de campo             | 45 |
|     | 3.3.2   | Metodología de colecta del semen | 45 |
|     | 3.3.3   | Metodología de laboratorio       | 46 |
|     | 3.3.4   | Análisis estadístico             | 47 |
|     | 3.3.4.  | 1 Modelo matemático              | 47 |
|     | 3.3.4.2 | 2 Hipótesis                      | 48 |
| IV  | RESUL   | TADOS Y DISCUSIONES              | 48 |
| 4.  | 1 RES   | SULTADOS                         | 48 |
|     | 4.1.1   | Motilidad masal                  | 48 |

| 4    | 4.1.2 | Motilidad individual      | 50 |
|------|-------|---------------------------|----|
| 4    | 4.1.3 | Motilidad progresiva      | 53 |
| 4    | 4.1.4 | Viabilidad                | 55 |
| ۷    | 4.1.5 | Morfología                | 57 |
| 2    | 4.1.6 | Anomalías                 | 59 |
| 4.2  | 2 DIS | SCUSIÓN                   | 60 |
| V (  | CONCL | USIONES Y RECOMENDACIONES | 63 |
| 5.1  | CO    | NCLUSIONES                | 63 |
| 5.2  | RE    | COMENDACIONES             | 65 |
| VI I | REFER | ENCIAS BIBLIOGRAFICAS     | 66 |
| VII  | ANEX  | XOS                       | 71 |

# ÍNDICE DE TABLAS

| Tabla 1. Promedios generales de la motilidad masal según el tratamiento       | 48 |
|---|----|
| Tabla 2. Promedios diarios de la motilidad masal según el tratamiento.        | 49 |
| Tabla 3. Promedios generales de la motilidad individual según el tratamiento. | 50 |
| Tabla 4. Promedios diarios de la motilidad individual según el tratamiento.   | 51 |
| Tabla 5. Promedios generales de la motilidad progresiva según el tratamiento  | 53 |
| Tabla 6. Promedios diarios de la motilidad progresiva según el tratamiento    | 54 |
| Tabla 7. Promedios generales de la viabilidad según el tratamiento            | 55 |
| Tabla 8. Promedios diarios de la viabilidad según el tratamiento.             | 56 |
| Tabla 9. Promedios generales de la morfología según el tratamiento.           | 57 |
| Tabla 10. Promedios diarios de la morfología según el tratamiento.            | 58 |
| Tabla 11. Promedios generales de las anomalías según el tratamiento           | 59 |

# ÍNDICE DE GRÁFICOS

| Gráfico 1. Promedios generales de la motilidad masal según el diluyente                         | 49       |
|---|----------|
| Gráfico 2. Evolución diaria de la motilidad masal según el diluyente                            | 50       |
| Gráfico 3. Promedios generales de la motilidad individual según el diluyente.                   | 51       |
| Gráfico 4. Evolución diaria de la motilidad individual según el diluyente                       | 52       |
| Gráfico 5. Promedios generales de la motilidad progresiva según el diluyente.                   | 53       |
| Gráfico 6. Evolución diaria de la motilidad progresiva según el diluyente.                      | 54       |
| Gráfico 7. Promedios generales de la viabilidad según el diluyente                              | 55       |
| Gráfico 8. Evolución diaria de la viabilidad según el diluyente.                                | 56       |
| Gráfico 9. Promedios generales de la morfología según el diluyente                              | 57       |
| Gráfico 10. Evolución diaria de la morfología según el diluyente                                | 58       |
| Gráfico 11. Promedios generales de las anomalías según el diluyente. Leyenda: COLASDO           | )= Colas |
| dobladas; GOTACITOPRO= Gota citoplasmática proximal; GOTACITODIS= Gota citoplasmática proximal; | asmática |
| distal; CABEPIRI= Cabeza piriforme  | 59       |

#### RESUMEN

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la calidad espermática del semen porcino utilizando tres diluyentes conservantes comerciales (Vitasem®, MR-A® y Androstar Plus®) durante un período de almacenamiento de ocho días en condiciones controladas en la Granja Santa Inés, ubicada en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala. Se empleó un diseño experimental completamente al azar con tres tratamientos y tres réplicas por tratamiento, para evaluar variables como motilidad masal, motilidad individual, motilidad progresiva, morfología espermática y viabilidad celular. Las técnicas utilizadas para la evaluación incluyeron tinción eosina para la viabilidad y el análisis con el sistema iSperm® mCASA para la motilidad y morfología. Los resultados obtenidos demostraron que el diluyente Androstar Plus® preservó de manera significativamente más efectiva la motilidad masal, individual y progresiva, así como la viabilidad celular, durante todo el período de almacenamiento, alcanzando niveles óptimos de calidad espermática hasta el octavo día. El diluyente MR-A® mostró una eficacia moderada, manteniendo la motilidad y viabilidad hasta el día cinco, aunque con un declive en la calidad a partir de este momento. En contraste, Vitasem® presentó una caída notable en la calidad espermática desde el tercer día de almacenamiento, con una disminución acelerada en la motilidad y viabilidad. En cuanto a morfología, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, aunque Vitasem® presentó un mayor porcentaje de anomalías espermáticas. Este estudio concluye que la elección del diluyente tiene un impacto crucial en la preservación de las características funcionales del semen porcino, siendo Androstar Plus® la opción más eficaz para programas de inseminación artificial a largo plazo. Los resultados obtenidos brindan información clave para optimizar los protocolos de conservación del semen y mejorar la eficiencia reproductiva en sistemas de producción porcina.

**Palabras clave**: Semen porcino, Diluyentes, Viabilidad celular, Morfología, Motilidad espermática.

#### **ABSTRACT**

The primary objective of this study was to evaluate the sperm quality of porcine semen using three commercial preservative diluents (Vitasem®, MR-A®, and Androstar Plus®) during an eight-day storage period under controlled conditions at Granja Santa Inés, located at the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Machala. A completely randomized experimental design with three treatments and three replicates per treatment was used to evaluate variables such as mass motility, individual motility, progressive motility, sperm morphology, and cell viability. The techniques used for the evaluation included eosin staining for viability and analysis with the iSperm® mCASA system for motility and morphology. The results obtained showed that the Androstar Plus® extender significantly more effectively preserved mass, individual, and progressive motility, as well as cell viability, throughout the storage period, reaching optimal sperm quality levels until the eighth day. The MR-A® diluent showed moderate efficacy, maintaining motility and viability until day five, although with a decline in quality from that point onwards. In contrast, Vitasem® showed a notable drop in sperm quality from the third day of storage, with an accelerated decrease in motility and viability. In terms of morphology, no significant differences were observed between treatments, although Vitasem® showed a higher percentage of sperm abnormalities. This study concludes that the choice of diluent has a crucial impact on the preservation of the functional characteristics of porcine semen, with Androstar Plus® being the most effective option for long-term artificial insemination programs. The results obtained provide key information for optimizing semen preservation protocols and improving reproductive efficiency in swine production systems.

Keywords: Pig semen, Diluents, Cell viability, Morphology, Sperm motility.

# I INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) en porcicultura es una de las técnicas biotecnológicas más empleadas en la producción animal, maximizando la eficiencia reproductiva y optimizando la genética en la industria porcina, este método ha transformado el programa reproductivo al promover la distribución de semen de alta calidad, aumentando la sustentabilidad y competitividad del sector porcino. Un aspecto importante de la IA es la preservación del semen, donde los diluyentes cumplen un papel esencial al mantener las condiciones ideales para la viabilidad y funcionalidad de los espermatozoides.

Los diluyentes no solo extienden el tiempo de vida del semen almacenado, sino que también aportan estabilidad a la membrana celular, conservan la motilidad espermática y controlan la proliferación microbiana, características esenciales para asegurar el éxito de la inseminación artificial. Según un estudio sobre los diluyentes utilizados en porcinos, se han desarrollado distintas composiciones que buscan mantener estos parámetros, no obstante, su efectividad depende de su composición química y las condiciones de almacenamiento (1).

En la porcicultura, la calidad de los espermatozoides, a lo largo de su preservación se ve afectado por distintos problemas vinculados al control de la movilidad, viabilidad y la capacidad fecundante de los espermatozoides. Estas variables dependen en su gran mayoría, por la eficacia de los diluyentes conservantes utilizados, aunque, la granja Santa Inés emplea diluyentes conservantes para conservar el esperma porcino, no se ha realizado un estudio comparativo que permita valorar que diluyente es el más apto frente a otras alternativas accesible en el mercado. La ausencia de un análisis genera incertidumbre sobre la repercusión efectiva, además, se desconoce cuál de los diluyentes utilizados refleja la opción más rentable en relación de costos y eficacia reproductiva, lo que podría alterar en la rentabilidad económica del proceso de la inseminación artificial.

Según un estudio, las variaciones en la composición química de los diluyentes impactan de manera directa en la calidad del semen, específicamente en condiciones de almacenamiento a largo plazo, por lo tanto, elegir un diluyente inadecuado podría generar una disminución significativa en las características espermática, afectando la eficiencia de los programas de inseminación artificial y provocando pérdidas económicas considerables (2)

Abordar esta problemática tiene un efecto directo en la sostenibilidad y competitividad del sector porcino, por lo tanto, este estudio no solo permitirá reconocer el diluyente más eficiente para la Granja Santa Inés, además, también aportará conocimiento relevante para otras instalaciones de producción porcina, fomentando una optimización de los recursos y una mayor productividad.

La calidad del esperma porcino preservado es un aspecto fundamental para el éxito de los programas de inseminación artificial, por lo tanto, para la rentabilidad de las granjas porcinas. En la Granja Santa Inés, se emplea diluyentes conservantes para conservar la calidad espermática, pero no se ha analizado si esta es la opción más eficaz frente a otras alternativas disponibles. Este estudio es necesario, debido, a que una elección del diluyente más adecuado contribuirá a mejorar las tasas de fertilidad, disminuir costos operativos y optimizar los recursos reproductivos. Además, sus resultados generarán beneficios económicos y serán aplicables a otras unidades porcinas, impulsando un manejo reproductivo más eficiente y sostenible.

#### 1.1 Objetivos

#### 1.1.1 Objetivo General

Evaluar la calidad espermática del semen porcino utilizando tres diluyentes conservantes diferentes para identificar cuál de ellos preserva de manera óptima las características de viabilidad y funcionalidad espermática.

#### 1.1.2 Objetivos Específicos:

- Estimar la motilidad espermática del semen porcino almacenado con cada uno de los diluyentes.
- Determinar la viabilidad celular y la integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides en los diferentes diluyentes.
- Examinar la morfología espermática de las muestras conservadas con los diferentes diluyentes.

# II MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Producción porcina

El objetivo principal de la crianza de cerdos es proveer carne para el consumo humano, siendo esta una fuente importante de proteína, energía, vitaminas, minerales y micronutrientes, indispensables para el crecimiento y la salud (3). Para garantizar un desarrollo adecuado de los cerdos, es fundamental contar con una gestión eficiente y un ambiente controlado. Una ventilación efectiva, limpieza regular y un diseño apropiado de las instalaciones ayudan a prevenir enfermedades, disminuir el estrés y aumentar la producción. Estos elementos, junto con una correcta distribución del espacio y una interacción social adecuada entre los animales, aseguran un desarrollo eficaz y sostenible en la producción de cerdos (4).

La producción de cerdos en Latinoamérica es un sector significativo que ayuda a la seguridad alimentaria y al crecimiento económico de la zona. Resaltando a Brasil y México como los principales productores de carne de cerdo, todos los países de la región participan de manera activa en esta actividad. Las proyecciones para el sector son positivas, esperándose un incremento del 16% en los próximos diez años. Este aumento se beneficiará de una relación positiva entre los precios de la carne y los granos forrajeros, lo que fomentará aún más el crecimiento de la producción porcina en la zona (5).

Según la Asociación Ecuatoriana de Productores de Porcinos (ASPE), datos actualizados muestran que la industria porcina ha experimentado un crecimiento significativo desde 2009. En Ecuador, la producción de carne de cerdo se ha duplicado en la última década, impulsada por el aumento de la demanda y preferencia de los consumidores por este tipo de carne en comparación con otras especies. Si analizamos los números, podemos ver que entre 2009 y 2022 la producción anual pasó de 90.000 toneladas anuales a 206.000 toneladas, lo que corresponde a un consumo anual per cápita de 11,44 kg para el año 2022. Del total producido, el 63% proviene de granjas industriales, mientras que el 37% restante corresponde de 163.000 productores, de estos últimos, el 94% son pequeños productores, quienes contribuyen el 8% del PIB agropecuario. Actualmente, la industria porcina genera de manera directa 80.000 plazas de empleo y 200.000 más de forma indirecta, enfocadas en labores relacionados con la producción, comercialización y elaboración de productos derivados como chorizos, jamones y embutidos (6).

De este modo, la porcicultura se ha establecido como una de las industrias más significativas debido a su continuo desarrollo. En sus comienzos, esta práctica se basaba en técnicas convencionales, donde los cerdos eran alimentados con los recursos disponibles en su medio. Con el paso del tiempo, la implementación de dietas equilibradas, sumada a los progresos en mejora genética, ha facilitado la optimización del uso de nutrientes vitales para asegurar un alto rendimiento productivo. Estos avances han potenciado la competitividad y sostenibilidad del sector, ajustándose a las demandas mundiales de mercado (7).

#### 2.2 Anatomía del aparato reproductor del verraco

#### 2.2.1 Testículos

En los cerdos los testículos se localizan dentro del saco escrotal, en la zona perineal. Estas gónadas tienen un tamaño considerable, midiendo entre 15 a 20 cm de longitud, son de forma ovoidea con un eje mayor que se orienta en dirección oblicua dorsocaudal (8). Su principal función es la de generar espermatozoides además de desempeñar un papel crucial en la actividad endócrina mediante la secreción de testosterona, hormona responsable del desarrollo y mantenimiento de las características sexuales secundarias. Estas incluyen el incremento de masa muscular, desarrollo de los órganos reproductores, así como la conducta reproductiva, que abarca el deseo sexual. Si se realiza un corte en sección transversal del testículo, se puede apreciar que cada gónada está rodeada por la túnica albugínea, que se asemeja a una fascia, y una túnica vaginal que se divide en visceral y parietal (9). El parénquima testicular es de un color pardo-rosado, formado por lobulillos que albergan los túbulos seminíferos, donde se produce el esperma. Los espermatozoides son recogidos por la rete testis y son transportados a los conductos eferentes, que los conducen a la cabeza del epidídimo. Además, hay tejido intersticial, que alberga vasos sanguíneos y linfáticos, así como nervios (8).

#### 2.2.2 Escroto

Es una bolsa cutánea cuya función principal es alojar y proteger los testículos, el epidídimo y parte de los conductos deferentes. Está compuesto por varias capas, entre ellas la piel, túnica dartos, fascias espermáticas y túnica vaginal. Su papel esencial radica en la protección y regulación térmica, conservando una temperatura entre 3 y 4 °C por debajo de la corporal, lo que resulta fundamental para garantizar una espermatogénesis óptima. La termorregulación sucede gracias a la túnica dartos, una capa de tejido fibroelástico situada justo debajo de la piel. Este tejido está

formado por fibras musculares que tienen la capacidad de contraerse, lo que permite acercar o alejar los testículos de la pared abdominal según las condiciones térmicas. Junto con el plexo pampiniforme, esta estructura facilita el intercambio de calor necesario para mantener la temperatura testicular entre 32 y 34 °C (8).

#### 2.2.3 Epidídimo

Es una estructura formada por un conducto altamente enrollado, ubicado junto al testículo. Su función principal es permitir la maduración de los espermatozoides y, simultáneamente, servir como su principal sitio de almacenamiento. Se divide en tres secciones: cabeza, cuerpo y cola, siendo esta última la que se conecta con el conducto deferente. Este conducto se une al cordón espermático, junto con los vasos sanguíneos y linfáticos del testículo (plexo pampiniforme), permitiendo el transporte del semen hacia la uretra (9)

#### 2.2.4 Conducto deferente

Es un tubo muscular encargado de transportar los espermatozoides desde la cola del epidídimo hasta la uretra pélvica en el momento de la eyaculación. Se origina en la cola del epidídimo, tiene un trayecto flexuoso y se posiciona en la parte media de esta estructura. Luego, se integra al cordón espermático en el área subcutánea medial del muslo y cruza el canal inguinal para ingresar en la cavidad abdominal. Los dos conductos deferentes convergen en la entrada de la cavidad pélvica, ubicándose dorsalmente a la vejiga y medialmente a los uréteres, atravesando el istmo ventral de la próstata. Finalmente, desembocan en el colículo seminal, en el inicio de la uretra pélvica, sin fusionarse con el conducto excretor de las glándulas vesiculares. El conducto deferente del cerdo no muestra las dilataciones conocidas como ampollas del conducto deferente, como si sucede en equinos y toros (8).

#### 2.2.5 Pene

Es un órgano fibroelástico, adaptado especialmente para la reproducción. Anatómicamente, se divide en tres partes: raíz, cuerpo y glande. La raíz se conecta a la pelvis mediante los músculos isquiocavernosos e incluye los pilares, que se originan en el arco isquiático, y el bulbo del pene, el cual se extiende con el cuerpo esponjoso que rodea la uretra. Ubicado entre los muslos, el pene presenta una flexura sigmoidea preescrotal o "S" peneana, que se extiende durante la erección gracias a la relajación del músculo retractor del pene. En su extremo distal, el glande tiene una

forma distintiva en espiral o tirabuzón, especialmente adaptada para ajustarse al cuello uterino de la cerda, asegurando así una transferencia eficiente del semen durante la copulación (8)

#### 2.2.6 Prepucio

Es una estructura de tejido epitelial y mucosa que envuelve y resguarda la zona libre del pene durante su estado de reposo. Se compone de dos capas: una interna y otra externa, y posee un orificio prepucial que permite la exteriorización del pene y la expulsión de la orina (9). Una particularidad en los cerdos es la existencia de un divertículo prepucial, un saco situado en esta zona que almacena un líquido de olor fuerte, formado por detritos celulares y restos de orina. Este divertículo está revestido por el músculo prepucial craneal, el cual se contrae durante la erección, liberando su contenido. Este fluido funciona como un lubricante natural durante el proceso de cópula y como un depósito de feromonas, cumpliendo un papel fundamental en la comunicación química y en la estimulación de la cerda durante el proceso reproductivo (8).

#### 2.2.7 Próstata

Se encuentra próxima a la unión entre la vejiga y la uretra pélvica. Esta glándula tiene dos partes: un cuerpo, situado externamente a la uretra, y una parte dispersa, que se distribuye a lo largo de las paredes dorsal y lateral de la uretra pélvica (9). La próstata libera una solución rica en aminoácidos, ácido cítrico y enzimas hacia la uretra pelviana, lo que facilita el movimiento de los espermatozoides. La secreción prostática se expulsa a ambos lados del colículo seminal a través de numerosos conductos (8).

#### 2.2.8 Glándulas vesiculares

Estas glándulas, en forma de par y de estructura piramidal, están vinculadas entre sí y ubicadas en la región dorso-lateral al final de la vejiga urinaria. Desembocan en la uretra pélvica a través de conductos propios y aportan con su secreción a la etapa post-espermática del eyaculado, una fase que se distingue por una disminución en la cantidad de espermatozoides. La secreción vesicular es alcalina y abundante en fructosa, lo que resguarda a los espermatozoides de cambios repentinos en el pH y ofrece una fuente de energía vital para su viabilidad y movilidad. Además, esta secreción incrementa considerablemente el volumen del eyaculado, propiciando las condiciones ideales para el éxito reproductivo del verraco (8).

#### 2.2.9 Glándulas bulbouretrales

También llamadas glándulas de Cowper, son estructuras glandulares pares situadas dorsalmente en la zona más caudal de la uretra pélvica, próximas al arco isquiático. Estas glándulas se adhieren posteriormente a la uretra, rodeándola por sus lados, de modo que el transcurso de sus conductos excretores sigue una dirección posteroanterior (9). Las glándulas están bien desarrolladas y se extienden a lo largo de toda la longitud de la uretra pélvica. Su tarea principal consiste en liberar una sustancia abundante en mucina que constituye una parte de la fracción pre-espermática del eyaculado. Esta secreción aporta en la limpieza y lubricación de la uretra previo a la eyaculación, favoreciendo la circulación de los espermatozoides y aportando a un entorno adecuado para la fertilización (8).

#### 2.3 Espermatozoide

La célula espermática del cerdo se compone de tres partes: cabeza, parte intermedia y cola. La cabeza, de forma ovalada, alberga el acrosoma y el núcleo. El acrosoma, ubicado en la zona apical, es una vesícula que contiene enzimas como la acrosina, arilsulfatasa, β-N-acetilhexasaminidasa e hialuronidasa, esta última encargada de descomponer las células que conforman la corona radiada del óvulo durante la fecundación. El núcleo, que ocupa la mayor parte de la cabeza y alberga el ADN del espermatozoide, está profundamente condensado y no presenta actividad transcripcional. Esta compactación es el resultado de proteínas específicas, conocidas como protaminas, que se adhieren y vinculan a las cadenas de ADN (10).

En la sección intermedia de la célula espermática se encuentra la vaina mitocondrial, un cilindro formado por mitocondrias que rodean el primer tercio del flagelo y se conectan con el plasmalema. Su función es proporcionar la energía necesaria para el movimiento del espermatozoide. El flagelo, o cola, alberga el axonema, es una estructura compuesta por 9 pares de microtúbulos periféricos y 1 par central, y es responsable de la movilidad de la célula. La composición del axonema es distinta a la de los flagelos presentes en células eucariotas y procariotas (10).

#### 2.4 Espermatogénesis

Es el proceso por el cual se generan los espermatozoides, o sea, las células reproductivas del macho. Este proceso convierte una célula germinal en un espermatozoide totalmente formado y tiene lugar en los túbulos seminíferos, bajo la supervisión del eje hipófisis-hipotálamo-testículo. Una célula

germinal, para transformarse en espermatozoide, atraviesa tres etapas clave: la fase proliferativa, fase meiótica y espermiogénesis. En la etapa inicial, denominada fase proliferativa, las células germinales conocidas como espermatogonias experimentan una división por mitosis, lo que asegura una reserva continua de células precursoras. Las espermatogonias tipo A permanecen como células madre, en cambio, las de tipo B progresan en el proceso y se transforman en espermatocitos primarios (9).

La fase meiótica es la etapa que sigue y comienza con la aparición de los espermatocitos primarios. Estas células experimentan dos etapas de división celular sucesivas. Durante la primera división meiótica, se generan dos espermatocitos secundarios, cada uno con la mitad de los cromosomas. Posteriormente, en la segunda división, los espermatocitos secundarios producen células haploides denominadas espermátides. Este proceso es esencial, ya que disminuye la cantidad de cromosomas y favorece la diversidad genética. Finalmente, en la fase de diferenciación o espermiogénesis, las espermátides se convierten en espermatozoides maduros. Durante este proceso, el núcleo se compacta para resguardar el ADN, se forma el acrosoma con las enzimas requeridas para la fertilización, las mitocondrias se congregan en el segmento intermedio para suministrar energía, y se forma el flagelo que les otorga movilidad. A pesar de que los espermatozoides ya se han formado, requieren un periodo en el epidídimo para finalizar su maduración y adquirir la capacidad de fecundar un óvulo (9).

#### 2.5 Maduración del espermatozoide

El proceso inicia en los túbulos seminíferos de los testículos, lugar en el que se generan los espermatozoides mediante la espermatogénesis. No obstante, al desarrollarse, estos gametos son inmaduros y carecen de las propiedades requeridas para realizar la fertilización. El paso por el epidídimo, que en el caso del verraco puede durar entre 10 y 14 días, es crucial para que los espermatozoides estabilicen su membrana plasmática y adquieran la movilidad que les facilitará su desplazamiento por el sistema reproductivo de la hembra. A lo lardo de esta fase, se añaden proteínas particulares a la membrana de los espermatozoides, lo que optimiza su funcionalidad y les otorga una mayor resistencia ante circunstancias adversas (9).

Una vez que los espermatozoides han finalizado su maduración en el epidídimo, deben someterse a un proceso denominado capacitación, que sucede al llegar al tracto reproductivo femenino. En esta fase, los cambios bioquímicos en la membrana plasmática los capacitan para superar las

barreras de protección del óvulo, tales como la corona radiata y la zona pelúcida. Este proceso es esencial, pues prepara a los espermatozoides para realizar la reacción acrosomal, un proceso donde se liberan enzimas desde el acrosoma, favoreciendo la penetración del óvulo y posibilitando la fusión de ambos gametos (9).

#### 2.6 Inseminación Artificial

Los comienzos de la técnica de inseminación artificial (IA) en porcinos tuvieron lugar en los países avanzados, y su propagación a nivel mundial permitió que llegara a nuestro país, donde fue rápidamente adoptada por los productores locales. Entre 1926 y 1940, se realizaron las primeras investigaciones para el desarrollo de esta técnica revolucionaria en Rusia, Estados Unidos, Japón y Europa. Para la década de 1960, la monta natural empezó a ser sustituida por la inseminación artificial, lo que significó una transformación importante en la reproducción porcina (11). Este avance inicial en la implementación y evolución de la IA facilitó que este método se transformara en la biotecnología más utilizada y eficiente en la reproducción animal. Hoy en día, la IA se aplica globalmente y ha demostrado una elevada eficacia en los países líderes en la producción de carne porcina, jugando un papel crucial en la mejora de la salud y en la aceleración del avance genético, estableciéndose como un soporte esencial para la sostenibilidad y competitividad de la industria (12).

En términos generales, la IA se define como el método que permite extraer semen de un reproductor, diluirlo y conservarlo, con el objetivo de transportarlo al sitio óptimo del aparato reproductor de la hembra, con el fin de fecundarla, utilizando el equipo apropiado y en el momento oportuno. La IA es la técnica más eficaz para explotar el potencial genético de un verraco, debido al impacto multiplicador que tiene sobre el semen. Además, promueve la puesta en marcha de programas de cruzamiento, mejora en los controles sanitarios, bioseguridad y productividad (11). En Ecuador, este método se está aplicando de forma óptima, con el objetivo de conseguir resultados que nos permitan mejorar la genética y simultáneamente aumentar la producción del sector porcino (13).

#### 2.6.1 Importancia de la IA en la producción porcina

La IA en el ganado porcino es una tecnología de reproducción asistida altamente efectiva, que se aplica en más del 90% de las cerdas de los países líderes en producción de carne de cerdo. La mayor ventaja se destaca en la prevención de la propagación de enfermedades venéreas y en un rápido

avance genético. Además, posibilita una utilización más eficaz de los recursos genéticos, al mejorar la distribución de semen de verracos de alto valor genético, disminuyendo la necesidad de preservar poblaciones masivas de machos reproductores. Este procedimiento también simplifica llevar a cabo programas de mejora genética al incorporar atributos beneficiosos, tales como el incremento de la fertilidad, una mejor conversión alimentaria y mayor resistencia a enfermedades en un lapso de tiempo limitado. La IA ayuda a incrementar la productividad y competitividad, al mismo tiempo que promueve estrategias de gestión más sustentables y rentables (12).

#### 2.6.2 Ventajas de la IA en comparación con la reproducción natural.

La IA se ha consolidado como uno de los métodos más eficaces en la gestión del ganado porcino en años recientes, con una adopción creciente en diversos países y un impacto significativo en el progreso genético de las poblaciones comerciales. Entre sus principales ventajas destacan la disminución del número de verracos en la granja, el aumento del avance genético mediante selección, tasas de fertilidad similares o superiores a las alcanzadas por monta natural, un control más efectivo de la calidad del semen y una mayor supervisión sanitaria. Además, cuando se realiza correctamente, la inseminación artificial es un procedimiento con mínimos inconvenientes. Para su éxito, es fundamental disponer de personal capacitado e infraestructura adecuada que faciliten la identificación del estro y la aplicación del procedimiento (14).

#### 2.7 Eyaculado y sus fracciones

El proceso de eyaculación en los verracos se distingue por la emisión de semen en tres fracciones visualmente distintas, cada una con un color y textura particulares, vinculados a diferentes concentraciones celulares y componentes bioquímicos. Estas fracciones desempeñan un papel crucial en la IA y en la interacción del esperma con el tracto reproductivo de la hembra (15).

#### 2.7.1 Fracción pre- espermática

El segmento pre-espermático es la primera fracción expulsada durante la eyaculación del verraco, con un volumen que varía entre 10 y 15 ml (16). Se compone principalmente por las secreciones de las glándulas bulbouretrales y la próstata, junto con contenido uretral, y usualmente carece de espermatozoides. Su aspecto es claro y su tarea principal consiste en limpiar la uretra antes de la liberación de las siguientes fracciones, removiendo posibles contaminantes y acondicionando el

conducto para el paso del semen. A pesar de que constituye una mínima parte del volumen total del eyaculado, este segmento suele ser descartado en la recolección destinada a IA (17).

#### 2.7.2 Fracción espermática o rica en espermatozoides

Desde el punto de vista reproductivo, la fracción rica en espermatozoides (SRF) es la más significativa. Se caracteriza por su intenso color blanco y elevada densidad, ya que posee la mayor cantidad de espermatozoides en relación con las demás fracciones. Debido a su contenido celular y resistencia al almacenamiento, la SRF es la opción favorita para la elaboración de dosis para IA (18). Está compuesta especialmente por espermatozoides y secreciones de las vesículas seminales y la próstata. Su volumen varía entre 50 y 150 ml, en función de factores como la estación del año, duración del día, temperatura ambiental, entorno social, alimentación, raza, edad y tamaño testicular (16). Los espermatozoides presentes en esta fracción son altamente viables y funcionales, lo que la sitúa como la unidad más valiosa para asegurar el éxito reproductivo (18).

#### 2.7.3 Fracción post espermática

Se conoce como la fracción con escasez de espermatozoides, pero abundante en plasma seminal. Presenta un tono blanquecino transparente, un volumen cercano a 200 ml y numerosos grumos que pueden aglutinarse durante la recolección del semen. Esta fracción proviene principalmente de la próstata y las glándulas de Cowper (16). En la fase final de la eyaculación, se manifiesta como una porción gelatinosa denominada "tapioca", la cual debe eliminarse para prevenir la posible aglutinación de los espermatozoides. Para este propósito, los contenedores de recolección poseen un vaso de residuos en su interior, cubierto por un filtro que facilita la separación y eliminación de la tapioca (19).

#### 2.8 Calidad Espermática

El análisis de la calidad del esperma juega un rol crucial al definir el rendimiento reproductivo de los verracos. La calidad del semen alude a la posibilidad de que los espermatozoides obtenidos del eyaculado sean funcionales, ya sea durante la reproducción asistida o en la monta natural (20).

Habitualmente, la calidad del eyaculado se ha evaluado mediante el espermiograma clásico, que consiste en realizar una serie de pruebas sencillas y de costo moderado. La evaluación seminal se lleva a cabo mediante un análisis macroscópico y microscópico, donde se evalúa parámetros como

el volumen, concentración, motilidad, condición del acrosoma y anomalías espermáticas. Este estudio es clave para la elección de los sementales ideales para la reproducción (21).

La adopción global de la inseminación artificial ha subrayado la necesidad de utilizar semen de verraco de alta calidad. Así, la capacidad fecundante de un verraco impacta significativamente en la productividad, siendo un factor clave para el progreso, la competitividad y el rendimiento de la porcicultura. No obstante, la calidad del eyaculado de verraco varía a lo largo del año debido a factores tanto animales como no animales. Entre estos factores, la edad del verraco, su estado de salud, nutrición, genética, nivel de estrés y la frecuencia de recolección de semen afectan considerablemente la calidad del semen. Además, existen otras fuentes de información, como las condiciones ambientales, que podrían ayudar a determinar si un eyaculado es adecuado para la preparación de la dosis de semen, aunque suelen subutilizarse (22).

Estos elementos afectan directa e indirectamente las características clave del semen, como el volumen del eyaculado, el pH seminal, la concentración espermática, la movilidad, el funcionamiento de la membrana celular, la integridad del acrosoma y la presencia de espermatozoides anormales. La calidad del semen es esencial, ya que una disminución en estas características puede provocar deficiencias reproductivas y pérdidas económicas considerables, especialmente teniendo en cuenta que cada cerdo realiza un gran número de servicios al año (23).

#### 2.8.1 Factores que afectan la calidad espermática

La calidad del esperma del verraco se ve afectada por varios factores, destacando el estrés térmico debido a su impacto directo y prolongado en los parámetros del esperma. Las altas temperaturas, que superan la zona termoneutral, provocan irregularidades morfológicas, disminuyen la motilidad y viabilidad de los espermatozoides. Los impactos del estrés térmico pueden manifestarse con rapidez cuando la temperatura excede los 30°C, lo que ha ocasionado disminuciones en la calidad y volumen del semen (24).

Otro aspecto a considerar es la raza y edad. No todas las razas muestran manifestaciones de libido parecidas ni presentan niveles de producción seminal similares. En algunos casos, un trastorno físico característico de la raza puede interferir con la recolección de semen, como ocurre en los verracos de raza Pietrain, cuya estructura muscular puede restringir el salto sobre el potro, especialmente a medida que envejecen (16)

Adicionalmente, algunos defectos genéticos particulares, como alteraciones en el acrosoma o espermatozoides con colas inmóviles, pueden estar asociados con predisposiciones hereditarias, lo que reduce la eficacia reproductiva. Es crucial identificar estas carencias a través de marcadores genéticos para mejorar la elección de verracos con un gran potencial reproductivo (25)

Una alta regularidad de recolección afectará de manera adversa la calidad del semen. Además, si no se lleva a cabo de forma higiénica, se generará una contaminación bacteriana en las dosis de semen (25). Ritmos desmedidos, como la recolección de tres o más veces a la semana de manera incoherente, pueden disminuir considerablemente la calidad, impactando en parámetros fundamentales como la motilidad, morfología y actividad acrosómica. También, bajo regímenes de recolección excesivos o irregulares, los espermatozoides inmaduros o aquellos con gotitas citoplasmáticas aumentan de manera significativa (24).

Otros elementos que impactan negativamente incluyen la alimentación, aparición de enfermedades y otros factores cuyo impacto aún no se ha determinado completamente, como el fotoperiodo, recomendándose intervalos de 12-14 horas de luz natural, que puede ser complementado con luz artificial si es necesario (16).

#### 2.9 Evaluación macroscópica

#### 2.9.1 Volumen

La evaluación del volumen del semen se realiza con la ayuda de un recipiente graduado en medidas de ml. Recordando que un verraco puede eyacular entre 50 a 500 ml, esto está sujeto al desempeño de las vesículas seminales y las glándulas accesorias, aunque también influyen otros factores como la edad, raza y la manera en que se recolecto el semen (2).

#### 2.9.2 Color

El color se aprecia directamente en el eyaculado, habitualmente el semen de buena calidad presenta una coloración que puede ser blanco lechoso o cremoso, cuando existe presencia de orina en el semen se puede observar de color amarillenta y cuando hay presencia de sangre se observa de color rosado (19).

#### 2.9.3 Olor

El olor del semen del verraco es singular, dado que se representa como *sui generis* por lo que se lo relaciona con las feromonas del sistema reproductor del verraco. El olor adecuado que debe tener el semen es similar a la leche fresca, cuando el olor es repugnante se vincula a patologías del aparato genital, y si la muestra seminal presenta un olor a orina, será indicativo de contaminación con dicho líquido (26).

#### 2.9.4 Aspecto

El aspecto del esperma pone en manifiesto el número de células que tiene en detención y se conecta con la cantidad del eyaculado, por lo que a gran volumen de semen podría mostrar un aspecto poco opaco o viceversa. Por lo general, el esperma debe tener un apesto opaco dando entender que debe ser denso-cremoso (26).

#### 2.9.5 pH

El análisis del pH se realiza una vez que se recolecta la muestra seminal, este pH se produce de la mezcla entre las secreciones ácidas procedentes de la próstata y las secreciones alcalinas provenientes de las vesículas seminales. En el verraco, el pH seminal oscila entre 6.5 a 7.4. Para medir este parámetro se usan generalmente tiras reactivas; basta con poner una gota de semen sobre la tira y esperar el cambio de color para que podamos determinar el pH de la muestra (26)

#### 2.10 Evaluación microscópica

#### 2.10.1 Motilidad

Este parámetro es esencial a la hora de evaluar la calidad del semen, la motilidad se vincula con la condición energética del espermatozoide ya que impacta en el potencial de la fertilización (27). La relación con la fertilidad aún no está completamente claro, debido a que es una variable multifactorial, no obstante, en verracos se ha mostrado que, si las muestras seminales exponen una tasa de espermatozoides con movimientos menor al 70%, así como la fertilidad y la prolificidad se pueden notar perjudicados. Las técnicas para evaluar la motilidad pueden ser subjetivo u objetivos, a través del sistema CASA (19).

El origen del CASA logro un gran progreso, debido a que el producto adquirido muestra una mayor precisión, sin embargo, se presentan factores que pueden alterar el rendimiento entre ellos se

encuentra el operador, ajustes del programa, la cantidad de campos examinados, la densidad y la mezcla de las muestras, etc. (27).

La examinación subjetiva de la motilidad masal, se lleva a cabo al evaluar una gota del semen con la ayuda del microscopio, donde se observa la rapidez del desplazamiento de los espermatozoides, naturalmente se observa en forma de ondas o remolinos. Cuando no se observa movimiento ni ondas se lo valora sin valor (clasificación menor), desde la perspectiva se van a ir otorgando valores hasta la apreciación más alta (clasificación 5, de acuerdo con la escala) donde se contempla movimientos veloces y ondas concentradas (19).

En lo que concierne la movilidad subjetiva individual, también se evalúa la calidad y velocidad del movimiento. Este parámetro está condicionado por la temperatura, por lo que es esencial valorar las muestras a 37-38 °C para alcanzar una estimación más precisa. Se puede reflejar una proporción aproximada de espermatozoides con movimientos totales y móviles de transición rectilíneo de la muestra o se puede sugerir categorías. El líquido seminal adecuado debería demostrar mayor al 75% de espermatozoides móviles y por lo menos 65% de espermatozoides con desplazamiento progresivo (19).

#### 2.10.2 Morfología

La morfología es un parámetro importante para evaluar la calidad del semen, ya que incide en la fertilidad, debido a que la estructura y el tamaño del espermatozoide están vinculado a la capacidad de introducir al ovulo, sin embargo, existen factores que pueden influir en este parámetro como la edad, la raza, el desarrollo sexual, el material genético, el entorno del animal y la conservación del semen (27). La tasa de espermatozoides con alteraciones morfológicas revela el nivel modificaciones del desarrollo de espermatogénesis. La morfología del esperma estándar permite la fecundación con el ovocito y facilita la transferencia del material genético en el transcurso de la fecundación. Las modificaciones que se producen en la estructura de la membrana del espermatozoide en el transcurso de la capacitación y activación acrosómica son fundamental para la asociación del espermatozoide con el ovocito (28).

La zona pelúcida que es parte del ovocito limita las células espermáticas con alteraciones morfológicas. Una estructura y tamaño del espermatozoide normal es esencial para un esperma de buena calidad ya que permite la capacidad de fecundación (28).

La existencia de espermatozoides con alteración de la cabeza ha determinado ser un factor de aborto en las primeras fases de la gestación. Los rasgos morfológicos pueden requerir de la magnitud del desarrollo del esperma en el tejido gonadal y la cantidad relacionada al esperma acumulado en el epidídimo y evacuados en el eyaculado (28). Hoy en día, se valora la gota citoplasmática, En la actualidad se evalúan otras características morfológicas como las gotas citoplasmáticas, con un umbral de regularidad entre 15–30 %, manteniéndose estas cifras desde más de 15 años (29).

#### 2.10.3 Viabilidad

La viabilidad del esperma se asocia con la integridad de la membrana plasmática y habitualmente es valorada con la técnica de exclusión de eosina- nigrosina. Al inactivarse el espermatozoide, se desprende exclusividad de su membrana plasmática, lo que provoca que el espermatozoide no pueda conservarlas densidades esenciales de iones y solutos, eliminándose esenciales metabolitos y coenzimas, lo que conlleva a la anulación de las actividades vitales. lo que ocasiona que el espermatozoide sea incapaz de mantener las concentraciones necesarias de iones y solutos, perdiéndose importantes metabolitos y coenzimas, lo que conduce a la supresión de las funciones vitales, por esta razón, al valorar la viabilidad se analizan los espermatozoides que se encuentren teñidos ya que hace referencia a la muerte de esos espermatozoides y por lo contrario los que nos están teñidos de eosina-nigrosina significan que están vivos esos espermatozoides. El valor apto de la viabilidad del esperma en una colecta de semen es el 80% y los restantes 20% son de lesiones (26).

#### 2.10.4 Borde apical normal o análisis acrosomal (NAR)

El acrosoma es una cavidad liberadora del espermatozoide, situada en la sección superior de la cabeza de la célula espermática, incluye diversas enzimas encargadas de la absorción del *cumulus oophorus* y de la membrana del óvulo. Los deterioros en el acrosoma son capaces de provocar ausencia de la capacidad fecundante de las células espermáticas, por lo que es esencial evaluar el acrosoma. El porcentaje mínimo tolerable del acrosoma entero en una muestra es del 90% (26).

#### 2.11 Anomalías

Las anomalías más relevantes son la existencia de impurezas en la muestra seminal y los sucesos de aglutinación. La aglutinación es el almacenamiento de las células espermáticas vivos o muertos,

que pueden estar adosadas a células epiteliales o enlazado cabeza con cabeza. Este suceso se puede analizar tanto en semen fresco como en eyaculado diluido (16).

La escala de aglutinación se evalúa de 0-3, la escala 3 hace referencia a más de 30-40% de células espermáticas aglutinados. En ciertos casos, la existencia de aglutinación moderada de 0-2, se desvanece al combinar el semen con el diluyente conservante, debido a la composición química que otorga el diluyente, analizándose posteriormente, una reducción de la escala de aglutinación. Entre las probables razones de aglutinación podemos encontrar la presencia de residuos de la tapioca provenientes de las glándulas bulbouretrales por una mala filtración en la colecta del semen, una densidad muy elevada de células espermáticas, pésima calidad del esperma, golpe térmico debido a un mal manejo del esperma, contaminación bacteriana de la muestra, existencia de un gran número de células epiteliales y modificaciones en el pH del líquido seminal, vinculado a reacciones inflamatorias o alteraciones que perjudican a las glándulas accesorias del macho (16).

Las gotas citoplásmicas son restos del citoplasma intacto de la etapa del desarrollo epididimaria y se categoriza en dos conjuntos. La gota proximal es una anomalía debido a un defecto del desarrollo, lo cual se relaciona a la carencia de la capacidad de fecundarse. La gota distal por lo general suele desaparecer pasado unas horas luego de la extracción o en el transcurso de la preservación en frío, esta gota hace referencia a un defecto del desarrollo más moderado (30).

Las colas torcidas son otras alteraciones importantes de reconocer debido a que las células espermáticas perjudicadas no serán capaces de deslizarse en el transcurso de la fecundación. Las alteraciones del acrosoma son fundamentales para valorar la capacidad fecundante, debido a que la funcionalidad del acrosoma está ligada la identificación por parte del ovocito y la introducción en la membrana pelúcida. Los rangos aceptables para las diferentes alteraciones son: un porcentaje mínimo de 70% de células espermáticas vivas, movilidad con escala mínima de 3 y un límite superior de alteraciones integradas de gotas proximales y colas enrolladas del 20%. Por último, las alteraciones máximas del acrosoma permitida son del 20 % (29).

#### 2.12 Diluyentes conservantes en la inseminación artificial porcina

En la reproducción porcina se ha concentrado en mejorar la preservación de las muestras seminales con la utilización de diluyentes conservantes. Los diluyentes son una disolución acuosa que facilita la conservación de las muestras seminales en un plazo más extenso, además aumenta la cantidad

del eyaculado, resguarda a las células espermáticas contra un shock térmico y garantiza el equilibrio de las variables del pH y la osmolalidad (29). Los diluyentes deben ofrecer una solución tampón, resguardar contra alteraciones de la temperatura, menor costo, firmeza de las redes enzimáticas y conservación de la membrana plasmática. Las cualidades que deben realizar los diluyentes tanto de corta como de larga duración es la preservación del contenido espermático del cerdo, sin alterar su estructura y sin minimizar el potencial fecundante. El diluyente debe asegurar la conservación de las células espermáticas sin ningún problema, mejorando el rendimiento de la calidad seminal, fertilización y prolificidad en la producción porcina (30).

Existen diversos aspectos a tomar en cuenta en la selección del diluyente son la correlación entre su precio y calidad, estación del año, duración del trayecto del transporte del semen y el trayecto entre la producción del mismo y la IA, a pesar que la duración media del esperma también se ve perjudicada por la calidad del eyaculado, la frecuencia de extracción, grado de dilución y las porciones del semen que se recolectan. El mayor beneficio de la utilización de los diluyentes es que la fertilidad se conserva inclusiva en cantidades bajas de células espermáticas por cantidad de inseminación. Esto implica un óptimo desempeño del semen, pues a menos cantidad de células espermáticas por dosis, mayor es la cantidad de dosis Esto representa un mejor rendimiento de semen, pues a menor número de espermatozoides por dosis, mayor es el número de dosis por secreción seminal (30).

#### 2.12.1 Características y funciones de los diluyentes

Los diluyentes conservantes usados en el esperma porcino están elaborados para conservar la viabilidad y capacidad funcional de las células espermáticas a lo largo de un tiempo definido. Su primordial cualidad es preservar los espermatozoides en parámetros adecuados, efectuando funciones fundamentales debido a sus componentes específicos. Existe algunas funciones que deben cumplir los diluyentes entre ella es ofrecer energía para el metabolismo del esperma, mantener un pH y tensión osmótica adecuado, eliminar restos metabólicos que llegarían ser nocivo. Incluso conserva las membranas celulares, resguardando a las células espermáticas contra afectaciones provocados por shock térmico. Por último, dentro de la composición de los diluyentes contiene antibióticos para evitar el desarrollo de bacterias, asegurando la calidad seminal en el transcurso de la conservación y cooperando al éxito de los protocolos de la inseminación (31).

#### 2.12.2 Componentes de los diluyentes

La dilución y preservación de la muestra seminal es una opción que ofrece la oportunidad de explotar al máximo el potencial reproductivo del cerdo, debido a que se adquiere una elevada cantidad de lechones por semental en el transcurso de su etapa reproductiva. La composición del diluyente conservante debe proporcionar glucosa para estabilizar el metabolismo del espermatozoide, para resguarda choque térmico por frío necesita de BSA, para un pH adecuado el diluyente debe contener (bicarbonato, TRIS, HEPES), lo que tiene que ver con la tensión osmótica (NaCl, KCl) y por ultimo los antibióticos en la composición de los diluyentes aporta para evitar el crecimiento bacteriano (32). La relevancia de identificar los componentes de los diluyentes es importante porque está vinculado con la fertilidad, debido a que la misma disminuye conforme incrementa la preservación del fluido seminal, aparte de estar sujeta por la calidad del esperma y la cantidad de células espermática(33).

#### 2.12.2.1 Glucosa

La glucosa aporta energía y debido a su elevado aporte energético es la más empleada, sin embargo, existen reemplazos para la glucosa como por ejemplo esta la galactosa, fructosa, ribosa o trehalosa, teniendo en cuenta de datos obtenidos han demostrado que la glucosa es mejor que cada una de ellas, es por eso que es la elección más recomendable en la conservación de las células espermáticas. (33).

#### 2.12.2.2 TES, HEPES, MOPS, TRIS

Estos componentes son empleados como tampones, no obstante, los más utilizados hoy en día son HEPES Y MOPS, debido a su potencial de estabilizar el pH del semen en un grado optimo, evitando la disminución del metabolismo energético de las células espermáticas y su movilidad potenciando su capacidad fecundante y no estar ligado de la temperatura. Por último, se encuentran otros componentes que sirven como tampones como el bicarbonato y el citrato sódico. (33).

#### 2.12.2.3 Sales de iones inorgánicos

La función de estos componentes es estabilizar la presión osmótica, entre las sales de iones inorgánicos tenemos el cloruro sódico y potásico. Es importante mantener una correcta presión osmótica debido a que un nivel inferior a los 200 mOsm refleja una disminución de la movilidad de las células espermáticas (33).

#### 2.12.2.4 Antibióticos

El grupo de antibiótico más utilizado son los aminoglucósidos que dentro de este grupo encontramos la gentamicina, neomicina y la kanamicina en dosis aproximadamente a los 200 mg/L. En la actualidad se está queriendo implementar el ceftiofur, aunque aún no hay datos sobre su utilización. Hay que tener en cuenta que la UE, Directiva 90/429/CEE controla la utilización de mezcla entre antibióticos eficientes en contra de leptospira y micoplasma, con una densidad de al menos 500 UI de estreptomicina/ml y 500 UI de penicilina/ml (33).

#### 2.12.3 Tipos de Diluyentes por su duración

El proceso de la dilución del esperma con un diluyente conservante ha sido de importancia para inseminación artificial (34). Se conoce que, a nivel de práctica, los diluyentes pueden clasificarse en dos diferentes grupos, el cual el primer grupo concierne en preservar el semen hasta 1 a 3 días conociendo a este grupo como de corta duración y aquellos diluyentes que tienen las características de conservar el semen más de 4 días son conocidos como de larga duración (33). En cambio, a nivel del mercado los diluyentes se puedes distribuir en tres grupos, donde el primer grupo concierne a los diluyentes que conservan de 1 a 3 días, los de media duración que pueden durar hasta cinco días y por último está el de larga duración que conserva el semen hasta siete días (34). Los suministros de energía y los electrolitos que se agregan a ellos son muy globales, por ello lo que resalta al seleccionar un diluyente son los componentes de tampón y las sustancias que se agregan para mantener las membranas del espermatozoide (33).

#### 2.12.3.1 Diluyentes de corto plazo

Los diluyentes de corto plazo son usados en sitios donde la distribución de la ración del semen es de recorrido corto, preservan el esperma a 15-20°c, entre los beneficios claves que tienen estos diluyentes consta del empleo de una concentración de células espermáticas baja, que posibilita efectuar más inseminaciones con una única extracción; el bajo precio en su elaboración, adquiriendo tasas reproductivas similares y bajo índice de movilidad espermática, sin embargo, en un estudio ejecutado compararon la movilidad de las células espermáticas preservados en dos diferentes tipos de diluyentes en variados tiempo de preservación (primer día, segundo día y tercer día) mostro que no existe variación en la movilidad de las células espermáticas, pero si para la fortaleza espermática después de la descongelación, llegando a la conclusión que un inconveniente de los diluyentes es la disminución de la resistencia del esperma después del descongelamiento.

Una desventaja de estos diluyentes en el periodo corto de la viabilidad del espermatozoide, el descenso en las variables de la calidad del semen, puesto que se ve perjudicado la integridad del ADN (33)

### 2.12.3.2 Diluyentes de largo plazo

Estos diluyentes por lo general tienen una perduración de cuatro días o más, se emplean en sitios donde la zona de producción del semen y el sitio donde va hacer empleado el líquido seminal es distante, sin embargo, para que exista una buena preservación requiere de ciertos factores como la proporción recogida en la extracción del semen, modelo de dilución con agua destilada, regulación de la contaminación de bacterias y una conservación en frío entre 15-17°C(33).

El problema del semen del cerdo, mostrado en algunos estudios, es la reducción de la fertilidad en el transcurso del lapso de conservación, vinculado con el modelo de diluyente empleado. La mayoría de los diluyentes que se usan duran aproximadamente de hasta 3 a 5 días, sin embargo, los diluyentes que se conservan por más días, abarcan ciertas ventajas como la probabilidad de recorrer lapso más distantes, ejecutar exámenes de diagnóstico en el líquido seminal antes de utilizarlo, como el PCR que sirve para la localización de antígenos virales o también para evaluar la calidad del esperma, ayuda también a mejorar la distribución de actividades en el área de recolección y repartir las muestras de líquido seminal a diferentes granjas (35). Una de las desventajas de estos diluyentes es el empleo de una elevada concentración del semen para nivelar la reducción de la viabilidad de las células espermáticas por vejez (33).

### III MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1 Materiales

## 3.1.1 Materiales de campo

- Verraco (1)
- Potro para recolecta de semen
- Alfombra antideslizante
- Guantes de nitrilo
- Vasos de extracción desechables

- Fundas de polipropileno
- Toallas desechables
- Termo de recolección
- Filtros de papel
- Botas
- Overol

## 3.1.2 Materiales de laboratorio

- Tinción de eosina
- Microscopio
- iSperm® (analizador de semen automatizado portátil (mCASA))
- Pipeta
- Termómetro
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Platina térmica
- Agua destilada
- Agua tipo II (desmineralizada desionizada)
- Cámara de conservación de dosis seminales
- Baño María digital
- Botella de plástico para semen (100 ml)

## 3.1.3 Materiales de oficina

- Cámara fotográfica
- Ordenador
- Cuaderno
- Lapiceros
- Calculadora

### 3.1.4 Localización del estudio

El presente estudio se desarrolló en la Granja "Santa Inés", perteneciente a la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala. Ubicada en el kilómetro 5 ½ de la vía Machala–Pasaje, con coordenadas geográficas Latitud Sur 3°17'37" y Longitud Oeste 79°54'56" y una altitud de 11 metros sobre el nivel del mar (msnm), con una temperatura que oscila entre 22 °C y 35 °C.



Fuente: (Google Maps, 2025)

### 3.1.5 Población y muestra

La investigación de campo fue de tipo experimental, se trabajó con un verraco reproductor de la Granja Santa Inés de aproximadamente 3 años y es el resultado de un cruce con la línea genética Hypor Maxter, fue seleccionado por sus características genéticas y reproductivas, lo que garantizó que se cumplieran los estándares requeridos para la investigación.

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), en el cual se establecieron tres tratamientos correspondientes a los tres diluyentes comerciales, con tres réplicas por tratamiento, obteniendo así un total de nueve muestras seminales. En el primer tratamiento (T1), el semen fue diluido con Vitasem; el segundo (T2) con Androstar Plus; y en el tercero (T3) con MR-A. Las muestras fueron

almacenadas bajo condiciones controladas, y evaluadas a intervalos de 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 y 8 días post-dilución.

### 3.1.6 Variables

- Motilidad masal
- Motilidad individual
- Motilidad progresiva
- Viabilidad
- Morfología

### 3.2 Medición de variables

### 3.2.1 Motilidad masal

Es una variable de tipo cuantitativo, se evaluó colocando una gota de semen diluido sobre un portaobjeto precalentado a 37°C y luego se observó en el microscopio con aumento 40x. En esta evaluación se valoró la formación de ondas y remolinos, así como la intensidad y velocidad del movimiento colectivo de los espermatozoides.

Se utilizaron los siguientes criterios de clasificación:

- **Semen muy bueno (3):** ondas oscuras, marcadas y en rápido movimiento (+++).
- Semen bueno (2): ondas marcadas, menos oscuras, con movimiento moderado (++).
- Semen regular (1): ondas claras con movimiento muy ligero (+).
- Semen malo (0): ausencia de ondas y espermatozoides inmóviles (0).

Para efectos del análisis estadístico, esta clasificación cualitativa fue transformada a una escala numérica (0 a 3), asignando valores a cada nivel de motilidad según el criterio anterior.

### 3.2.2 Motilidad individual

Es una variable de tipo cuantitativo, expresada en porcentaje (%). La evaluación se realizó mediante el uso del analizador de semen iSperm®, un sistema mCASA (mobile Computer-Assisted Sperm Analysis) que permitió obtener resultados estandarizados y precisos.

Para la medición, se colocó una gota de semen diluido dentro de una lámina especializada compatible con el equipo, siguiendo el protocolo del fabricante. Posteriormente, se insertó en el

módulo óptico acoplado a una tablet, donde se analizó el movimiento individual de los espermatozoides, generando los porcentajes de motilidad en tiempo real.

## 3.2.3 Motilidad progresiva

Es una variable de tipo cuantitativo, expresada en porcentaje (%). La evaluación se realizó mediante el uso del analizador de semen iSperm®.

Para su análisis, se colocó una alícuota de semen diluido en una lámina especializada compatible con el equipo, siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente, la muestra fue introducida en el módulo óptico del dispositivo, acoplado a una tablet. El sistema procesa las imágenes en tiempo real y genera automáticamente el porcentaje de espermatozoides con movimiento progresivo, es decir, aquellos con desplazamiento rectilíneo o en trayectorias amplias, considerado un indicador funcional clave de fertilidad.

#### 3.2.4 Viabilidad

Es una variable de tipo cuantitativo, expresada en porcentaje (%). Se valoró mezclando una gota de semen diluido con la tinción eosina sobre un portaobjeto previamente atemperado a 37°C en la placa térmica. Posteriormente, se colocó un cubreobjetos y se observó bajo el microscopio de campo claro a 40x, donde se contabilizaron un total de 200 espermatozoides por muestra, determinando como no viables aquellos que presenten coloración morada. El resultado se expresó como porcentaje de células viables respecto al total evaluado.

### 3.2.5 Morfología

Es una variable de tipo cuantitativo, expresada en porcentaje (%). La evaluación se realizó combinando una gota de semen diluido con la tinción eosina sobre el portaobjeto precalentado a 37°C. La muestra se observó bajo el microscopio de campo claro con un aumento de 40x, donde se contabilizaron un total de 200 espermatozoides por muestra. Se calculó el porcentaje de espermatozoides normales y se registraron las anomalías espermáticas, clasificadas según los tipos de malformaciones presentes, tales como colas dobladas, gota citoplasmática proximal o distal, cabeza piriforme y microcabeza. El porcentaje de cada tipo de anomalía fue registrado para su posterior análisis comparativo.

### 3.3 Metodología

## 3.3.1 Metodología de campo

Se cumplieron las normas de bioseguridad y buenas practica de manejo para así asegurar una colecta eficiente del semen porcino. Se comenzó con una limpieza y desinfección del área de colecta lo que concierne al piso, paredes, potro de monta y puerta de entrada, esto se hizo antes de cada colecta de semen, para de esta manera asegurar buenas condiciones higiénicas y ambientales, indispensables para evitar alguna contaminación y respaldar la calidad de las muestras.

Se ubicó un pediluvio en el ingreso al área de colecta para la desinfección del calzado y así evitar que se presente cualquier tipo de contaminación. Luego de la limpieza y desinfección, se comprobó que el área se haya secado para así permitir el ingreso del verraco y garantizar un ambiente adecuado para la colecta. Se colocó una alfombra antideslizante al lado del potro para evitar alguna lesión que se pudiera presentar durante la colecta, asegurando así el bienestar del animal.

Se implementó medidas de bioseguridad, utilizando una indumentaria adecuada lo que incluye guantes de nitrilo, overol y botas desinfectadas para no tener contaminación cruzada en el transcurso del manejo del verraco y la colecta del semen. Además, no tuvimos acceso a otras granjas antes de entrar al área de colecta para que todo el proceso se realice bajo condiciones controladas.

Se llevó a cabo un proceso de adaptación durante 2 semanas para que el verraco se acostumbre al equipo y entorno. En el transcurso de la colecta, se evitó movimientos bruscos o ruidos que pudieran perturbar al verraco. El manejo adecuado, cumpliendo las normas de bioseguridad, garantizó que el proceso transcurriera de manera ética, eficaz y sin comprometer la calidad de las muestras obtenidas.

## 3.3.2 Metodología de colecta del semen

Previamente a la colecta preparamos los diluyentes, para esto diluimos un sobre de cada diluyente en 1 litro de agua tipo II (desmineralizada – desionizada), la cual estaba a una temperatura de 38°C. Una vez homogenizados los diluyentes los dejamos en baño maría para que se mantuvieran la temperatura y así evitar un posible choque térmico al momento de mezclar con el semen.

El primer paso para realizar la colecta del semen fue trasladar el verraco al área de extracción, limpiamos la zona del prepucio para evitar que al momento de la colección se contamine la muestra. Seguido de esto esperamos que el verraco se monte en el potro, para así comenzar con la técnica de mano enguantada, para esto nos ayudamos de un termo con un poco de agua precalentada a 38°C, y dentro de este también se colocó una funda de polipropileno. Para la técnica esperamos a que el pene sobresalga del prepucio en tanto el verraco se estimula encima del potro, después se sujetó el miembro con la mano, sin presionarlo tanto, para que el animal se adapte al contacto, se sostuvo horizontalmente para impedir esparcir sobre las manos, ya que podía contaminar la muestra. Con la ayuda de los dedos meñique o pulgar estimulamos el glande, y una vez sobresalga del prepucio, sostenemos el miembro, pero esta vez dejamos que la parte del glande exceda fuera de la mano, cuando ya se daba la eyaculación se debía continuar presionando suavemente, empleando presión en intervalos para excitar al verraco.

La primera fracción del eyaculado se la desechaba ya que corresponde a la fracción pre-espermática la cual no es útil para evaluar el semen, debíamos esperar que eyacule la fracción espermática y esa la colectábamos en el termo, esta fracción es abundante en espermatozoides y se diferencia de la pre-espermática porque es de un color más blanquecino. La colecta se realizó hasta que el eyaculado adquiría un aspecto grumoso, lo que indicaba el inicio de la fracción post-espermática, la cual no fue colectada. Era importante dejar que el verraco concluya su eyaculación para asegurar la calidad del semen. Una vez finalizada la colecta, el recipiente era colocado en un ambiente a 37°C en el laboratorio, y el verraco trasladado nuevamente a su área habitual.

### 3.3.3 Metodología de laboratorio

Tras la colecta del semen, este se trasladaba al laboratorio, siguiendo los protocolos de bioseguridad, tales como el uso de guantes, mascarilla y bata de laboratorio, para garantizar un ambiente controlado durante todo el proceso. En primer lugar, se valoraban las características macroscópicas del semen, que incluían volumen, color, olor y aspecto. Una vez evaluadas estas variables, se procedía a la dilución del semen.

Para la dilución, se midió la concentración espermática utilizando el analizador de semen iSperm®, el cual nos permitió determinar la cantidad exacta de espermatozoides presentes en el eyaculado. Posteriormente, se medía el volumen total del semen y se dividía en tres porciones iguales. Por

ejemplo, si el volumen total era de 300 ml, cada porción era de 100 ml para su dilución con los

diluyentes correspondientes.

Con la concentración espermática conocida para cada porción de semen, se calculó la cantidad de

diluyente necesaria para obtener dosis de 100 ml que contengan un mínimo de 3 mil millones de

espermatozoides. Para lograr esto, se usó un diluyente previamente preparado, disuelto en agua

tipo II a razón de 1 litro. Sin embargo, no se utilizaba todo el litro de diluyente para cada dosis;

solo se tomaba la cantidad suficiente que, combinada con la porción de semen, garantice que cada

dosis final de 100 ml contenga la concentración deseada de espermatozoides. Este proceso aseguró

una dilución homogénea y controlada del semen, lo cual fue esencial para los análisis posteriores.

Una vez diluido el semen, se dejaba reposar durante 20 minutos y transcurrido este tiempo, se

realizaba la primera evaluación de las variables: motilidad individual, motilidad masal, morfología

y viabilidad, de acuerdo con los métodos establecidos previamente en la medición de estas

variables. Estas evaluaciones se llevaron a cabo desde el día 0 hasta el día 8.

3.3.4 Análisis estadístico

Para llevar a cabo el experimento se empleó un diseño completamente al azar (DCA), utilizando

un análisis para un solo factor (ANOVA), para cada una de las variables que se utilizaron en el

proceso investigativo, previo los supuestos de normalidad y homogeneidad, para determinar la

diferencia entre las medias se empleó el procedimiento de la comparación múltiple de LSD de

Fisher con un nivel de confianza del 95%. Para todos los análisis se utilizó el programa estadístico

"Statgraphics Centurión XV.I.®".

3.3.4.1 Modelo matemático

Donde:  $YiJk = \mu + T_i + D_i + \epsilon_{ijk}$ 

Yijk = Valor de la variable respuesta de interés medida sobre la jésima observación a la que se

aplicó el tratamiento.

 $\mu$  = Representa la media de la población

 $T_i$ = Representa el efecto de los tratamientos (1,2 y 3)

Dj= Representa el efecto de los días de evaluación del semen diluido (0, 1,2,3,4,5,6,7,8)

sijk = Indica el error del experimento sobre la jésima de los tratamientos a la cual se aplicó el iésimo día.

## 3.3.4.2 Hipótesis

## Hipótesis Nula (H0)

Con el empleo de tres diferentes diluyentes conservantes en el semen porcino no existe diferencias en todas las variables analizadas.

## Hipótesis Alternativa (H1)

Con el empleo de tres diferentes diluyentes conservantes en el semen porcino existen diferencias en una o en varias de las variables analizadas.

## IV RESULTADOS Y DISCUSIONES

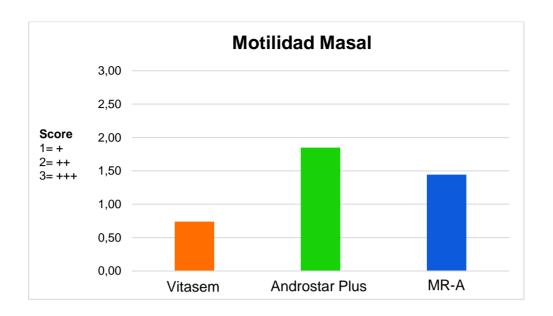
## 4.1 RESULTADOS

### 4.1.1 Motilidad masal

Tabla 1. Promedios generales de la motilidad masal según el tratamiento.

| Variable | T1     | <b>T2</b> | Т3     | IC   |
|----------|--------|-----------|--------|------|
| MOTIMAS  | 0,74 ª | 1,85 b    | 1,44 b | 0,26 |

T1=Vitasem; T2= Androstar Plus; T3= MR-A. MOTIMAS= Motilidad masal. IC= Intervalo de confianza. <sup>a b=</sup> Interpretación de la diferencia estadística significativa p-valor < 0,05.



**Gráfico 1.** Promedios generales de la motilidad masal según el diluyente.

La tabla 1 y gráfico 1, muestran los promedios de la motilidad masal en los tres tratamientos, evidenciando que T2 (1,85) presentó el promedio más alto de motilidad masal, seguido por T3 (1,44), mientras que T1 (0,74) mostro el valor más bajo. Existiendo diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) en la variable de motilidad masal, siendo el T1 significativamente inferior en comparación con T2 y T3, los cuales no difieren significativamente entre sí.

Tabla 2. Promedios diarios de la motilidad masal según el tratamiento.

| Trata | Día 0  | Día 1   | Día 2  | Día 3  | Día 4   | Día 5   | Día 6  | Día 7  | Día 8  |
|-------|--------|---------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|--------|
| T1    | 3,00 a | 1,67 a  | 1,00 a | 0,67 a | 0,33 α  | 0,00 a  | 0,00 a | 0,00 a | 0,00 a |
| T2    | 3,00 a | 2,67 в  | 2,33 в | 1,67 b | 1,67 b  | 1,67 b  | 1,33 ° | 1,00 a | 1,00 a |
| Т3    | 3,00 a | 2,00 ab | 2,00 b | 2,00 b | 1,33 ab | 1,00 ab | 0,67 a | 0,67 a | 0,67 α |
| IC    | 0,00   | 0,47    | 0,33   | 0,47   | 0,58    | 0,67    | 0,74   | 0,88   | 0,88   |

Días = 0,1,2,3,4,5,6,7 y 8 días del experimento. Trata = Tratamiento. T1 = Vitasem; T2 = Androstar Plus; T3 = MR-A. IC = Intervalo de confianza. a b = Interpretación de la diferencia estadística significativa p-valor < 0,05.

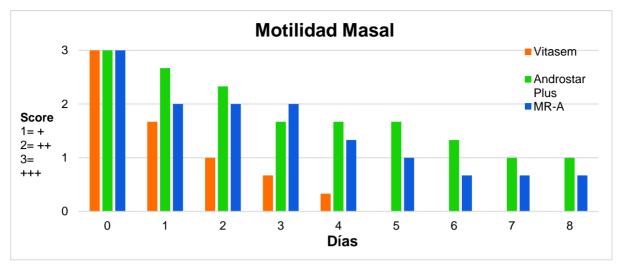


Gráfico 2. Evolución diaria de la motilidad masal según el diluyente.

En la tabla 2 y gráfico 2, se observa que en el día 0, los tres tratamientos inician con el puntaje más alto (3) correspondiente a una motilidad masal alta (+++) indicando que no existen diferencias entre ellos. A partir del día 1, se observa que T2 (2,67) presentó una motilidad masal significativamente mayor que T1 (1,67), mientras que T3 (2,00) no difirió significativamente de ninguno de los dos, dicha tendencia se repite en el día 4 y 5. En el día 2 y 3, T2 y T3 presentaron diferencias significativas frente a T1. En el día 6, 7 y 8 no existe diferencias significativas, lo que indica que los tratamientos se comportaron de la misma manera.

Desde un punto de vista aritmético, T2 (Androstar Plus) presentó los valores más altos de motilidad masal en comparación con los demás tratamientos durante todo el periodo de evaluación, a excepción del día 3, en el que T3 (MR-A) mostró un valor ligeramente superior. T3 mantuvo valores intermedios, mientras que T1 (Vitasem) registró las cifras más bajas, evidenciando un deterioro más acelerado a lo largo del tiempo. A partir del día 6 no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos; sin embargo, T2 y T3 mantuvieron valores visiblemente más altos que T1.

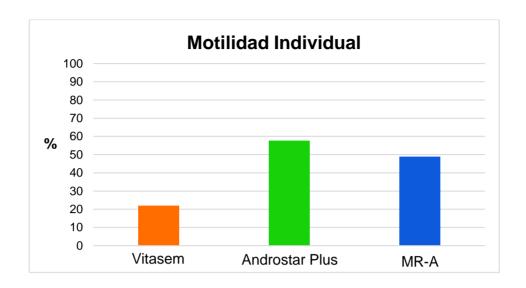
### 4.1.2 Motilidad individual

Tabla 3. Promedios generales de la motilidad individual según el tratamiento.

| Variable | T1      | T2      | Т3                 | IC   |
|----------|---------|---------|--------------------|------|
| MOTIINDI | 21,85 ° | 57,48 b | 48,78 <sup>b</sup> | 7,11 |

TI = Vitasem; T2 = Androstar Plus; T3 = MR-A. MOTIINDI = Motilidad individual. IC = Intervalo de confianza. a

*b*= Interpretación de la diferencia estadística significativa p-valor < 0,05.



**Gráfico 3.** Promedios generales de la motilidad individual según el diluyente.

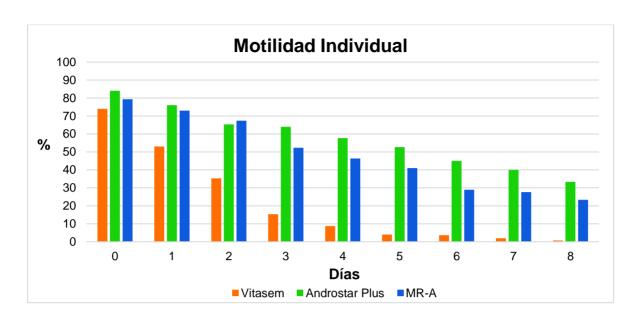
De acuerdo con los datos presentados en la tabla 3 y gráfico 3, se evidencian diferencias estadísticamente significativas en la variable de la motilidad individual, considerando el T1 significativamente inferior en relación con T2 y T3, los cuales no muestran diferencias significativas entre sí. Desde el punto de vista aritmético, T2 (57,48 %) mostró el valor más alto de motilidad individual, seguido por T3 (48,78 %), mientras que T1 (21,85 %) tuvo el valor más bajo.

Tabla 4. Promedios diarios de la motilidad individual según el tratamiento.

| Trata | Día 0   | Día 1   | Día 2    | Día 3   | Día 4    | Día 5    | Día 6             | Día 7   | Día 8   |
|-------|---------|---------|----------|---------|----------|----------|-------------------|---------|---------|
| T1    | 74,00 a | 53,00 a | 35,33 °a | 15,33 ° | 8,70 °   | 4,00 a   | 3,67 <sup>a</sup> | 2,00 a  | 0,67 a  |
| T2    | 84,00 a | 76,00 в | 65,33 в  | 64,00 в | 57,70 в  | 52,67 в  | 45,00 a           | 40,00 a | 33,33 а |
| Т3    | 79,33 a | 73,00 в | 67,33 в  | 52,33 в | 46,33 ab | 41,00 ab | 29,00 a           | 27,67 a | 23,33 а |
| IC    | 6,41    | 6,41    | 10,24    | 17,25   | 19,85    | 22,34    | 25,36             | 26,28   | 25,19   |

Días=0,1,2,3,4,5,6,7 y 8 días del experimento. Trata= Tratamiento. T1= Vitasem; T2= Androstar Plus; T3= MR-

A. IC= Intervalo de confianza. a b= Interpretación de la diferencia estadística significativa p-valor < 0,05



**Gráfico 4.** Evolución diaria de la motilidad individual según el diluyente.

En la tabla 4 y gráfico 4, se observa que en el día 0, T1 (74,00 %), T2 (84,00 %) y T3 (79,33 %), no presentaron diferencias significativas entre sí. En el día 1, 2 y 3; T2 y T3 mostraron diferencias significativas en relación a T1. En el día 4 y 5, T2 evidenció una motilidad individual significativamente mayor que T1, mientras que T3 no difirió significativamente de ninguno de los dos. Por último, en los días 6, 7 y 8, las diferencias entre tratamientos dejan de ser significativas, esto indica, que a partir del día 6, la capacidad de movimiento de los espermatozoides mostró un declive pronunciado en todos los diluyentes, sin que ninguno se destaque estadísticamente sobre los demás.

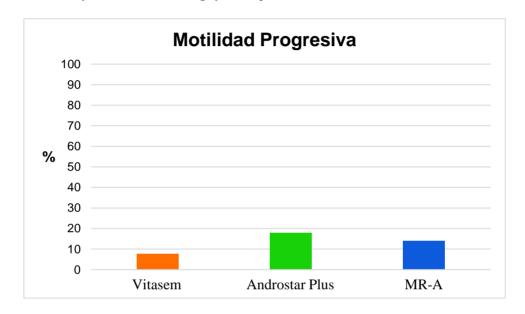
Bajo un enfoque aritmético, T2 mantuvo los valores más altos de motilidad individual a lo largo de todo el periodo de evaluación. T3 presentó valores intermedios en la mayoría de los días, especialmente entre los días 0 y 5, pero mostró una disminución progresiva en los días posteriores. Por su parte, T1 registró los valores más bajos desde los primeros días, con una caída más acelerada a partir del día 2 y niveles mínimos desde el día 4 hasta el final del periodo.

## 4.1.3 Motilidad progresiva

Tabla 5. Promedios generales de la motilidad progresiva según el tratamiento.

| Variable | T1     | T2      | Т3       | IC   |
|----------|--------|---------|----------|------|
| MOTIPRO  | 7,67 a | 17,93 ь | 14,11 ab | 3,26 |

T1= Vitasem; T2= Androstar Plus; T3= MR-A. MOTIPRO= Motilidad progresiva. IC= Intervalo de confianza. <sup>a</sup> <sup>b</sup>= Interpretación de la diferencia estadística significativa p-valor < 0,05.



**Gráfico 5.** Promedios generales de la motilidad progresiva según el diluyente.

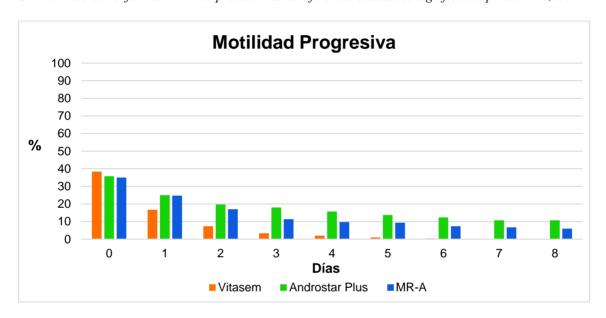
De acuerdo con los datos mostrados en la tabla 5 y gráfico 5, si existen diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre los tratamientos en la variable motilidad progresiva, siendo el T1 significativamente inferior en comparación con T2, mientras que T3 no difirió significativamente de ninguno de los dos. Desde el punto de vista aritmético, T2 (17,93 %) presentó el valor más alto de motilidad progresiva, seguido por T3 (14,11 %), mientras que T1 (7,67 %) obtuvo el valor más bajo.

Tabla 6. Promedios diarios de la motilidad progresiva según el tratamiento.

| Trata | Día 0   | Día 1   | Día 2   | Día 3   | Día 4   | Día 5   | Día 6   | Día 7   | Día 8   |
|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| T1    | 38,33 a | 16,67 a | 7,33 ª  | 3,33 a  | 2,00 a  | 1,00 a  | 0,33 a  | 0,00 a  | 0,00 a  |
| T2    | 35,67 a | 25,00 ° | 19,67 a | 18,00 a | 15,67 ° | 13,67 ° | 12,33 а | 10,67 a | 10,67 а |
| Т3    | 35,00 a | 24,67 a | 17,00 a | 11,33 а | 9,67 a  | 9,33 a  | 7,33 °a | 6,67 a  | 6,00 a  |
| IC    | 5,31    | 6,28    | 7,40    | 8,25    | 8,31    | 9,04    | 9,05    | 9,09    | 8,66    |

Días= 0,1,2,3,4,5,6,7 y 8 días del experimento. Trata= Tratamiento. Tl= Vitasem; T2= Androstar Plus; T3= MR-

A. IC= Intervalo de confianza. a b= Interpretación de la diferencia estadística significativa p-valor < 0,05.



**Gráfico 6.** Evolución diaria de la motilidad progresiva según el diluyente.

En los datos mostrados en la tabla 6 y gráfico 6, se refleja que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en ninguno de los días evaluados, esto quiere decir que, los diluyentes Vitasem (T1), Androstar Plus (T2) y MR-A (T3) se comportaron de forma estadísticamente similar en cuanto a la preservación de la motilidad progresiva espermática a lo largo del período de evaluación.

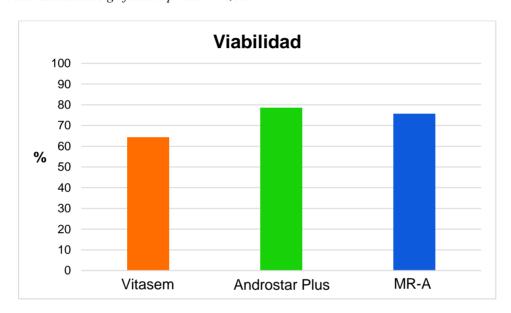
Desde un punto de vista aritmético, se evidencia que T1 inició con el valor más alto en el día 0 (38,33 %), pero sufrió un deterioro acelerado, llegando a 0 % en el día 7. En cambio, T2 y T3 preservaron niveles más constantes a lo largo del tiempo, con T2 registrando el valor más alto el día 5 (13,67 %) y manteniendo 10,67 % hasta el día 8, por su parte T3 también conservó una motilidad progresiva moderada, aunque inferior a T2 en los últimos días.

### 4.1.4 Viabilidad

Tabla 7. Promedios generales de la viabilidad según el tratamiento.

| Variable | T1      | T2      | Т3      | IC   |
|----------|---------|---------|---------|------|
| VIAB     | 64,30 a | 78,63 b | 75,63 b | 3,14 |

T1 = Vitasem; T2 = Androstar Plus; T3 = MR-A. VIAB = Viabilidad. IC = Intervalo de confianza. a = Interpretación de la diferencia estadística significativa p-valor < 0,05.



**Gráfico 7.** Promedios generales de la viabilidad según el diluyente.

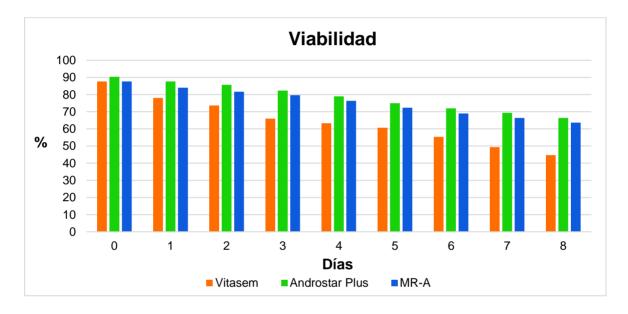
Según los datos mostrados en la tabla 7 y gráfico 7, se evidencian diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre los tratamientos evaluados. T1 (Vitasem) presentó un valor significativamente inferior (64,30 %) en comparación con T2 (Androstar Plus) y T3 (MR-A), cuyos valores (78,63 % y 75,63 %) indican un comportamiento superior y sin diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

Desde el punto de vista aritmético, el tratamiento T2 alcanzó el valor más alto de viabilidad, seguido muy de cerca por T3. Por el contrario, el rendimiento de T1 fue considerablemente menor.

Tabla 8. Promedios diarios de la viabilidad según el tratamiento.

| Trata | Día 0   | Día 1    | Día 2   | Día 3   | Día 4   | Día 5    | Día 6    | Día 7    | Día 8    |
|-------|---------|----------|---------|---------|---------|----------|----------|----------|----------|
| T1    | 87,67 a | 78,00 a  | 73,67 a | 66,00 a | 63,33 a | 60,67 a  | 55,33 a  | 49,33 a  | 44,67 a  |
| T2    | 90,33 ª | 87,67 в  | 85,67 в | 82,33 в | 79,00 в | 75,00 b  | 72,00 в  | 69,33 в  | 66,33 в  |
| Т3    | 87,67 a | 84,00 ab | 81,67 в | 79,67 в | 76,33 в | 72,33 ab | 69,00 ab | 66,33 ab | 63,67 ab |
| IC    | 4,61    | 3,52     | 3,69    | 5,28    | 6,04    | 6,89     | 7,57     | 9,32     | 10,54    |

Días= 0,1,2,3,4,5,6,7 y 8 días del experimento. Trata= Tratamiento. Tl= Vitasem; T2= Androstar Plus; T3= MR-A. IC= Intervalo de confianza. a b= Interpretación de la diferencia estadística significativa p-valor < 0,05.



**Gráfico 8.** Evolución diaria de la viabilidad según el diluyente.

Los datos de la tabla 8 y gráfico 8, muestran que existen diferencias estadísticamente significativas (p<0,05) entre los tratamientos a partir del día 1. En el día 0, todos los tratamientos comenzaron con valores similares de viabilidad espermática (87,67 % para T1 y T3; 90,33 % para T2), sin diferencias estadísticas entre ellos. Sin embargo, a partir del día 1, T2 comienza a destacarse estadísticamente, alcanzando el valor más alto de viabilidad (87,67 %), manteniéndose significativamente superior respecto a T1 y parcialmente respecto a T3 en los días sucesivos.

Desde el día 2 hasta el día 8, T2 conserva una viabilidad significativamente mayor, estabilizándose por encima del 66 % a lo lardo de este período. T3 también muestra un comportamiento superior al de T1, aunque solo difiere estadísticamente de este en los días 2, 3

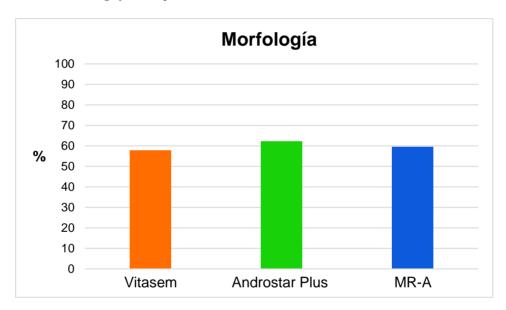
y 4. Por otro lado, T1 muestra un descenso progresivo y continuo, alcanzando el valor más bajo de viabilidad en el día 8 (44,67 %).

## 4.1.5 Morfología

Tabla 9. Promedios generales de la morfología según el tratamiento.

| Variable | T1      | T2      | Т3      | IC   |
|----------|---------|---------|---------|------|
| MORF     | 57,89 a | 62,17 a | 59,46 a | 3,60 |

T1= Vitasem; T2= Androstar Plus; T3= MR-A. MORF=Morfología. IC= Intervalo de confianza. <sup>a b=</sup> Interpretación de la diferencia estadística significativa p-valor < 0,05.



**Gráfico 9.** Promedios generales de la morfología según el diluyente.

Según los datos presentados en la tabla 9 y gráfico 9, no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados.

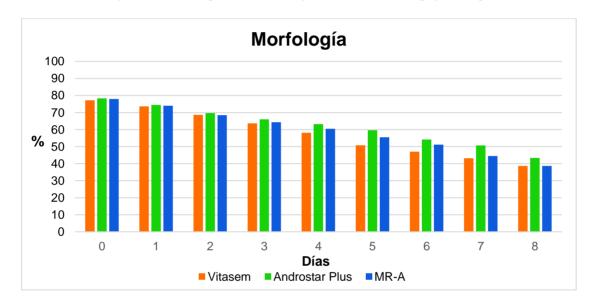
Desde un punto de vista aritmético, T2 (Androstar Plus) alcanzó el mayor promedio de espermatozoides con morfología normal (62,17 %), seguido por T3 (MR-A) con 59,46 %, mientras que T1 (Vitasem) obtuvo el valor más bajo, con un promedio de 57,89 %. Sin embargo, todas estas cifras se encuentran dentro del intervalo de confianza, lo cual confirma que las diferencias observadas no son suficientes para establecer superioridad estadística entre tratamientos.

Tabla 10. Promedios diarios de la morfología según el tratamiento.

| Trata | Día 0   | Día 1   | Día 2   | Día 3   | Día 4   | Día 5   | Día 6   | Día 7   | Día 8   |
|-------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| T1    | 77,17 a | 73,67 a | 68,67 a | 63,67 a | 58,17 a | 50,83 a | 47,00 a | 43,17 a | 38,67 a |
| T2    | 78,33 a | 74,50 a | 69,67 a | 66,00 a | 63,17 a | 59,67 a | 54,17 a | 50,67 α | 43,33 a |
| T3    | 78,00 a | 74,00 a | 68,50 a | 64,33 a | 60,50 a | 55,50 a | 51,17 a | 44,50 a | 38,67 a |
| IC    | 8,18    | 7,53    | 5,75    | 4,82    | 5,51    | 5,52    | 6,04    | 5,10    | 3,05    |

Días = 0,1,2,3,4,5,6,7 y 8 días del experimento. Trata = Tratamiento. Tl = Vitasem; T2 = Androstar Plus; T3 = MR-

A. IC= Intervalo de confianza. a b= Interpretación de la diferencia estadística significativa p-valor < 0,05.



**Gráfico 10.** Evolución diaria de la morfología según el diluyente.

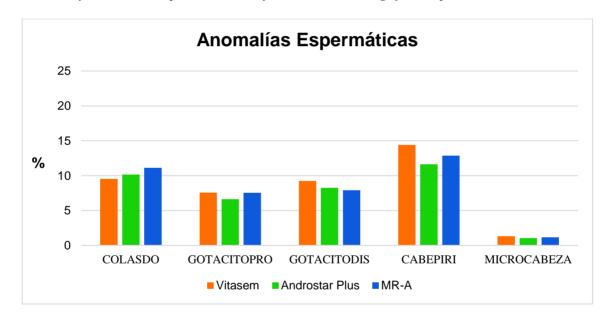
De acuerdo con los datos mostrados en la tabla 10 y gráfico 10, se evidencia que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en ninguno de los días evaluados, lo que indica un comportamiento estadísticamente homogéneo entre los diluyentes con respecto a la preservación de la morfología. Desde un punto de vista aritmético, todos los tratamientos comenzaron con valores similares en el día 0 (T1: 77,17 %; T2: 78,33 %; T3: 78,00 %). Sin embargo, T2 mostró una mejor preservación morfológica a lo largo del tiempo, alcanzando el valor más alto (43,33 %) en el día 8 seguido de T3 (38,67 %), y finalmente T1 (38,67 %), que mostró un descenso más pronunciado a partir el día 4.

### 4.1.6 Anomalías

Tabla 11. Promedios generales de las anomalías según el tratamiento.

| Variable    | T1                | T2                | Т3       | IC   |
|-------------|-------------------|-------------------|----------|------|
| COLASDO     | 9,54 ª            | 10,17 a           | 11,13 a  | 1,04 |
| GOTACITOPRO | 7,57 a            | 6,63 a            | 7,54 a   | 0,77 |
| GOTACITODIS | 9,24 <sup>a</sup> | 8,26 a            | 7,91 a   | 1,11 |
| CABEPIRI    | 14,41 в           | 11,63 a           | 12,87 ab | 1,26 |
| MICROCABEZA | 1,33 a            | 1,04 <sup>a</sup> | 1,17 a   | 0,23 |

T1= Vitasem; T2= Androstar Plus; T3= MR-A. COLASDO= Colas dobladas; GOTACITOPRO= Gota citoplasmática proximal; GOTACITODIS= Gota citoplasmática distal; CABEPIRI= Cabeza piriforme.. IC= Intervalo de confianza. <sup>a b=</sup> Interpretación de la diferencia estadística significativa p-valor < 0,05.



**Gráfico 11.** Promedios generales de las anomalías según el diluyente. Leyenda: COLASDO= Colas dobladas; GOTACITOPRO= Gota citoplasmática proximal; GOTACITODIS= Gota citoplasmática distal; CABEPIRI= Cabeza piriforme.

En la tabla 10 y el gráfico 10, se observan los valores promedios obtenidos de las principales anomalías morfológicas espermáticas evaluadas en los tratamientos T1, T2 y T3. En general, se observa que la mayoría de las variables no presentaron diferencias estadísticamente significativas (p>0,05). Sin embargo, en el caso específico de la anomalía cabeza piriforme, si se evidenciaron diferencias significativas entre tratamientos.

En la anomalía de colas dobladas no se presentaron diferencias estadísticamente significativas, lo cual se evidencia en los valores similares obtenidos: T1 (9,54 %), T2 (10,17 %) y T3 (11,13 %)

Las anomalías citoplasmáticas, tanto proximales como distales, también se distribuyeron homogéneamente entre tratamientos. T1 mostró el valor más alto de gotas proximales (7,57 %), mientras que T3 fue el más bajo (7,54 %), pero sin diferencia estadísticamente significativa. Para gotas distales, T1 presentó 9,24 %, ligeramente superior a T2 y T3, pero también sin diferencias relevantes.

En cuanto a cabeza piriforme, T1 (14,41 %) presentó una diferencia estadísticamente significativa con respecto a T2 (11,63 %), mientras que T3 (12,87 %) no difirió estadísticamente de ninguno de los dos tratamientos.

Los valores de microcabeza fueron muy similares en los tres tratamientos (entre 1,04 % y 1,33 %) y no se observaron diferencias estadísticamente significativas.

## 4.2 DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio muestran que Androstar Plus preserva mejor la motilidad masal del semen porcino en comparación con MR-A y Vitasem, lo cual es consistente con lo reportado por Becherer et al.(36), quienes realizaron una comparación entre cinco diluyentes comerciales, incluyendo Androstar Plus y Vitasem, encontrando que Androstar Plus mantuvo una motilidad espermática superior durante el almacenamiento a 17°C, lo que se refleja también en nuestros resultados, ya que Androstar Plus mantuvo los valores más altos de motilidad masal durante el período de conservación, mientras que Vitasem presentó una disminución más rápida de la motilidad espermática, lo que confirma la tendencia observada en nuestro estudio en el que Vitasem mostró los valores más bajos de motilidad masal.

Por otro lado, MR-A presentó un rendimiento intermedio, siendo más eficaz que Vitasem en los primeros días de almacenamiento, pero inferior al de Androstar Plus con el paso de los días, lo que coincide con los resultados de Rugeles-Pinto et al. (32), quienes evaluaron la motilidad espermática del semen porcino conservado en diluyente MR-A durante cortos períodos de tiempo y encontraron que, aunque el diluyente MR-A mantiene la motilidad espermática de manera efectiva en los primeros días de almacenamiento, esta disminuye con el tiempo; esta tendencia también se reflejó

en nuestros resultados, donde MR-A presentó una motilidad masal moderada durante todo el periodo de evaluación, aunque no alcanzó los valores obtenidos por Androstar Plus.

En este estudio no se encontraron diferencias entre los tratamientos evaluados en cuanto a la preservación de la motilidad progresiva del semen porcino, sin embargo, desde un análisis aritmético, Androstar Plus mostró una mejor conservación de la motilidad progresiva a lo largo de los días, destacándose frente a los otros diluyentes evaluados en este sentido, esta tendencia ha sido respaldada por Kaeoket et al. (37), quienes realizaron una comparación entre seis diluyentes comerciales, incluyendo Androstar Plus y Vitasem LD, señalando que Androstar Plus presentó una mayor capacidad para conservar la motilidad total, viabilidad celular e integridad del acrosoma hasta el octavo día de almacenamiento, lo cual valida su empleo como un diluyente confiable para la inseminación artificial porcina, considerando que estas propiedades se atribuyen a la incorporación de componentes antioxidantes, tampones estabilizadores y agentes osmoprotectores en su formulación, que protegen las estructuras celulares frente a los efectos negativos del almacenamiento a largo plazo.

En relación con la motilidad individual, el rendimiento entre Androstar Plus y MR-A se mantuvo similar durante los primeros días de conservación, lo que concuerda con los hallazgos de Torres et al. (38), quienes evaluaron el comportamiento de los diluyentes comerciales Androstar Plus, MR-A y MIII durante un periodo de cuatro días de almacenamiento; en dicha investigación, los autores reportaron que los diluyentes mostraron comportamientos funcionales semejantes durante ese corto lapso, sin que se evidenciaran diferencias importantes en variables como motilidad, viabilidad e integridad acrosomal, lo cual indicaría una eficacia equivalente en la preservación inicial, aunque al extender el periodo de preservación excediendo ese umbral, como se mostró en este estudio, dicha estabilidad comienza a deteriorarse de manera más evidente, reflejando que la eficiencia del diluyente MR-A podría estar sujetas a protocolos de uso inmediato o de baja exigencia temporal, en comparación con diluyentes de mayor soporte como Androstar Plus.

En cuanto a la preservación de la viabilidad espermática, los resultados obtenidos en nuestra investigación coinciden con los de Rodríguez (39), quien evaluó la calidad seminal en semen porcino refrigerado utilizando diluyentes comerciales y alternativos, entre los cuales se incluyeron Androstar Plus, Vitasem y MR-A, reportó que Androstar Plus fue el diluyente que mejor preservó la viabilidad espermática en comparación con los otros diluyentes, aunque su evaluación se limitó

a los primeros tres días de refrigeración, lo que también se refleja en nuestros hallazgos, donde Androstar Plus presentó los mejores valores de viabilidad respecto a MR-A y Vitasem. Además, Rodríguez observó que la viabilidad espermática disminuye de forma progresiva con el paso de las horas, pero se mantiene dentro de un rango relativamente amplio hasta el tercer día, tendencia que también fue confirmada en nuestro estudio, en el cual, a pesar de la disminución gradual en la viabilidad, se mantuvo un porcentaje significativo de espermatozoides viables, especialmente en las muestras tratadas con Androstar Plus. Estos resultados coinciden con la literatura existente, que sugiere que, aunque la refrigeración afecta la viabilidad espermática, la selección adecuada de diluyentes puede mitigar este deterioro y favorecer la preservación de la funcionalidad celular de los espermatozoides.

En lo que respecta a la morfología espermática, los resultados obtenidos en el estudio de Rodríguez (39), es consistente con los de nuestra investigación en algunos aspectos clave; tanto en su estudio como en el nuestro, Androstar Plus, MRA, y Vitasem presentaron valores similares en los primeros días de conservación, y además, ambos estudios no encontraron diferencias estadísticamente significativas en la morfología espermática a lo largo de los días evaluados, lo que sugiere que los diluyentes utilizados no tienen un impacto significativo en la morfología espermática en términos estadísticos.

Sin embargo, en cuanto al desempeño final, al igual que en el estudio de Rodríguez, Androstar Plus mostró los mejores resultados en términos de morfología espermática, seguido de MRA, con Vitasem en la última posición. Estos resultados refuerzan la idea de que Androstar Plus es eficaz en mantener la integridad estructural de los espermatozoides, similar a lo reportado por Rodríguez.

No obstante, existen diferencias notables entre ambos estudios. En el día 3, Rodríguez reportó valores de morfología espermática de 92.66% para Androstar Plus, 91% para MRA, y 86.5% para Vitasem. En cambio, en nuestro estudio, los valores fueron considerablemente más bajos: 66% para Androstar Plus, 64.33% para MRA, y 63.67% para Vitasem. Esta diferencia puede estar influenciada por varios factores, siendo uno de los más relevantes la variabilidad entre los verracos utilizados en ambos estudios. Como se sabe, la morfología espermática está estrechamente vinculada a las características genéticas de los reproductores, lo que podría haber contribuido a los valores más bajos observados en nuestro estudio, en comparación con el de Rodríguez. Esto

subraya la importancia de los factores biológicos y genéticos de los animales en lugar de depender únicamente del diluyente utilizado.

En cuanto a las anormalidades morfológicas, los resultados reportados por Gómez (40), quien evaluó los parámetros andrológicos del semen porcino utilizando dos diluyentes comerciales: MR – Antiox y Androstar Plus, en su estudio se colectaron eyaculados de verracos de diferentes líneas genéticas (Belga, Duroc y Duroc x Pietrain), los cuales fueron evaluados tanto macroscópica como microscópicamente en distintos tiempos, y los resultados indicaron que no se encontraron diferencias significativas en las anormalidades morfológicas entre los diluyentes evaluados, lo que sugiere que ambos diluyentes son igualmente efectivos para preservar la calidad espermática sin inducir un aumento en las anormalidades espermáticas, este hallazgo es consistente con nuestros resultados, donde tampoco se observaron diferencias significativas en las anormalidades morfológicas entre los diluyentes utilizados, lo que refuerza la idea de que los diluyentes seleccionados no afectan negativamente la morfología espermática.

### V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio evidenciaron que la calidad espermática del semen porcino está estrechamente relacionada con el tipo de diluyente utilizado durante su almacenamiento, por lo tanto, de manera consistente, el diluyente Androstar Plus se consolidó como el más eficiente, logrando conservar altos niveles de motilidad masal, individual y progresiva, así como una viabilidad celular considerable hasta el día 8. En cambio, MR-A mostró un desempeño sostenido, mientras que Vitasem, aunque inicialmente funcional, presentó una disminución rápida de eficacia a partir del día 3.

Se determina que los diluyentes Androstar Plus y MR-A conservan con mayor efectividad la capacidad de movimiento masal de los espermatozoides a lo largo del tiempo de almacenamiento, por su parte, Vitasem presentó una eficiencia más limitada en este aspecto.

A partir del día 6, la motilidad masal disminuyó considerablemente en todos los tratamientos, sin variaciones sustanciales entre ellos, lo que demuestra una pérdida generalizada de esta capacidad funcional, independientemente del diluyente empleado.

Los hallazgos apuntan a que el uso del Androstar Plus representa una ventaja clara en la conservación de la motilidad individual espermática, situándose dentro de los rangos adecuados para la fertilización. Por su parte, MR-A presentó resultados funcionales aceptables, aunque con un desempeño levemente inferior. En cambio, Vitasem podría comprometer la eficiencia reproductiva en dosis almacenadas por más de tres días, debido a causa de su limitada capacidad para mantener dicha característica.

En relación con la motilidad progresiva, se confirma la superioridad funcional de Androstar Plus, seguido por MR-A, que presentó un comportamiento estable, mientras que, Vitasem mostró un rendimiento más limitado entre los tratamientos analizados.

Los resultados respaldan la funcionalidad superior de Androstar Plus y MR-A en la protección de la membrana plasmática espermática, un factor clave para preservar la fertilidad; por el contrario, Vitasem resultaría una opción más adecuada solo para periodos cortos de almacenamiento.

Se establece que Androstar Plus es el diluyente más eficiente para mantener la viabilidad espermática almacenada a largo plazo, seguido de MR-A, mientras que, Vitasem, aunque funcional en las primeras 24 horas, no se sugiere para periodos superiores a tres días debido al deterioro evidente de la funcionalidad celular.

Respecto a la morfología estructural, todos los diluyentes presentaron un comportamiento semejante durante el almacenamiento; no obstante, Androstar Plus presentó una ligera ventaja comparativa sobre los demás.

No se identificaron variaciones evidentes entre los tratamientos en cuanto a la frecuencia de alteraciones estructurales como colas dobladas, lo cual indica que estas podrían estar más vinculas al tiempo de almacenamiento y a factores externos, más que al diluyente utilizado.

En lo concerniente a la retención citoplasmática, los hallazgos sugieren que ninguno de los diluyentes ejerció una influencia específica sobre su aparición, no obstante, se observó que Vitasem podría estar asociado con una mayor aparición de ciertas alteraciones, probablemente a causa de una menor estabilidad osmótica o a efectos indirectos sobre la integridad de la cabeza espermática durante el periodo de almacenamiento.

Estos resultados no solo confirman el efecto directo que ejerce el tipo de diluyente sobre la funcionalidad del espermatozoide porcino durante el almacenamiento, sino que también brindan

fundamentos técnicos para la toma de decisiones en programas de inseminación artificial. La elección del diluyente más adecuado, ajustado a los objetivos operativos de cada sistema de producción, puede optimizar el rendimiento reproductivo y disminuir pérdidas vinculadas al deterioro espermático.

Finalmente, los resultados de esta investigación no solo coinciden con lo establecido en la literatura científica, sino que además aportan información novedosa al comparar simultáneamente tres diluyentes comerciales bajo las mismas condiciones experimentales. A diferencia de investigaciones previas que evalúan uno o dos diluyentes de manera aislada, este diseño comparativo integral permite identificar con mayor claridad las ventajas y limitaciones de cada uno. Por lo tanto, la presente tesis contribuye al conocimiento técnico sobre la selección de diluyentes para la preservación de semen porcino optimizando la eficiencia de los programas de inseminación artificial.

### 5.2 RECOMENDACIONES

- 1. Emplear Androstar Plus como diluyente de elección para programas de inseminación artificial que requieran la preservación del semen por más de cinco días, debido a su alta capacidad para conservar la motilidad y viabilidad espermática a largo plazo.
- 2. Considerar MR-A como opción válida para protocolos de inseminación con duraciones intermedias (hasta 4-5 días), ya que mantiene un rendimiento adecuado y podría representar una alternativa costo-efectiva en determinadas condiciones de manejo.
- 3. Se sugiere utilizar el diluyente Vitasem solo en inseminaciones programadas para realizarse en un corto plazo (idealmente antes de las 72 horas post-colecta), debido a la reducción de la calidad espermática a partir del día 3.
- 4. Realizar un análisis del semen diluido previa a la inseminación, con el fin de comprobar sus características espermáticas y asegurar que aún cumple con los parámetros mínimos de calidad espermática.

### VI REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1. Gadea J. Semen extenders used in the artificial insemination of swine: Review. Spanish journal of agricultural research, ISSN-e 2171-9292, ISSN 1695-971X, Vol 1, N° 2, 2003, págs 17-28. 2003;1(2):17-28.
- Carrasco Cando AM, Toapanta Cunalata OG, Miranda Carrera EN, Silva Jaramillo PR. Evaluación de tres diluyentes incorporados en el semen de porcinos. Polo del Conocimiento: Revista científico - profesional, ISSN-e 2550-682X, Vol 8, Nº 11 (NOVIEMBRE 2023), 2023, págs 210-224. 2023;8(11):210-24.
- 3. Reina Rivas JJ, Azum Gonzales JL, Barcia Anchundia JX, Mendieta Mendieta JD. Uso de yuca (Manihot Esculenta Crantz) ensilada como alternativa en la ceba de cerdos. Revista Colombiana de Ciencia Animal RECIA. 15 de febrero de 2022;14(1):e870.
- 4. Enrique J, Segura-Correa JC;, Batista-Garcia L;, Alzina-López A; Factores ambientales que afectan los componentes de producción y productividad durante la vida de las cerdas. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 2014;17(3):447-62.
- 5. Roppa L, Duarte ME, Kim SW. Invited Review Pig production in Latin America. Vol. 37, Animal Bioscience. Asian-Australasian Association of Animal Production Societies; 2024. p. 786-93.
- 6. ASPE. Asociación de porcicultores. Estadísticas ASPE [Internet]. 2022 [citado 26 de enero de 2025]. Disponible en: https://aspe.org.ec/estadisticas/
- 7. Puerta Dussan OC, Díaz Cruz Á, Sánchez Castillo V. Characterization of the technical aspects of the agricultural production system in the swine sector in the production farm of Vereda Caldas. Southern perspective / Perspectiva austral. 11 de septiembre de 2023;1:7.
- 8. Cambiaggi V, Acosta M, Álvarez F, de Iraola J, Noguez D, Piove M, et al. Anatomía regional del porcino. 1a ed. La Plata; 2023. 61-65 p.
- 9. Boeta M, Balcázar A, Cerbón J, Hernández J, Hernández J, Páramo R, et al. Fisiología reproductiva de los animales domésticos. 2.ª ed. Meza R, Rangel L, Herrera E, Martínez L, Domínguez M, editores. Ciudad de México; 2023. 22-168 p.

- 10. Mercado E. Caracterización de la congelabilidad y mejora de los diluyentes de crioconservación espermática en porcino ibérico [Internet]. [Madrid]: Universidad Complutense de Madrid; 2012 [citado 26 de enero de 2025]. Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.14352/48005
- 11. Vanina CM, Marcela TC, Inés WS. Artificial insemination in the swine species: inseminating dose related to the deposition place. Analecta Vet. 5 de diciembre de 2019;39(2):33-46.
- 12. Waberski D, Riesenbeck A, Schulze M, Weitze KF, Johnson L. Application of preserved boar semen for artificial insemination: Past, present and future challenges. Vol. 137, Theriogenology. Elsevier Inc.; 2019. p. 2-7.
- 13. Méndez RO. Situación de la la Porcinocultura en el Ecuador. Ciencias de la vida: La Granja [Internet]. 30 de junio de 2002 [citado 16 de enero de 2025];1(1):5-6. Disponible en: https://revistas.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/1.2002.02
- 14. Quirós-Rojas M, Madrigal-Valverde M, Camacho-Calvo M, Valverde A. Efecto del catéter de inseminación y el orden de parto sobre parámetros de producción en ganado porcino. Revista Tecnología en Marcha. 11 de octubre de 2018;31(3).
- 15. Toledo-Guardiola SM, Luongo C, Abril-Parreño L, Soriano-Úbeda C, Matás C. Different seminal ejaculated fractions in artificial insemination condition the protein cargo of oviductal and uterine extracellular vesicles in pig. Front Cell Dev Biol. 2023;11.
- 16. Izquierdo C, Pérez Gutiérrez ;, Méndez Hernández ;, Mancera V, Crispín H. Obtención, evaluación y manipulación del semen de verraco en una unidad de producción mexicana [Internet]. Vol. 26, Rev vet. 2015. Disponible en: www.vet.unne.edu.ar
- 17. Luongo C, Llamas-López PJ, Garrappa G, Rodríguez-Tobón E, Grudzinska P, García-Vázquez FA. Impact of inclusion of post-spermatic ejaculate fraction in boar seminal doses on sperm metabolism, quality, and interaction with uterine fluid. Sci Rep. 1 de diciembre de 2023;13(1).
- 18. Toledo-Guardiola SM, Párraga-Ros E, Seva J, Luongo C, García-Vázquez FA, Soriano-Úbeda C, et al. Artificial insemination of all ejaculated sperm fractions accelerates embryo

- development and increases the uterine vascularity in the pig. Theriogenology. 15 de abril de 2024;219:32-8.
- 19. Valverde A, Barquero V, Carvajal V. Applied biotechnology to the study of the boar semen motility. Agronomia Mesoamericana. 1 de mayo de 2021;32(2):662-80.
- 20. Wysokińska A, Szablicka D, Dziekońska A, Wójcik E. Analysis of changes in the morphological structures of sperm during preservation of liquid boar semen in two different seasons of the year. Anim Reprod Sci. 1 de septiembre de 2023;256:107297.
- 21. Rodríguez ADV. Evaluación de la calidad espermática de sementales porcinos utilizados en la monta natural. REDVET Revista Electrónica de Veterinaria [Internet]. 2017 [citado 20 de enero de 2025];18(10):1-17. Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63653470023
- 22. García-Vázquez FA. Artificial intelligence and porcine breeding. Anim Reprod Sci. 1 de octubre de 2024;269:107538.
- 23. Salazar L, Carrillo- Gonzáles D, Hernández H D. Efecto de la suplementación con zinc y selenio sobre la calidad seminal en cerdos. Revista Colombiana de Ciencia Animal RECIA. 1 de diciembre de 2016;8:400-10.
- 24. Flowers WL. Factors affecting the production of quality ejaculates from boars. Anim Reprod Sci. 1 de noviembre de 2022;246:106840.
- 25. Rodriguez AL, Soom A Van, Arsenakis I, Maes D. Boar management and semen handling factors affect the quality of boar extended semen. Porcine Health Manag [Internet]. 25 de julio de 2017 [citado 20 de enero de 2025];3(1):1-12. Disponible en: https://porcinehealthmanagement.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40813-017-0062-5
- 26. Córdova A, Iglesias A, Guerra E, Ruiz G, Villa A, Pérez J, et al. La valoración seminal en las unidades de producción animal. Revista Veterinaria Argentina [Internet]. enero de 2022 [citado 21 de enero de 2025];39:405. Disponible en: https://www.veterinariargentina.com/revista/2022/01/la-valoracion-seminal-en-las-unidades-de-produccion-animal-porcinos/

- 27. Díaz-Ruíz E, González-Ariza, León J, Peláez-Caro M, Venegas M, Forero F, et al. Caracterización de parámetros de calidad seminal en variedades amenazadas de la raza porcina Ibérico Characterization of seminal quality parameters in endangered varieties of the Iberian pig breed Archivos de Zootecnia. Arch Zootec. 10 de abril de 2023;72(278):122-6.
- 28. Kondracki S, Górski K, Iwanina M, Kordan W, Lecewicz M. Association between sperm morphology and sperm count of boar semen. Pol J Vet Sci. 2023;26(4):695-704.
- 29. Lacalle Fernández E. Incremento de la eficiencia reproductiva de la cría porcina mediante la aplicación de nuevas técnicas avanzadas de análisis de la cromatina espermática y selección por coloide [Internet]. [León]: Universidad de León ; 2024 [citado 21 de enero de 2025]. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=334292&info=resumen&idioma=ENG
- 30. Moreta D. Diversidad de microorganismos seminales y su relación con el potencial reproductivo del semen porcino [Internet]. [Latacunga]: Universidad Técnica de Cotopaxi; 2023 [citado 21 de enero de 2025]. Disponible en: http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/10471
- 31. Iljenkaite A, Kerziene S, Dauksiene A, Mikniene Z, Zilinskas H, Sutkeviciene N. The effect of royal jelly on boar sperm viability and motility during liquid storage for 96 hours. Acta Veterinaria Brno. 2020;89(1):47-53.
- 32. Rugeles-Pinto C, Caicedo-Toro R, Almentero-Suárez C, Linares-Arias J, Vergara-Garay O. Viability of Porcine Semen Preserved With MRA® Diluent. Technical Note. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia. 15 de enero de 2013;XXIII:206-10.
- 33. Condoy MC, Cevallos JA. Diluyentes utilizados en inseminación artificial porcina. REDVET Revista Electrónica de Veterinaria [Internet]. 2017 [citado 21 de enero de 2025];18(9):1-11. Disponible en: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63653009012
- 34. Chanapiwat P, Buranasinsup S, Kaeoket K. Transformation of a short-term boar semen extender into a long-term boar semen extender by using penicillamine. Czech Journal of

- Animal Science [Internet]. 28 de octubre de 2022 [citado 24 de enero de 2025];67(10):407-15. Disponible en: https://doi.org/10.17221/130/2022-CJAS
- 35. Sangma TFM, Ahmed K, Choudhury MD, Zaman GU, Ahmed N, Das A. Comparative efficacy of three extenders on quality of boar semen during preservation at 15°C. Indian J Anim Sci [Internet]. 17 de julio de 2020 [citado 24 de enero de 2025];90(3):375-8. Disponible en: https://epubs.icar.org.in/index.php/IJAnS/article/view/102439
- 36. Becherer D, Batz J, Gugelmann R, Ulbrich S. Long term storage of liquid preserved boar semen: A comparative study using 5 different commercial extender [Internet]. 2014 [citado 23 de julio de 2025]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/261761037\_Long\_term\_storage\_of\_liquid\_preserved\_boar\_semen\_A\_comparative\_study\_using\_5\_different\_commercial\_extenders
- 37. Kaeoket K, Srisowanna T, Wichaidit U, Chanapiwat P, Manee-In S. Comparative Study on Six Different Long Term Commercial Extenders for Fresh Boar Semen. Vol. 40, Vet. Med. 2010. 2010.
- 38. Torres P, Fischman ML, Acerbo M, García C, Míguez M, Domínguez J, et al. Análisis de diluyentes comerciales de semen porcino refrigerado durante 4 días: resultados preliminares. Archivos de Zootecnia [Internet]. septiembre de 2014 [citado 24 de junio de 2025];63(243):547-50. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S0004-05922014000300015&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- 39. Rodríguez E. Evaluación de dos diluyentes alternativos para la preservación de semen porcino refrigerado en el trópico bajo colombiano [Internet]. http://alejandria.ufps.edu.co/descargas/tesis/1630448.pdf. [ San de José Cúcuta]: Universidad Francisco de Paula Santander; 2020 [citado 23 de julio de 2025]. Disponible en: http://repositorio.ufps.edu.co/handle/ufps/4371
- Gómez J. Evaluación andrológica utilizando dos tipos de diluyentes comerciales en semen porcino en la granja "El Paraíso" en el recinto Aguas Frías del cantón Ventanas. [Internet].
  [Babahoyo]; 2025 [citado 23 de julio de 2025]. Disponible en: http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/18095

# VII ANEXOS



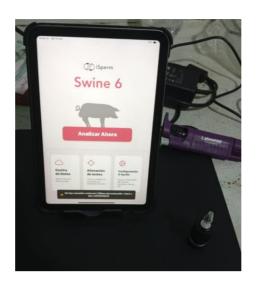
Anexo 1. Diluyentes utilizados en los tratamientos.



Anexo 2. Agua de tipo II.



Anexo 3. Solución de eosina.



Anexo 4. iSperm mCASA.



Anexo 5. Placa térmica.



Anexo 6. Baño María modelo HH-2.



Anexo 7. Colecta del semen.



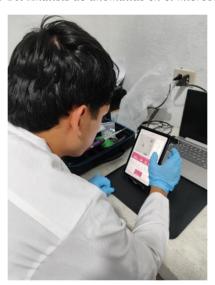
Anexo 8. Medición del semen colectado.



Anexo 9. Análisis del semen mediante el iSperm mCASA.



Anexo 10. Análisis de anomalías en el microscopio.



Anexo 11. Lectura de resultados de motilidades.



Anexo 12. Envasado del semen diluido.



Anexo 13. Preparación de los diluyentes.



Anexo 14. Reanimación térmica del semen diluido a 37 °C.