

# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

## **ESCUELA DE POSTGRADO**



### **MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**SECCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS**

**MENCIÓN: PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL**

### **TESIS**

**“EFECTO DE LA TEMPERATURA AMBIENTAL Y FRECUENCIA DE  
COLECCIÓN DE SEMEN EN LA CALIDAD ESPERMÁTICA DE PORCINOS”**

**Presentado por:**

**CÉSAR AUGUSTO PISCOYA VARGAS**

**Asesor:**

**Mg. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN**

**Cajamarca - Perú**

**2015**

COPYRIGHT © 2015 by  
**CÉSAR AUGUSTO PISCOYA VARGAS**  
Todos los derechos reservados

# **UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA**

## **ESCUELA DE POSTGRADO**



### **MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**SECCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS**

**MENCIÓN: PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL**

### **TESIS**

**“EFECTO DE LA TEMPERATURA AMBIENTAL Y FRECUENCIA DE  
COLECCIÓN DE SEMEN EN LA CALIDAD ESPERMÁTICA DE PORCINOS”**

**Presentado por:**

**CÉSAR AUGUSTO PISCOYA VARGAS**

**Comité Científico:**

Mg. Gilberto Fernández Idrogo  
Presidente de Jurado

Mg. José Fernando Coronado León  
Asesor

Mg. Juan Villanueva de la Cruz  
Primer Miembro Titular

Mg. José Antonio Niño Ramos  
Segundo Miembro Titular

Cajamarca – Perú

2015

## DEDICATORIA

A mi madre Manuela Vargas Carranza, el ser especial quien mediante sus oraciones hizo posible que el presente objetivo se cristalice.

A mi familia: Flor Gonzales Medina, Hilda, Milagros y Rosa, quienes han sabido apoyarme y brindarme su ayuda constante para convertir cada una de mis metas en realidad.

A mis hermanos, sobrinos y cuñados quienes con sus consejos y firme apoyo lograron ayudarme en todo este proceso académico.

A: Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares, Mg. José Fernando Coronado León, quienes con sus importantes e invaluables asesoramientos hicieron posible la culminación de la tesis.

A la Sra. Bebelú Castro Yajahuanca quien con su apoyo significativo hizo que esta meta se materialice.

## AGRADECIMIENTO

A Dios:

*“...Tú, Señor, eres lo que tengo; he prometido poner en práctica tus palabras. Me puse a pensar en mi conducta, y he vuelto a obedecer tus mandatos, no me he olvidado de tu enseñanza, pero Señor, sigue enseñándome tus leyes...”*

(Salmo 119)

# CONTENIDO

Ítem	Página
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
CONTENIDO	vi
CONTENIDO DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xvi
<b>CAPÍTULO I</b>	<b>1</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO II</b>	<b>3</b>
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>3</b>
<b>2.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS</b>	<b>3</b>
2.1.1. Mecanismos neuroendocrino en el control de la fisiología reproductiva	3
2.1.2. Espermatogénesis y la maduración en el epidídimo.	5
2.1.3. Los espermatozoides.	8
2.1.4. Eyaculado.	11
2.1.5. Métodos de colección espermática.	13
2.1.6. Espermiograma clásico.	14
2.1.6.1. Volumen, pH y concentración espermática.	14
2.1.6.2. Motilidad.	18
2.1.6.3. Morfología espermática	20
2.1.6.4. Acrosoma y vitalidad del espermatozoide	22
2.1.6.5. Metabolismo de los espermatozoides	23
2.1.6.6. Enzimas en el metabolismo espermático	24
2.1.6.7. Constituyentes del plasma seminal.	25
2.1.6.8. Test de endosmosis o hiposmótica (host).	26
2.1.6.9. Test de resistencia osmótica (ort)	27

2.1.7. Factores que repercuten sobre la calidad espermática de los cerdos	27
2.1.7.1. Efectos estacionales	27
2.1.7.2. Frecuencia de colección seminal en verracos y su relación con la fertilidad	34
<b>CAPÍTULO III</b>	<b>36</b>
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>36</b>
3.1. Fase experimental 1	36
3.1.1. Lugar de estudio	36
3.1.2. Manejo animal	36
3.1.3. Procedimiento experimental	38
3.1.4. Cálculo del tamaño de muestra (Experimento N° 01)	39
3.1.5. Diseño Estadístico para la Fase Experimental 1 (Prueba de U Mann Whitney, prueba de Jonckheere- Terpstre y prueba de Kruskal-Wallis)	40
3.1.6. Para el análisis de calidad espermática (volumen seminal, pH, densidad, motilidad, vitalidad, concentración espermática y morfoanomalías) se utilizó la prueba de U Mann-Whitney, prueba de Jonckheere–Terpstra y prueba de Kruskal Wallis.	40
3.2. Fase Experimental 2	41
3.2.1. Lugar de estudio y manejo animal	42
3.2.2. Procedimiento experimental	43
3.2.3. Para el análisis de la calidad espermática	44
3.2.4. Métodos de evaluación de las características del semen	45
3.2.5. Métodos para evaluar la calidad espermática	45
3.2.5.1. Volumen seminal	45
3.2.5.2. Concentración espermática	45
3.2.5.3. Motilidad en masa	47
3.2.5.4. Motilidad individual	47
3.2.5.5. Vitalidad espermática	48
3.2.5.6. Morfología espermática	49
3.2.5.7. Test de resistencia osmótica (ort)	49
3.2.5.8. Integridad acrosomal	50

3.2.5.9. Ph	51
3.2.5.10. Densidad	51
3.2.6. Métodos de colección seminal	52
<b>CAPÍTULO IV</b>	<b>53</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>53</b>
4.1. Experimento 1	53
4.1.1. Efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección por semana sobre las características del eyaculado en cerdos	53
4.1.1.1. Características físicas del eyaculado en cerdos: volumen, pH y densidad, por efecto de la temperatura y frecuencia de colección seminal por semana.	53
4.1.1.2. Características de los espermatozoides por efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección sobre: la motilidad en masa, motilidad individual, vitalidad, concentración espermática, integridad acrosomal, test de resistencia osmótica y morfoanomalías.	55
4.2. Experimento 2	65
4.2.1. Efecto de la temperatura ambiental y la frecuencia de colección sobre las características del eyaculado en cerdos	65
4.2.1.1. Características físicas del eyaculado en cerdos: volumen, pH y densidad por efecto de la temperatura	65
4.2.1.2. Características de los espermatozoides por efecto de la temperatura ambiental sobre la motilidad en masa, motilidad individual, vitalidad, concentración espermática, integridad acrosomal, test de resistencia osmótica y morfoanomalías.	69
<b>CAPÍTULO V</b>	<b>77</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>77</b>
5.1. Conclusiones	77
5.2. Recomendaciones	78
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>79</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>88</b>

## CONTENIDO DE CUADROS

Cuadro 1:	Composición química del plasma seminal.	13
Cuadro 2:	Valores normales de volumen y concentración descritos en la especie porcina.	17
Cuadro 3:	Características y componentes químicos del semen del verraco.	19
Cuadro 4:	Valores normales de motilidad descrita en las especies porcinas	20
Cuadro 5:	Valores espermáticos descritos en la especie porcina para morfoanomalías espermáticas.	22
Cuadro 6:	Valores de acrosomas normales descritos en la especie porcina	23
Cuadro 7:	Número y porcentaje promedio del total de anomalías espermáticas de verracos en relación a la raza y la temperatura.	30
Cuadro 8:	Porcentaje de anomalías del acrosoma en los espermatozoides de verraco.	30
Cuadro 9:	Porcentaje de gota citoplasmática en espermatozoide de verraco.	31
Cuadro 10:	Porcentaje de anomalías en la cola de espermatozoides de verracos.	32
Cuadro 11:	Valores promedio y rangos de las características espermáticas de verracos en todas las granjas.	33
Cuadro 12:	Tamaño de muestra. Experimento 1.	38
Cuadro 13:	Esquema del análisis de las características espermáticas por efecto de la temperatura.	40
Cuadro 14:	Esquema del análisis de las características espermáticas por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana	41
Cuadro 15:	Tamaño de muestra. Experimento 2	43
Cuadro 16:	Esquema del experimento 2 para evaluar la calidad espermática por efecto de la temperatura ambiental.	45
Cuadro 17:	Esquema del experimento 2 para evaluar la calidad espermática por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana.	45
Cuadro 18:	Efecto de la temperatura ambiental sobre motilidad de los espermatozoides del eyaculado de los cerdos (experimento 1).	56

Cuadro 19:	Efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana sobre la concentración espermática de los cerdos (experimento 1).	60
Cuadro 20:	Efecto de la temperatura ambiental sobre la integridad del acrosoma y test de resistencia osmótica (experimento 1).	62
Cuadro 21:	Efecto de la Frecuencia de Colección sobre la morfología e gota citoplasmática proximal (%) (Experimento 1).	64
Cuadro 22:	Efecto de la temperatura ambiental sobre la morfología gota citoplasmática distal (experimento 1).	65
Cuadro 23:	Efecto de la Frecuencia sobre el volumen seminal.	67
Cuadro 24:	Efecto de la Temperatura del medio ambiente y la frecuencia de colección sobre el pH seminal.	68
Cuadro 25:	Efecto de la temperatura ambiental sobre la motilidad en masa e individual del semen de los cerdos por efecto de la temperatura ambiental por frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).	70
Cuadro 26:	Características de la vitalidad espermática del semen de los cerdos por efecto de la temperatura ambiental por frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).	72
Cuadro 27:	Efecto de la temperatura ambiental y la frecuencia de colección seminal por semana sobre la integridad de los acrosomas (experimento 2).	73
Cuadro 28:	Efecto de la frecuencia de colección seminal por semana sobre el test de resistencia osmótica (experimento 2)	74
Cuadro 29:	Morfoanomalías espermáticas, cola en látigo, por efecto de la temperatura ambiental * Frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).	75
Cuadro 30:	Efecto de la temperatura ambiental sobre la morfología de la gota citoplasmática proximal. (Experimento 2).	76

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Tipos de movimiento espermático individual.	48
Figura 2	Efecto de la temperatura ambiental sobre motilidad en masa de los espermatozoides del eyaculado de los cerdos.	57
Figura 3	Efecto de la temperatura ambiental sobre motilidad individual de los espermatozoides del eyaculado de los cerdos.	57
Figura 4	Efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana sobre la concentración espermática de los cerdos (experimento 1).	60
Figura 5	Efecto de la temperatura ambiental sobre la integridad del acrosoma.	62
Figura 6	Efecto de la temperatura ambiental sobre la integridad del test de resistencia osmótica.	62
Figura 7	Efecto de la temperatura ambiental sobre la morfología gota citoplasmática distal (experimento 1).	64
Figura 8	Efecto de la temperatura ambiental sobre la morfología de la gota citoplasmática distal.	65
Figura 9	Efecto de la Frecuencia (una y dos colecciones) sobre el volumen seminal.	68
Figura 10	Efecto de la Temperatura del medio ambiente y la frecuencia de colección sobre el pH seminal.	68
Figura 11	Efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección sobre la motilidad en masa.	70
Figura 12	Efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección sobre la motilidad individual.	71

Figura 13	Características de la vitalidad espermática del semen de los cerdos por efecto de la temperatura ambiental por frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).	72
Figura 14	Efecto de la temperatura ambiental y la frecuencia de colección seminal por semana sobre la integridad de los acrosomas (experimento 2).	74
Figura 15	Efecto de la frecuencia de colección seminal por semana sobre el test de resistencia osmótica (experimento 2).	74
Figura 16	Morfoanomalías espermáticas, cola en látigo, por efecto de la temperatura ambiental * Frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).	76
Figura 17	Efecto de la temperatura ambiental sobre la morfología de la gota citoplasmática proximal. (Experimento 2).	76

## ANEXOS

Anexo 1: Estadígrafos de las características espermáticas de los verracos por efecto de la temperatura ambiental (experimento 1).	89
Anexo 2: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la temperatura ambiental (experimento 1).	91
Anexo 3: Estadígrafos de las características espermáticas de los verracos por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana (experimento 1)	92
Anexo 4: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana (experimento 1)	94
Anexo 5: Estadígrafos de las características espermáticas de los verracos por efecto de la interacción de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana (experimento 1).	95
Anexo 6: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la interacción de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana (experimento 1).	97
Anexo 7: Estadígrafos de las características espermáticas de los verracos por efecto de la temperatura ambiental (experimento 2).	98
Anexo 8: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la temperatura ambiental (experimento 2).	100
Anexo 9: Estadígrafos de las características espermáticas de los verracos por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).	101
Anexo 10: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).	103
Anexo 11: Estadígrafos de las características espermáticas de los verracos por efecto de la interacción de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).	104

Anexo 12: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la interacción de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).	106
Anexo 13: Registro de la temperatura y humedad relativa en el Distrito de Reque del mes de Febrero, Marzo (2008).	107
Anexo 14: Registro de la temperatura y humedad relativa en el Distrito de Reque del mes de Abril (2008).	109

## RESUMEN

El presente estudio se realizó en el distrito de Reque departamento de Lambayeque y el objetivo fue evaluar el efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección de semen en la calidad espermática de cerdos. El experimento uno se realizó en temperatura ambiental de 29°C a 32°C en época de verano y 20°C a 25°C en otoño a cada intervalo de temperatura se le asignó tres cerdos de dos años de edad, híbridos (Landrace x Belga x Pietrain). En ambos intervalos de temperatura se realizó la colección del eyaculado por semana de la siguiente forma: a un cerdo se colectó una vez por semana; al segundo cerdo dos veces y al tercer cerdo tres veces. En el segundo experimento se acondicionó dos temperaturas ambientales; a un ambiente entre 29°C a 32°C y el otro ambiente entre 20°C a 25°C y a cada intervalo de temperatura se le asignó 2 cerdos híbridos y a uno de los cerdos de cada ambiente se colectó el eyaculado una vez por semana y al segundo cerdo tres veces por semana. La calidad espermática fue evaluada mediante el análisis de las características físicas del eyaculado como las características espermáticas utilizando las pruebas estadísticas de U-Mann-Whitney, Kruskal – Wallis y Jonckheere Terpstra, resultando un efecto diferente ( $p < 0,05$ ) por acción de la temperatura ambiental y frecuencia de colección de semen por semana sobre la motilidad, integridad acrosómica, test de resistencia osmótica, concentración espermática y morfoanomalías (cola en látigo) y concluyéndose que la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal tres veces por semana afecto la motilidad en masa, motilidad individual, concentración espermática, integridad del acrosoma, test de resistencia osmótica y morfoanomalía cola en látigo.

**Palabras claves:** Temperatura ambiental, frecuencia de colección de semen, cerdos, calidad espermática.

## ABSTRACT

This study was conducted in the district of Requena and Lambayeque objective was to evaluate the effect of ambient temperature and frequency of collection of semen in the sperm quality of pigs. The experiment was performed in one ambient temperature of 29 to 32 ° C in summer and autumn 20 to 25 in each temperature range was assigned three pigs two years, hybrid (x Belgian Landrace x Pietrain). In both temperature ranges collection ejaculate per week was conducted as follows: a pig was collected once a week; the second pig twice and three times third pig. In the second experiment it was conditioned two environmental temperatures; at a temperature between 29 to 32 ° C and one atmosphere between 20 to 25° C temperature range and each was assigned 2 pigs and one hybrid pigs of each environment ejaculate is collected once a week and the second pig three times by week. The sperm quality was evaluated by analyzing the physical characteristics of ejaculate and sperm characteristics using statistical tests of U-Mann-Whitney, Kruskal - Wallis and Jonckheere Terpstra, resulting a different effect ( $p < 0.05$ ) per share ambient temperature and frequency of semen collection per week on motility, acrosome integrity, osmotic resistance test, sperm concentration and morphological abnormalities (tail whip) and concluded that the environmental temperature and frequency seminal collection three times a week affection motility masal, individual motility, sperm concentration, acrosome integrity, strength and osmotic test morfoanomalía tail whip.

**Keywords:** ambient temperature, frequency of collection of semen, pigs, sperm quality.

## CAPÍTULO I

### I. INTRODUCCIÓN

La eficiencia reproductiva porcina está relacionada con buenos manejos en la que se refiere al ambiente, alimentación y sanidad; sin embargo cuando la temperatura es mayor al 29°C, tiende a afectar la calidad espermática (Setchell et al., 1994 y Wiseman et al., 1988). Este hecho explica las menores tasas de fertilidad que se producen en porcinos por cambio de estacionalidad, sobre todo en verano (Mackinnon, 2006).

Estudios realizados en cerdos mantenidos en un ambiente con temperatura mayor de 29°C la calidad espermática fue afectada; disminuyendo la concentración espermática y un incremento de espermatozoides anormales y como consecuencia la tasa de fertilidad descendió (Fuentes et al., 1992).

El efecto fisiológico de la temperatura es explicado por el estrés que provoca al cerdo debido al incremento del metabolismo calórico (Malmgren, 1997; Slaweta y Strezezek 1984; Weitze y Petzoldt 1992) y como consecuencia se incrementa el nivel de ACTH, cuyo efecto se manifiesta en la inhibición de la síntesis y liberación de la hormona LH y FSH que participan en la espermatogénesis (Hughes y Varley 1984; Daudone et al., 1993; Setchell et al., 1994), sobre todo en los estadios temprano (Esponda 1985; De Kretser y Kerr 1994; Hetch 2000), expresado con una alteración del ciclo espermático en el proceso de desarrollo de los espermatozoides (Harrison 1996; Malmgren 1997; Slaweta y Strezezek 1984).

Por otro lado la mayor frecuencia de colección seminal por semana afectan la calidad espermática del cerdo, lo que origina una baja eficiencia reproductiva expresada en infertilidad en la marrana y menor tamaño de camada al nacimiento (Hurtger, 1986).

La calidad espermática por el incremento de la frecuencia de colección seminal por semana se ve afectada por la menor concentración espermática por eyaculado (Mazzarri

et al., 1969), disminución de las reservas espermáticas (Córdova et al., 2007) y el incremento de morfoanomalías de los espermatozoides (Palacios, 1993).

Se hipotetiza que la temperatura ambiental y la frecuencia de colección de semen afectan la calidad espermática de porcinos y cuyo objetivo fue:

Evaluar el efecto de la temperatura ambiental y la frecuencia de colección de semen sobre la calidad espermática de cerdos. El presente estudio se realizó en el distrito de Requena departamento de Lambayeque, lugar donde en época de verano la temperatura es mayor a 29°C (SENAMHI 2008) y en esta zona las granjas porcinas realizan inseminación artificial y la frecuencia de colección seminal es de tres veces por semana y se conoce que la mayor frecuencia de colección de semen afecta su calidad (Hurtger, 1986; Mazzarri et al., 1969; Córdova et al., 2007); en consecuencia el efecto será de mayor magnitud por la suma del efecto de ambos factores, que podrían ser los responsables de la baja tasa de fertilidad en las explotaciones que practican la inseminación artificial. En el presente estudio la calidad espermática se evaluó mediante el análisis clásico estudiándose las características físicas del eyaculado y las características espermáticas como motilidad, concentración, vitalidad, integridad acrosomal y morfoanomalías y test de resistencia osmótica. Los resultados fueron analizados mediante pruebas no paramétricas de U-Mann – Whitney, Janckhere – Terpstra y Kruskal-Wallis. Esta técnica nos permitió obtener los resultados donde la temperatura entre 29°C a 30° y la colección seminal de tres veces por semana afectó la motilidad, integridad del acrosoma, test de resistencia osmótica, la morfoanomalía espermática con presencia de cola en látigo y la concentración espermática.

## CAPÍTULO II

### REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

#### 2.1. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

##### 2.1.1. Mecanismo neuroendocrino en el control de la fisiología reproductiva

La función reproductiva del verraco está regulada por el hipotálamo, hipófisis, glándula pineal y testículos (Hughes y Varley, 1984; Anderson y Hafez, 1993). El hipotálamo segrega GnRh, que estimula la secreción de FSH y LH por la adenohipófisis. La LH actúa sobre las células de Leyding, estimulando la secreción de testosterona y la FSH actúa en el proceso de espermatogénesis. Las células de Sertoli también permite la conversión de testosterona en estrógenos y la secreción de proteínas fijadoras de andrógenos (Hughes y Varley, 1984; Dadoune et al., 1993, Setchell et al., 1994). Las hormonas esteroideas son sintetizados a partir del colesterol y la biosíntesis es regulada por tres sistemas, AMPc, calcio y el inositoltrifosfato. La síntesis de estas hormonas dependen de receptores y membrana para FSH, que permite la síntesis de estrógenos y los receptores del LH facilita la síntesis de testosterona. Las hormonas FSH y LH se unen a receptores celulares que activan el adenilatociclasa mediante la proteína “G” estimulante; el receptor activado actúa sobre el canal del calcio o indirectamente sobre el sistema fosfotidilinositol elevando el calcio intracelular; el AMPc activa a la proteinquinasa A, que hidroliza al colesterol que pasa a las mitocondrias; estas rupturas de las cadenas laterales del colesterol también son inducidos por los niveles de calcio alto intracelular y la fosforilación de las enzimas. El mecanismo de la síntesis de hormonas esteroideas se inicia por rompimiento de la cadena lateral para dar origen a la pregnolona y por acción de las enzimas deshidrogenasas e isomerasas se transforman en progesterona y por

acción de la enzima  $17\beta$  hidroxilasa y  $17$  deshidrogenasas citoplasmática la progesterona se transforma en testosterona (Devlin, 2004).

La testosterona a nivel del cerebro es metabolizada y la enzima aromatasa la transforma en  $17\beta$  estradiol y la reductasa en dehidrotestosterona. También se forma  $17\beta$  estradiol a partir de la pregnolona por acción de la enzima  $17\beta$  hidrolasa que origina la deshidroespiandrosterona (DEA) y que por acción del sistema enzimático de la aromatasa y  $17\beta$  reductasa la transforma en  $17\beta$  estradiol. (Devlin, 2004).

La asociación de proteínas fijadoras de andrógeno y testosterona estimula la meiosis del espermatozoido primario y en consecuencia incrementa la actividad espermatogénica del testículo (Hughes y Varley, 1984; Dadoune et al., 1993).

Para el funcionamiento del testículo relacionado con la espermatogénesis se requiere de estimulación hormonal por gonadotropinas hipofisarias las cuales son controlados por secreciones pulsátiles de GnRH: Para la espermatogénesis se necesita testosterona y folículo estimulante hormona. Las células de Leyding son estimulados por pulsos de LH hipofisaria para secretar andrógenos. Los andrógenos producidos se difunden en la célula de Sertoli adyacentes y se secretan en la sangre donde ejercen retroalimentación negativa en el hipotálamo como en la adenohipófisis. La testosterona también es secretada en el túbulo seminífero donde es necesario para el mantenimiento de la espermatogénesis. La FSH interactúa con receptores en las células de Sertoli para producir proteína de unión de andrógeno (ABP), la conversión de testosterona a dihidrotestosterona y estrógeno, la estimulación de la espermatogénesis y la secreción de inhibina. La inhibina secretada en el torrente sanguíneo tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre FSH (Hafez, 1993).

### **2.1.2. Espermatogénesis y la maduración en el epidídimo**

La espermatogénesis en la especie porcina dura treinta días y se divide en tres etapas: Espermatocitogénesis, Meiosis y Espermiogénesis (Esponda, 1985; De Kretser y Kerr, 1994; Hetch, 2000). En la espermatocitogénesis durante el desarrollo embrionario, las células germinales primordiales emigran desde la región del saco vitelino del embrión hacia los formados no diferenciados. Las células primordiales forman los gonocitos antes de la pubertad y estos gonocitos forman los espermatogonias tipo AO, y a partir de estas espermatogonias tipo A1, dividiéndose en espermatogonias tipo A2, A3 y A4. La espermatogonia A4 se divide un vez más para formar espermatogonias intermedios (tipo In) para luego formar los espermatogonias B. La espermatogonia B se dividen probablemente dos veces para formar los espermatocitos primarios de carga diploide y experimentar cambios nucleares progresivos de la profase meiótica conocidos como proleptoteno, leptoteno, cigoteno, paquiteno diploteno, antes de dividirse para formar espermatocitos secundarios.

Los espermatocitos secundarios resultantes se dividen una vez más para formar las células haploides conocidas como espermátides (Hafez, 1993; De Rooij et al., 2000). Estos procesos corresponden a las fases de meiosis I y meiosis II lo que origina el espermatocito primario y secundario (Pinart et al., 1999).

La espermiogénesis tiene cuatro fases, la fase de Golgi, fase de capuchón, fase acrosómica y la fase de maduración (De Kretser y Kerr, 1994; Robaire 1999) y durante la formación de los espermatozoides se originan cambios morfofuncionales complejos a lo largo de todas las fases de la espermiogénesis observándose cambios tales como desenvolvimiento del acrosoma y del flagelo,

elongación del núcleo y condensación de la cromatina y reorganización del citoplasma y organelos celulares (Pinart et al., 1999).

La fase de Golgi se caracteriza por la formación de gránulos pro acrosómicos dentro del aparato de Golgi y la unión de estos gránulos en uno solo que dan lugar a la envoltura nuclear y las etapas tempranas de la formación de la cola.

El centriolo proximal opuesto al gránulo acrosómico puede ser el punto de unión entre la cola con la cabeza.

La fase de encasquetamiento se caracteriza por la adhesión y dispersión del gránulo acrosómico en la superficie del núcleo de la espermátida. La parte anterior del núcleo se cubre por un saco delgado de doble membrana; en la cola a partir del centriolo central, se alargan más allá de la periferia del citoplasma celular, formando el axonema y que a su vez está formado por dos túbulos centrales rodeados periféricamente por nueve pares de túbulos.

En la fase acrosómica existen cambios en el núcleo como condensación de la cromatina y modificaciones del núcleo de esferoides alargados y aplanados donde el acrosoma se encuentra íntimamente adherido al núcleo.

Los cambios morfológicos del núcleo originan desplazamiento del citoplasma hacia la parte central del núcleo donde rodea la parte proximal de la cola en desarrollo. Dentro de este citoplasma, los microtúbulos se unen y forman una vaina cilíndrica (Pinart et al., 1999).

### **Mecanismo de la motilidad espermática**

Los espermatozoides requieren constantemente ATP para mantener la estructura celular, la composición de iones intracelulares y la motilidad. Para la motilidad de los espermatozoides se utiliza ATP proveniente de la fermentación de la

glucosa o fructuosa extracelular a lactato, y si hay oxígeno disponible, la oxidación de lactato a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O (Jones y Bubb 2000; Kamp et al., 2003). Existen ciertas sustancias en el eyaculado de los verracos que inhiben la vía glucolítica como es el 5 $\alpha$ -clorhidrina produciendo la acumulación de fructuosa 1,6 bifosfato y dihidroxiacetona fosfato, lo cual disminuye la capacidad de los espermatozoides afectados de generar ATP, a partir de azúcares glucolisables (Jones y Montagne, 1991).

La producción de ATP en la fase aeróbica a partir del lactato se lleva a cabo en la pieza intermedia del flagelo del espermatozoide, el único lugar donde se encuentran las mitocondrias (Kamp et al., 2003).

Existen otros sustratos energéticos endógenos como el glicerol 3 fosfato, así como otros diglicéridos, triglicéridos y también fosfolípidos de la membrana que por degradación produce glicerol 3-fosfato, el cual es rápidamente metabolizado (Jones y Bubb, 2000).

Existen diversos monosacáridos que pueden ser utilizados para la obtención de energía en forma de ATP, necesario para las diversas funciones celulares (Storey 1975), especialmente la motilidad. Los espermatozoides maduros de cerdo pueden utilizar diversos sustratos glucosilables (fructuosa, glucosa, etc.), lactato y en limitados casos, de ácidos grasos de cadena corta como el acetato y el propionato (Jones y Bubb, 2000). Los iones son reguladores del metabolismo y de la actuación de la motilidad los espermatozoides de diferentes especies. La inhibición de la motilidad de los espermatozoides de varias especies entre ellos el cerdo, en el epidídimo caudal es atribuible a un pH intracelular ácido debido a la presencia de lactato (Gatti et al., 1993).

La formación de ATP en los espermatozoides es utilizado como fuente de energía que será utilizada para contraer y propulsar al espermatozoide, encontrándose una correlación positiva entre la cantidad de ATP en la célula espermática y el movimiento que esta realiza (Aalbers et al., 1985).

### **2.1.3. Los espermatozoides**

Los espermatozoides maduros de los cerdos domésticos son gametos de 45um de longitud y se distinguen tres partes: la cabeza, el cuello o porción de conexión y la cola (Bonet y Britz 1991). La cola está formada por tres partes: Intermedia o mitocondrial, la principal y la terminal. Las dos caras no son iguales, mientras que una es plana y la otra presenta una protuberancia apical en forma de semi luna de unos 04 um, de amplitud (Garner y Hafez, 1996; Bonet y Britz1991). El cuello de 0.7 um de longitud por 0.5 um de grosor es de forma cónica y de base más amplia 1.3 um, se une a la cabeza y la más estrecha (0.6 um), se une a la parte intermedia y en la zona más próxima a la cabeza se puede observar una protuberancia anular de 0.15 um de diámetro (Bonet y Britz1991).

La cola es de forma filamentosa y cilíndrica. La zona intermedia tiene una longitud de 9 um y un diámetro de 0.7 um. La zona principal tiene una longitud de 26.2 um y un diámetro de 0.4 um y finalmente la zona terminal tiene una longitud de 0.2 um (Bonet y Britz, 1991).

La membrana del espermatozoide esta subdividida en regiones denominadas dominios, los cuales presentan diferentes composiciones y función a lo largo de la vida de esta célula. El mayor dominio en la membrana plasmática del espermatozoide de los mamíferos, es la región acrosomal (región apical de la cabeza) y la segundo, la región post acrosomal (región caudal de la cabeza).

En la cabeza del espermatozoide, la membrana plasmática está subdividida en tres porciones: segmento apical, ó dominio periférico del acrosoma; segmento principal, de mayor porción del acrosoma y segmento ecuatorial ó dominio posterior. También es identificado una región o dominio entre el segmento ecuatorial del acrosoma y el cuello del espermatozoide. La base posterior, en la unión entre la cabeza y el cuello, es un estrecho paso para el compartimento citoplasmático entre la cabeza y la cola del espermatozoide. Por último, la membrana plasmática del flagelo está subdividida en tres regiones: tercio medio o región que contiene la vaina mitocondrial, parte principal, que es una vaina fibrosa y la pieza terminal (Eddy y O'Brien, 1994).

El sulfato de colesterol, ha sido identificado como un componente membrana del espermatozoide, y se ha calculado que en el espermatozoide humano, quizá está presente en un 20% del acrosoma (Brucker y Lipford, 1995).

La capacitación espermática ocurre fisiológicamente en el tracto reproductivo de la hembra y es la modificación post-eyaculatoria de la superficie espermática. Algunas de éstas modificaciones son el reacomodo gradual de glicoproteínas periféricas y una modificación en la distribución de fosfolípidos que la integran, tras un proceso previo denominado maduración epididimal que ocurre en el tracto reproductivo del macho y en el cual la membrana espermática tuvo modificaciones físicas, como el reacomodo de proteínas intramembranales, y químicas, como la síntesis de colesterol de nuevo, proporcionándole una estabilidad a la membrana que le permite su conducción durante el trayecto hasta el sitio de fertilización. Durante la capacitación, la fluidez de la membrana, se incrementa en la región acrosomal a diferencia de la región ecuatorial y prost-acrosomal que permanecen más estables (Yanagimachi, 1994).

Se sabe que muchos estabilizadores de los sulfatos de membranas son removidos durante la capacitación espermática, la cual requiere un aumento en los niveles de  $Ca_{2+}$  intracelular que al interactuar con el sulfato de colesterol, origina una inestabilidad de la membrana iniciando así la reacción acrosomal (Brucker y Lipford, 1995).

La reacción acrosomal es un proceso fisiológico del espermatozoide que ocurre durante el proceso de fertilización, al hacer contacto con la zona pelúcida del ovocito, y no en otro sitio del tracto reproductor del macho o la hembra en donde no tiene ninguna función, y cuando esto sucede se denomina reacción acrosomal espontánea y es considerada como un proceso normal el cual depende de dos tipos de factores: intrínseco (genética de los verracos, tiempo de conservación de los espermatozoides en el epidídimo, nutrición, etc.) y extrínsecos (alojamiento de los verracos, composición del diluyente para conservar los espermatozoides, temperatura de conservación, etc.) (Yanagimachi, 1994).

El proceso de reacción acrosomal consiste en la formación de poros que se producen al fusionarse la membrana plasmática y la membrana acrosomal externa del espermatozoide, liberando las enzimas del acrosoma que facilitan la penetración de la zona pelúcida del ovocito. Posteriormente, la fusión de las membranas plasmática y acrosomal externa, origina la formación de pseudo vesículas por un proceso similar al de otros sistemas celulares (Yanagimachi, 1994).

Las alteraciones específicas en la cabeza del espermatozoide y en particular del acrosoma, pueden interferir en los procesos de capacitación y reacción acrosomal (Rillo et al., 1996), siendo la reacción acrosomal utilizada por varios

investigadores (Jaiswal et al., 1998; Estaves et al., 1998) como indicador para evaluar el proceso de capacitación espermática.

Los espermatozoides

#### **2.1.4. Los espermatozoides**

En los porcinos los primeros eyaculados se presentan entre 5 y 6 meses de edad coincidiendo con el inicio de la pubertad. En algunos casos la pubertad tarda a los 8 y 9 meses de edad. De los 8 a 12 meses son considerados post puberales y a partir de esta edad se consideran completamente maduros o adultos (Martin, 1982; Hughes y Varley, 1984).

El volumen de semen eyaculado en la especie porcina varía entre 200-250 ml (Martin, 1982) y 150 -300 ml (Garner y Hafez, 1996) y entre 200-300 ml (Pinart et al., 1999) y entre 50 a 400 ml (Frunza, 2008) con un promedio de 250 ml. este parámetro está sometido a variaciones individuales y ambientales (Setchell et al., 1994). Entre estas variaciones tenemos el tamaño de las glándulas seminales y bulbouretrales y el grado de estimulación sexual alcanzado antes de la colección seminal (Cooper, 1980), otros factores también son importantes como la edad, raza, frecuencia de colección seminal, estado nutricional, momento de la colección seminal, estado de salud y los agentes estresantes (Fuentes et al., 1992).

El eyaculado del cerdo se distingue tres fases resultantes de las secreciones procedentes de las diferentes glándulas sexuales accesorias; así mismo como la actividad testicular y del epidídimo (Pond et al., 1981; Martín, 1982; Buxadé, 2013; Garner y Hafez, 1996).

**Fracción pre espermática**, formada por las secreciones prostáticas, vesículas seminales, glándulas de Cowper o bulbo uretrales. El volumen es aproximadamente 10 ml no contiene espermatozoide, sino que presenta grumos de textura gelatinosa pero que provienen de las glándulas de Cowper.

**Fracción espermática** (rica en espermatozoides), tiene un volumen de 70 ml con un color blanquecino y aspecto lechoso, presenta una elevada concentración de espermatozoide procedentes de la actividad testicular ( $0.5 \times 10^9$ - $1 \times 10^9$  espermatozoides/ml) contiene además secreciones seminales y de la próstata.

**Fracción post espermática** (pobre en espermatozoides), constituida por las secreciones de la próstata y las glándulas de Cowper. El volumen es aproximadamente de 150 ml, color blanquecino grisáceo y contiene pocos espermatozoides/ml; pero abundante grumos gelatinosos procedentes de las secreciones de la próstata y las glándulas de Cowper.

Los porcentajes que intervienen en las diversas glándulas genitales en el semen del verraco son los siguientes: el testículo y epidídimo de-5%, las vesículas seminales de 10-25 %, las glándulas de Cowper de 15-30%, la próstata de 50-70 % (Martín, 1982; Buxadé, 2013; Setchell et al., 1994; Luke y Coffey, 1994; Garner y Hafez, 1996).

**Cuadro 1: Composición química del plasma seminal**

<b>Componentes</b>	<b>Valores Extremos</b>
pH	7.3 -7.8
Agua (ml)	94 – 98
Sodio (mg/100 ml)	290 – 850
Potasio (mg/100 ml)	80 – 380
Calcio (mg/100 ml)	2 – 6
Magnesio (mg/100 ml)	5 – 14
Cloro (mg/100 ml)	260 – 430
Zinc (mg/100ml)	8 – 78
Fructuosa (mg/100 ml)	3 – 50
Fósforo total (mg/100 ml)	56 – 76
Nitrógeno total (mg/100ml)	335 – 765
Acido láctico (mg/100 ml)	25 - 35
Acido cítrico (mg/100 ml)	30 – 330
Inositol (mg/100 ml)	380 – 630
Glicerofosforil colina (mg/100 ml)	110 – 240
Ergotromeína (mg/100ml)	6 – 23

**Fuente:(Hughes y Varley, 1984).**

### **2.1.5. Métodos de colección espermática**

La colección del semen en el verraco por masturbación manual requiere de un guante estéril; este método simula las condiciones de monta natural; durante el eyaculado el semen es colectado en termos estériles precalentado a 37° C, a fin de evitar el shock térmico. En el termo es imprescindible colocar una gasa estéril para eliminar la porción gelatinosa y coleccionar la fracción rica en espermatozoides (Martín, 1982).

La colección seminal se realizó por masturbación manual mediante el método de mano enguantada descrita y usada por varios autores (King y Mc Pheferson,

1973 y Buxadé 2013). El método consiste en presionar en forma manual el glándulo del pene del cerdo, seguido de varios movimientos de la pelvis en dirección anterior y luego el cerdo eyaculó en forma eficaz (Hafez, 1993).

#### **2.1.6. Espermograma clásico**

Es un análisis que consiste en evaluar la concentración espermática, motilidad, vitalidad, morfoanomalías, integridad acrosomal, test de resistencia osmótica, pH, densidad y volumen del eyaculado para poder determinar su calidad (Chan et al., 1985).

##### **2.1.6.1. Volumen, pH y concentración espermática**

La baja fertilidad de los verracos está asociada con un bajo volumen y concentración espermática y posiblemente a defectos en la espermatogénesis o a una sobreutilización del macho (Larsson, 1986; Martínez et al; 1992).

Debe tenerse en cuenta que la frecuencia de colección seminal tiene un efecto significativo, tanto en la concentración como en el volumen del eyaculado; así como en otros parámetros de calidad seminal (Kolembrander y Kemp, 1990).

Se considera que el volumen seminal completo eyaculado por un verraco es de 218.8 ml. (Graham et al., 1967); otros autores sostienen que el eyaculado es de 348.5 ml (Hammith y Martín, 1989).

El estudio de la concentración espermática es importante para efectuar exámenes andrológicos y aplicarlo en el campo de la Inseminación Artificial, para lo cual existe una serie de técnicas como el método fluorométrico, espectrofotómetros y las cámaras hemocitométricas.

El método hemocitométrico es el más utilizado por su bajo costo y alta precisión, debido a que se conoce el volumen de la cámara y la cantidad de

espermatozoides se mide directamente. Siendo el método más preciso presenta variaciones ( $\pm 10\%$ ) entre replicas (Pace, 1980). Estas variaciones se deben a imprecisiones en la dilución y la distribución homogénea de los espermatozoides en la cámara.

El método espectrofotométrico es un derivado del anterior, que correlaciona la concentración de espermatozoides y el grado de refracción de luz para realizar una curva de calibración para cada verraco y de la concentración espermática del tamaño de los espermatozoides de su forma y de su índice de refracción, factores que presentan variaciones individuales. Se describen ciertas limitaciones (Zaizcidoncha et al., 1994) como la opacidad variable del plasma seminal porcino y la cantidad de proteínas hidroprecipitables que alteran las mediciones.

Mediante el método de medición técnica por técnicas fluométricas del número de células espermáticas por la cantidad de ADN que es medido con gran precisión por un fluorocromo (H 33258) (Wolders, 1991; Evenson et al., 1993).

El contenedor de partículas y las técnicas de análisis automatizadas de imagen permiten medir espermatozoides por volumen. Este método es económicamente caro y necesita calibrar el instrumental con precisión para poder tener un recuento adecuado.

Un eyaculado completo tiene una concentración media de 300'000,000 de espermatozoides por milímetro cúbico con un promedio de 60 a 80 x 10<sup>9</sup> espermatozoides totales. Estos valores son importantes cuando se usa la inseminación artificial permitiendo determinar el número de dosis; cada dosis debe contener de 3 a 5 x 10<sup>9</sup> espermatozoides en un volumen de 100 ml de dilución para garantizar un alto porcentaje de concepción. Las concentraciones

promedios de  $68.88 \times 10^9$ , con rango de  $26.13$  a  $116.3 \times 10^9$ , superiores a los observados en otras latitudes (Fuentes et al., 1992). En el trópico, los verracos presentan un potencial reproductivo mayor, obteniéndose más dosis seminales por eyaculado.

La variación estacional del volumen seminal promedio anual (129.6 ml) de cuatro razas de cerdos, Landrace, Yorkshire, Duroc y Hampshire disminuyó en los meses de verano a una temperatura mayor de  $29^{\circ}\text{C}$  (Hernández, 1998).

Igualmente la concentración espermática disminuyó en la estación de verano cuyo promedio anual fue de  $49.3 \times 10^7$  células espermáticas por ml.

La concentración espermática en el eyaculado del verraco se caracteriza por tener baja concentración espermática por ml. La cantidad de espermatozoide no están relacionado directamente con la fertilidad sino con la tasa de dilución seminal y el número de dosis procesales de un eyaculado (Tardif, 1999). La concentración espermática es una característica muy variable entre individuos (Singleton y Shelby, 1972) y está relacionado con la edad del verraco (Rodríguez y Wallgren, 2000), el ambiente social y la estación (Trudeau y Sanford 1986), la concentración de espermatozoides fue superior a la reportada por otros investigadores, para varias razas en diferentes ambientes Wollman et al., 2002; Strezezek, 2000; Trudeau y Sandorf 1986), cualidades que se consideran producto de la adaptación al estrés calórico y a la selección, la adecuada nutrición y manejo sanitario de los cerdos en la granja comercial evaluada. Los valores normales del volumen y concentración de espermatozoides reportados por varios autores se muestran en el cuadro 7.

**Cuadro 2: Valores normales de volumen y concentración descritos en la especie porcina**

<b>Eyaculado</b>	<b>Volumen (ml)</b>	<b>Concentración (10<sup>6</sup>espez/ml)</b>	<b>Fuente</b>
Completo	218.8	540'37	(Graham et al., 1967)
Completo	250 (150-500)	100 (25-300)	(Mann y Letwak-Mann, 1981)
Completo	348.5	476'25	(Hammith y Martín, 1989)
Completo	223.42	224'74	(Gatti et al., 1993)
Completo	180	400-600	(Xu et al., 1996)
Fracción Rica	87.66	1212'32	(Graham et al., 1967)
Fracción Rica	80.7-87.3	764-770	(Martínez et al. 1992)
Fracción Rica	108.36± 3.61	740± 21.92	(Zaizcidoncha et al., 1994)

En general un eyaculado completo posee una concentración media de 300,000 espermatozoides por milímetro cubico, con un promedio de 60 a 80 x 10<sup>9</sup> espermatozoide por volumen eyaculado.

Estos valores son importantes cuando se realiza la inseminación artificial permitiendo determinar el número de dosis; cada dosis debe contener 3 a 5 x 10<sup>9</sup> espermatozoides para garantizar un alto porcentaje de concepción.

Los valores de pH en el eyaculado de los cerdos oscila entre 6,5 a 7,5 (Weitze, 2000), otros sectores sostienen que los valores están entre 7,2 y 7,5 (Köning, 1979) igualmente Singleton y Shelby (1972) obtuvieron los mismos valores; Strezezek, (2000) encontró valores inferiores a los reportados por dichos autores.

El pH en el eyaculado está determinado por los secreciones de las glándulas sexuales accesorias (King y McPherson, 2005).

El pH es un indicador de la actividad metabólica de los espermatozoides. Conforme maduran los espermatozoides en el eyaculado aumentan la producción de ácido

láctico y desciende el pH. El semen del verraco tiene un pH variable; en la fracción rica en espermatozoides, este varía de 6.8 a 7 y la fase del eyaculado pobre en espermatozoides su pH es de 7 a 7.8. El pH ligeramente ácido debe interpretarse como eyaculado de buena calidad, encontrándose en las mejores condiciones para su conservación (Garfen et al., 1993; Rodríguez y Regau, 1995).

#### **2.1.6.2. Motilidad**

Existen ciertas sustancias que permite que el espermatozoide regule su motilidad como el AMPc y otros componentes que se observan en la tabla 8 y reportada por (Lindemann y Kanous, 1989; Hafez 1993). En la tabla 9, se describe los valores normales de motilidad, descrita por varios autores. La motilidad es variable y el rango es de 60 a 85%, el semen de verraco debe tener como mínimo 70% de motilidad (Wolders, 1991; Rodríguez y Riau1995).

En temperaturas mayores de 29°C (verano), se obtuvo motilidad espermática menores de 68.1 % (Hernández, 1998).

**Cuadro 3: Características y componentes químicos del semen del verraco**

<b>Características del componente</b>	<b>Valores Extremos</b>
volumen eyaculado (ml)	150 – 200
Concentración de espermatozoides (millones/ml)	200 – 300
Espermatozoides/eyaculado(miles de millones)	30 – 60
Espermatozoides móviles (%)	50 – 80
Espermatozoides morfológicamente normales (%)	70 – 90
Proteína (g/100ml)	3 – 7
Ph	7.3 – 7.8
Fructuosa (mg/100ml)	9
Sorbitol (mg/100ml)	6 – 18
Ácido cítrico (mg/100 ml)	173
Inositol (mg/100)	380 – 630
Gliceril fosforil colina (GPC) (mg/100ml)	110 – 240
Ergiotioncina (mg/100 ml)	17
Sodio (mg/100 ml)	587
Potasio (mg/100 ml)	197
Calcio	6
Magnesio (mg /100 ml)	5 – 14
Cloruro (mg/100ml)	240 – 430

**Fuente: (Hughes y Varley, 1984).**

**Cuadro 4: Valores normales de motilidad descrita en las especies porcinas**

<b>Motilidad (%)</b>	<b>Fuente</b>
87 – 91	(Pursel et al., 1984)
74 ±4.9	(Strzezek y Skaweta, 1984)
81.4 - 82.5	(Martínez et al., 1992)
78.5	(Galli et al., 1991)
70 – 90	(Martínez et al., 1992)
83.68 ± 0.91	(Ivanova y Mollova, 1993)
80	(Graham et al., 1967)
76.06 ±0.95	(Zaizcidonchaet al., 1994)
73 – 92.6	(Waberski et al.,1994)
85	(Xu et al., 1996)

### **2.1.6.3. Morfología espermática**

La frecuencia de colección seminal es uno de los factores principales que influyen en la presencia de gota citoplasmática (De Vries y Kolembrander, 1990).

La presencia de gotas citoplasmáticas en la célula espermática son indicadores de madurez espermática.

Kaplan et al., (1984), sostiene que las gotas citoplasmáticas es de 90% en la cabeza del epidídimo y luego disminuye en el tránsito del epidídimo (70% en la cola) y en el eyaculado menor de 15%.

Cuando se presentan colas en látigo y en ovillo debido a ciertas alteraciones en el tránsito por el epidídimo que imposibilita el movimiento del espermatozoide

(Holt, 1982), mientras que las colas y cabezas sueltas como resultado de la técnica (Bonet y Britz 1991). Las alteraciones de la cabeza tales como microcefalia, macrocefalia, cabezas dobles o colas dobles tienen su origen en la espermatogénesis.

Estas alteraciones son de menor importancia porque su espermiogramas de verracos normales se ha verificado dichas alteraciones, observándose una buena motilidad y poseer un acrosoma normal (Trudeau y Sanford, 1986).

Los espermatozoides con morfoanomalías están en desventaja frente a los espermatozoides normales en la capacidad fecundante, debido a que tienen dificultad para transportarse en el tracto reproductivo de la hembra y mayor probabilidad de muerte embrionaria precoz, procedentes de ovocitos fecundados por un espermatozoide anormal (Howard et al., 1991).

En la especie porcina se ha encontrado una relación inversa entre el aumento del número de formas anormales y la fertilidad (Larsson, 1986; Gatti et al., 1993; Martínez et al., 1992; Waberski et al., 1994).

En temperatura de verano entre 37 a 39°C, en promedio se obtuvo espermatozoides anormales superiores al 17.8% (Hernández, 1998).

**Cuadro 5: Valores espermáticos descritos en la especie porcina para morfoanomalías espermáticas**

GCP Citoplasmática Proximal	Alteraciones Cola (%)	Alteraciones Cabeza (%)	Total ( % )	Fuente
1-5	1-5	2-5		(Larsson, 1986)
2.2 - 9.4	4.7- 10.5	1.5-1.7		(Martínez et al., 1992)
0.95 ± 1.28	6-46±1.62		21.7±2.43	(Gatti et al., 1993)
7.7	11.16		16.79	(Galli et al., 1991)
			5-10	(Martínez et al., 1992)
10.48 ±0.96		23.99 ± 1.83		(Zaizcidoncha et al., 1994)
			8	(Xu et al., 1996)

#### 2.1.6.4. Acrosoma y vitalidad del espermatozoide

Las malformaciones de los acrosomas son debido a procesos fisiológicos (Yanagimachi, 1994), como defectos de engrosamiento acéntrico debido a la incapacidad de diferenciación del pro acrosoma y luego a la incapacidad de colocarse en la superficie del núcleo. Esta alteración está ligada a un gen autosómico recesivo.

Los factores ambientales como temperaturas de 30-35°C, humedad y falta de ventilación alteran la fisiología del animal y como consecuencia la calidad espermática se ve afectada incrementando las anomalías en los acrosomas (Buxadé, 2013). También se producen alteraciones de acrosomas debido a

procesos de congelación y descongelación en los cambios de presión osmótica por diluciones y centrifugaciones repetidas (Mann y Letwakmann, 1981).

En el Cuadro 6, se describen los valores de acrosomas normales en la especie porcina.

**Cuadro 6: Valores de acrosomas normales descritos en la especie porcina**

<b>Acrosomas normales (%)</b>	<b>Fuente</b>
86 – 91	(Pursel et al., 1984)
90.1±8.3	(Strzezek y Slaweta,1984)
87.7±1.14	(Gatti et al., 1993)
87.1 - 91.2	(Bamba , 1988)
95 – 98	(Martínez et al., 1992) ( a )
85 – 94	(Martínez et al., 1992) ( b )
94.24 ± 0.37	(Ivanova y Mollova ,1993)
96.2	(Graham et al., 1967)

El porcentaje de vitalidad en otras latitudes fue mayor (Park y Yi, 2002), así como en zonas tropicales (Fuentes et al., 1992).

La vitalidad espermática es una medida importante para estimar la calidad espermática y esta característica está relacionada con la motilidad individual (Hafez, 1993 y Sorensen, 1982).

#### **2.1.6.5. Metabolismo de los espermatozoides**

Los movimientos de los espermatozoides demandan gran cantidad de energía, siendo el ATP la principal fuente primaria de energía (Salisbury et al., 1978). El

ATP se produce en las mitocondrias de la porción intermedia del espermatozoide y es transportada por los microtúbulos del flagelo. El regulador del metabolismo energético del espermatozoide y del movimiento es el AMPc. Los espermatozoides carecen de organelos que están relacionados con el metabolismo, pero contienen enzimas para llevar a cabo la glucólisis, el ciclo del ácido tricarboxílicos, oxidación de ácidos grasos, transporte electrónico. En la glucólisis anaeróbica los espermatozoides hidrolizan glucosa, fructuosa o manosa a ácido láctico; siendo la fructuosa la principal fuente de energía en el plasma seminal. En la fase aeróbica el lactato o piruvato proveniente de la fase anaeróbica se transforma en CO<sub>2</sub>, agua y ATP, vía metabólica más eficiente en la producción de energía que se lleva a cabo en las mitocondrias (Hafez, 1993). La energía obtenida es utilizada por la dineína para contraerse y en definitiva propulsar el espermatozoide, esperándose que el contenido de ATP este correlacionado con la motilidad espermática.

Esta hipótesis ha sido confirmada en la especie porcina (Alberts et al., 1985) y en el ganado vacuno (Söderquist y Larsson, 1985; Söderquist y Stålhammar, 1991).

#### **2.1.6.6. Enzimas en el metabolismo espermático**

El aspartato aminotransferasa (AST) es una enzima cuya función es transferir grupos amino del aspartato a moléculas de oxaloacetato para formar glutamato. Esta enzima se encuentra en la mitocondria (ASTm) y citoplasmática (ASTc) (Ciereszko et al. 1994). La actividad de esta enzima se localiza en los espermatozoides, en el líquido epidídimo y en las secreciones prostáticas. La síntesis de esta enzima está controlada por los andrógenos y la enzima (AST)

está relacionada con cofactores inorgánicos como los iones zinc y magnesio. En semen fresco de verraco la actividad elevada de AST es un indicador de una mejor calidad seminal. La actividad AST extracelular es cinco veces superior en muestras con espermatozoides móviles, contrariamente a los que contienen espermatozoides inmóviles, significando que la AST está relacionada con la supervivencia espermática (Cierezko et al., 1994; Zaizcidoncha et al., 1994).

En el plasma seminal del verraco se encuentra una actividad elevada de la fosfatasa alcalina que supera la actividad de la fosfatasa ácida (Graham et al., 1967).

La acrosina deriva de una proenzima proacrosina, que contiene características similares a la tripsina y se encuentra en la pared acrosomal interna del acrosoma; teniendo una actividad importante sobre la penetración del espermatozoide sobre la zona pelúcida del ovocito (Zaneveld, 1976). En la especie porcina el contenido de acrosina y la fertilidad están correlacionados (Hammit y Martín, 1989). La cuantificación de la acrosina requiere una diálisis previa para la eliminación de inhibidores del paso de la proacrosina a acrosina y en semen congelado de verraco se demuestra que la liberación de acrosina y AST de la célula espermática durante el proceso de congelación son paralelas y están altamente correlacionados.

#### **2.1.6.7. Constituyentes del plasma seminal.**

La funcionalidad del espermatozoide depende del medio extracelular y entre dichos constituyentes del medio que se encuentran cabe destacar el balance iónico (Crabo et al., 1976).

- a) **Sodio y potasio.** Estos elementos tienen una gran importancia en el proceso de regulación de la motilidad espermática (Galli et al., 1991).
- b) **Calcio.** El calcio juega un papel muy importante en el proceso de fecundación (Yanagimachi, 1994). Interviene fundamentalmente en el proceso de capacitación y reacción acrosómica en la hiperactivación de la motilidad (Fraser, 1995).
- c) **Magnesio.** Participa como activador de la acrosina e incrementa la actividad de la fosfatasa alcalina (Parrish y Polakoski, 1981).
- d) **Zinc.** Tiene una actividad en la estabilización de la cromatina en las propiedades mecánicas de las fibras accesorias y en la motilidad de espermatozoide, así como en la regulación de la actividad de ciertas enzimas como la fosfatasa ácida y alcalina (Iyer et al. 1988).

#### **2.1.6.8. Test de endosmosis o hiposmótica (host).**

El test de endosmosis consiste en someter al espermatozoide a un medio de presión osmótica más baja que la fisiológica, lo que causa una entrada de agua en la célula en un intento de equilibrar la presión osmótica interna con la del medio externo dando lugar a un aumento de volumen celular (De Vries y Ericsson, 1966).

La entrada de agua provoca en esta célula un hinchamiento y enrollamiento del flagelo. Esta prueba estima la integridad de la membrana espermática, células espermáticas con la membrana física o funcionalmente dañada no experimentan cambios en la forma del flagelo; en cerdos, si la presión osmótica es demasiado baja, la membrana plasmática se rompe y el flagelo aparece de nuevo recto, se confundiría con un espermatozoide que aún no ha reaccionado; sin embargo cuando aumenta el volumen del espermatozoide se debe a una expansión

esférica de la membrana que cubre la cola originando que el flagelo se enrolle (Chan et al., 1985).

#### **2.1.6.9. Test de resistencia osmótica (ort)**

El test se ha desarrollado basado en el porcentaje de espermatozoides que presentan una alteración estructural evidente en el acrosoma tras su incubación en un medio hiposmótico (Schilling et al., 1984), mediante esta técnica nos permite determinar la calidad espermática, determinándose la alta correlación que existe entre la motilidad y el número de acrosomas normales. La reacción de los espermatozoides ante una solución hipoosmótica es un indicador de la funcionalidad bioquímica de la membrana que se necesita durante la fertilización, la capacitación, la reacción acrosómica y la unión del espermatozoides al óvulo (Correa y Zavos, 1994). La evaluación de la integridad del acrosoma junto con la morfología espermática y la resistencia osmótica constituyen las principales pruebas para evaluar la habilidad fecundante de los espermatozoides (Yeste et al., 2010). La evaluación de test de resistencia osmótica de la células espermáticas cuando son expuestas a un medio hipoosmótico tras una incubación de 30 minutos y luego se evalúa el estado de los acrosomas (Schilling et al., 1984).

#### **2.1.7. Factores que repercuten sobre la calidad espermática de los cerdos**

##### **2.1.7.1. Efectos estacionales**

La temperatura ambiental alta afecta la calidad y la producción espermática, con mucha variabilidad entre individuos y entre eyaculados del mismo individuo, afectando principalmente el volumen seminal, la motilidad y la morfología (Fuentes et al., 1992). El efecto del clima sobre las características seminales de porcinos en una zona de bosque húmedo tropical, cuya temperatura media fue de 28.1 °C y la humedad relativa de 82% se seleccionaron diez reproductores porcinos de la línea comercial Pig entre 12 y 24 meses de edad; así a cada

reproductor se le efectuó la colección seminal por el método manual con intervalos de siete días durante treinta semanas, observándose los resultados de las siguientes características seminales: volumen seminal 290.1 ml; pH 7.6; motilidad individual 94.1%; espermatozoides normales 77.9 %, siendo las anormalidades de la cabeza 2.6%, anormalidades de la pieza media 16.6% y de la pieza principal 2.8%; acrosomas normales 88.1%; test de resistencia osmótica 75.7% y vitalidad 91.9%. Estos resultados no tuvieron efectos significativos sobre las características seminales; sin embargo se ha comprobado que en los países de clima templado existe un efecto marcado de las estaciones sobre las características seminales de porcinos, en los cuales se observa disminución del volumen durante los meses cálidos (Kolembrander y Kemp, 1990), disminución del número total de espermatozoides por eyaculado (Kolembrander y Kemp, 1990; Trudeau y Sandford, 1986), disminución de la motilidad (Trudeau y Sandford, 1986; Peter, 1980; Hurtger, 1986), aumento de la incidencia de malformaciones (Malmgrem, 1997; Trudeau y Sandford, 1986), aumento del pH (Trudeau y Sandford, 1986), aumento de espermatozoides con acrosoma anormal (Wetterman et al., 1976). Además de encontrarse disminución de la fertilidad (Näás et al., 2000; Weitze y Petzoldt, 1992 y Chemineau, 1993). Un efecto negativo de la alta temperatura sobre las características seminales de reproductores porcinos fue encontrado por Fuentes et al., (1992), quien determinó que la temperatura ambiental alta originó un efecto negativo sobre las características seminales de los reproductores porcinos otros autores demostraron lo contrario a estos resultados (De Serrano et al., 1995; Cameron, 1995; Hurtger et al., 1980; Mazzarri et al., 1969). El aumento de la temperatura testicular provoca alteraciones en algunas etapas del ciclo espermático y por eso este efecto se alteran algunos tipos celulares, dentro de los que se incluye a los espermatozoides epididímaros, lo que explica el moderado plazo necesario para

que se inicie la aparición de las primeras anormalidades en el eyaculado después de un estrés térmico (Chemineau, 1993). Los estudios experimentales realizados por (Wettermann et al., 1976), sometiendo a estrés térmico prolongado demostraron un aumento de la temperatura corporal y de la frecuencia respiratoria y un deterioro de las características seminales durante las primeras semanas, a partir de la sexta semana. Las altas temperaturas ambientales tienen un efecto negativo sobre la espermatogénesis, provocando un estado de infertilidad estacional; el estudio se llevó a cabo en la ciudad de Las Breñas Chaco Argentina abarcando dos estaciones (verano y otoño) para lo cual se utilizaran 9 verracos dividido en tres grupos; el grupo 1 en temperatura confort (20-23°C); el grupo 2 en condiciones climáticas imperantes y el grupo 3, igual que el grupo dos pero recibieron duchas diarias. La frecuencia de colección seminal fue de una colección por semana encontrándose que el volumen, motilidad y concentración espermática se mantuvieron constante y las alteraciones morfológicas de los espermatozoides fueron significativas, (González, 2012). En Tailandia, la temperatura alta (Abril a Mayo) originó degeneración testicular en verracos lo que conllevó a la afección de la espermatogénesis y como consecuencia una baja producción espermática (Kunavongkrit, 1990). De acuerdo a Colembrader y Kemp (1990), la producción espermática del verraco es afectada a partir de 29°C originando descenso en la motilidad espermática y un incremento en el número de espermatozoides con anormalidades morfológicas y son observadas cuando los verracos son expuestos a estrés por calor y cuando los verracos son sometidos a 35°C por 100 horas (Colembrader y Kemp 1990).

En el verraco de raza Landrace se observó una pérdida total de la libido durante el verano debido a la temperatura ambiental (Harayoma et al., 1992).

**Cuadro 7: Número y porcentaje promedio del total de anomalías espermáticas de verracos en relación a la raza y la temperatura.**

Temperatura	Razas					Total
	Yorshire	Landrace	Poland	Duroc		
Alta	Nº	2,547	2,102	953	746	6,348
	%	14.98	13.77	19.39	15.09	15.07
Baja	Nº	2,602	2,291	466	532	5,891
	%	16.38	16.93	17.45	17.39	16.76

**Fuente: (De Serrano et al., 1995).**

Temperaturas de 34.4 a 37.7°C, originan anomalías de las diferentes partes del espermatozoide, manifestándose un porcentaje más elevado entre 20 y 45 días, debido a la duración del ciclo espermatogénico (25 a 26 días) y al tiempo de transporte epididímario (10 a 12 días) (Larson, 1986; Malmgren 1997; Slaweta y Strezezek, 1984).

**Cuadro 8: Porcentaje de anomalías del acrosoma en los espermatozoides de verraco.**

Espermatozoides	Razas					Total
	Yorshire	Landrace	Poland	Duroc		
En punta	3.76	1.56	4.84	0.00	2.58	
Hinchado	51.28	59.79	46.17	69.89	56.11	
Desarrollo incompleto	38.29	29.98	41.94	23.66	33.79	
Granular	5.64	4.68	6.45	3.23	5.09	

**Fuente: (De Serrano et al., 1995).**

La membrana acrosómica se puede deteriorar por causas ambientales o genéticas que dañan su integridad y funcionabilidad, encontrando una estructura normal de la membrana acrosómica de (88.8%) de 26,000 espermatozoides evaluados; estos resultados con ligera variación fueron encontrados en forma similar bajo diferentes condiciones ambientales (Wetermann et al., 1976).

En verracos alojados en bosque húmedo tropical, durante 30 semanas se encontró (75.7%) de espermatozoides, reactivos de la prueba de resistencia osmótica (ORT) presentando baja variación interindividual y moderada variación interindividual. No existe evidencia clara del efecto del clima tropical cálido por período prolongado sobre las características seminales de reproductores porcinos.

La temperatura afectó negativamente las características seminales de los porcinos (Fuentes et al., 1992), este factor no alteró dichas características (Mazzarri y Fuentes, 1978; Hurtger, 1986; Cameron, 1995; De Serrano et al., 1995).

**Cuadro 9: Porcentaje de gota citoplasmática en espermatozoide de verraco.**

Anormalidades	Razas				Total
	Yorshire	Landrace	Poland	Duroc	
<b>Gota citoplasmática proximal</b>	37.26	44.61	34.19	41.48	40.38
<b>Gota citoplasmática distal</b>	62.24	55.39	65.81	58.52	59.62

**Fuente: (De Serrano et al., 1995).**

Las anomalías localizadas en cola y gota citoplasmática, se presentaron con mayor frecuencia en la estación de verano, demostrando una acción nociva de la temperatura y humedad sobre este tipo de anomalías (De Serrano et al., 1995).

**Cuadro 10: Porcentaje de anomalías en la cola de espermatozoides de verracos.**

<b>Anormalidades</b>	<b>Razas</b>				
	<b>Yorshire</b>	<b>Landrace</b>	<b>Poland</b>	<b>Duroc</b>	<b>Total</b>
<b>Doblada</b>	62.15	63.80	63.22	54.79	62.39
<b>Enrollada en la cabeza</b>	1.82	1.24	0.00	3.65	
<b>Enrollada</b>	19.38	20.63	8.70	34.70	18.80
<b>Doblada con gota citoplasmática</b>	15.74	12.32	23.32	1.65	15.24
<b>Fracturada</b>	0.76	1.62	0.00	0.91	0.91
<b>Flexuosa</b>	0.15	0.10	0.00	0.00	0.09
<b>Gruesa</b>	0.00	0.10	0.00	0.46	0.06
<b>Forma de u</b>	0.00	0.19	4.76	1.83	1.09

**Fuente: (De Serrano et al., 1995).**

El estrés térmico sometido a un tiempo prolongado a verracos, incrementa la temperatura corporal, la frecuencia respiratoria y un deterioro de las características seminales durante las primeras semanas; sin embargo a partir de la sexta semana recobran los valores de las características mencionadas cercanas a

los normales. Esto nos indica una gran adaptación a las temperaturas elevadas (Chemineau, 1993; Weitze y Petzoldt, 1992). Temperaturas que estuvieron por encima del límite superior crítico durante 30 semanas, la motilidad individual de espermatozoides no presentó variaciones, manteniéndose alta. La concentración espermática varía por la homogeneidad de la muestra, grupo genético, estado de salud, desarrollo testicular y ubicación de la granja y la estación (Trudeau y Sanford, 1986). En zonas tropicales se reportó que la vitalidad era mayor que la reportada por otros autores (Fuentes et al., 1993).

**Cuadro 11: Valores promedio y rangos de las características espermáticas de verracos en todas las granjas**

Características	Intervalo		
	Media	Mínima	Máxima
<b>Volumen (ml)</b>	231.35	132.07	330.63
<b>Concentración (Ex10<sup>mm3</sup>)</b>	338.13	86.91	589.35
<b>Esp. Totales (Ex10<sup>9</sup>)</b>	68.88	26.13	111.63
<b>Motilidad (0-5)</b>	3.63	2.82	4.44
<b>Vitalidad (%)</b>	76.57	63.28	89.86
<b>Atípicos (%)</b>	13.66	4.67	22.65
<b>Tiempo eyaculado (minuto)</b>	4.34	2.78	5.9
<b>Parte sólida (ml)</b>	32.45	15.78	49.12
<b>Temperatura 0°C</b>	26.15	23.86	28.44
<b>Humedad relativa</b>	73.08	61.42	84.74

**Fuente: (Fuentes, 1992)**

Existe un período de dos a tres semanas entre el inicio del estrés y la aparición de una producción anormal de semen con una duración de 5 a 6 semanas. Los espermatozoides inmaduros son más sensibles a los factores estresantes en comparación con espermatozoides maduros que se encuentran en el epidídimo. En estrés más severo afecta tanto a los espermatozoides inmaduros como a los maduros, dando lugar a un descenso inmediato en la producción normal de espermatozoides.

#### **2.1.7.2. Frecuencia de colección seminal en verracos y su relación con la calidad espermática**

La frecuencia de colección seminal afecta negativamente la calidad espermática del verraco, lo que origina una baja eficiencia reproductiva expresada en mayor repetitividad de celos en las marranas y bajo número de lechones por camada; esto ocurre probablemente a la disminución de la calidad seminal de los machos. Fisiológicamente el verraco es capaz de eyacular de un solo eyaculado casi la totalidad de los espermatozoides de la cola del epidídimo durante el apareamiento, lo que indica que el uso frecuente del verraco pudiera disminuir las reservas espermáticas y consecuentemente repercutir negativamente en su potencial reproductivo debido a la menor concentración de espermatozoides (Hurtger, 1986).

El incremento de la frecuencia de colección seminal del semen de verraco incide negativamente sobre las características espermáticas, afectando más la cantidad que la calidad de los espermatozoides observándose una disminución del volumen y número total del espermatozoide por eyaculado, sugiriendo el uso del verraco dos veces por semana, con intervalo de tres días para una mayor probabilidad de fecundación, colecciones de dos y tres por semana el volumen

del eyaculado disminuye en 20% con reducción mayor si el semen es extraído todos los días (Mazzarri et al., 1969).

El plasma seminal está constituido por las secreciones de las vesículas seminales (10%-25%) y por el fluido prostático (50%-70%), el pH del fluido prostático es ácido y de las vesículas seminales es de pH alcalino, la mayor frecuencia de colección seminal repercute en el aumento del pH por la menor secreción de fluido prostático (Buxadé, 2013). La fertilidad se ve afectada por la excesiva utilización de los verracos en la colección seminal conllevando que sus reservas espermáticas disminuyan, afectando negativamente su potencial reproductiva (Córdova et al., 2007).

Además se reportó que la mayor frecuencia de colección seminal incrementa la morfoanomalías de los espermatozoides (Palacios, 1993), por ello se recomienda una colección seminal por semana en verracos jóvenes, y en verracos adultos se puede colectar de dos a tres veces por semana (Kemp et al., 1991; Bonet y Britz 1991; Palacios, 1993).

Díaz, et al., (2009) sostiene que existe una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) en la presencia de gota citoplasmática entre cerdos reproductores jóvenes ( $19.7 \pm 2.3\%$ ) y ( $34.6 \pm 4.8$ ) en cerdos maduros. Los cerdos reproductores que presentaron menor porcentaje de gota citoplasmática obtuvieron mayores valores de acrosomas intactos y por lo tanto los cerdos reproductores mayores de tres años presentaron con frecuencia eyaculados de baja calidad.

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

En este capítulo, se exponen los procedimientos seguidos en la ejecución del presente estudio, inicialmente se efectuó el experimento 1 y su respectiva metodología y luego se realizó el experimento 2 con la misma metodología del experimento 1. Finalmente, se evaluaron los factores temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal sobre la calidad espermática de cerdos utilizando las pruebas no paramétricas U-Mann-Whitney y la prueba de Kruskal-Wallis.

#### **3.1. Fase experimental 1**

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

El estudio se llevó a cabo en dos granjas comerciales de cerdos en el distrito de Reque, departamento de Lambayeque, ubicado a una altitud de 21 m.s.n.m. con una latitud de 06° 53' 10.2" longitud de 79° 50' 7.6" con una temperatura máxima de 31.3°C en verano y 25°C en otoño.

##### **3.1.2. Manejo animal**

De cada granja se utilizó tres verracos híbridos (Landrace x Belga x Petrain) de dos años de edad y de 320 Kg. de peso vivo y de condición corporal muy buena, considerados dentro del programa de Inseminación Artificial.

Por lo tanto las unidades experimentales fueron los eyaculados de los cerdos en los cuales se analizó, volumen seminal, pH, densidad, motilidad en masa, motilidad individual, concentración espermática, vitalidad, integridad de los acrosomas, test de resistencia osmótica, morfología (cola en látigo y gota citoplasmática proximal y distal).

De cada granja se utilizó tres verracos híbridos (Landrace x Belga x Pietrain) obteniéndose un total de seis verracos que fueron utilizados en temperatura de 29°C a 32°C (verano) y luego en temperatura de 20°C a 25°C utilizándose el mismo número de verracos.

La colección seminal se realizó durante cuatro semanas y la metodología para colectar el eyaculado fue el siguiente: al primer cerdo se le colectó un eyaculado por semana; al segundo cerdos dos eyaculados por semana y al tercer cerdo tres eyaculados por semana; las colecciones seminales se utilizaron en las dos granjas en estudio, estas colecciones se realizaron en temperatura entre 29°C a 32°C en (verano) igualmente se procedió entre 20°C a 25°C (otoño) obteniéndose 96 eyaculados en las cuatro semanas que duró el experimento.

La alimentación fue similar para todos los verracos en estudio, basado en una ración de 2 kg por día de concentrado, se administró la mitad en la mañana y la otra en la tarde. El valor nutricional expresado fue: proteína total 15%; 3,200 Kcal/kg de energía metabolizable; 0.8% de calcio; 0.65% de fósforo y 10% de fibra total.

E manejo sanitario, de los verracos fue el siguiente: dos vacunas al año por cada enfermedad, para prevenir la Cólera Porcina, Erisipela porcina, Parvovirus porcino, Leptospirosis y Micoplasmosis. Los corrales de los verracos fueron limpiados en forma diaria y la desinfección de los ambientes se realizó cada quince días con soluciones a base de yodo.

### 3.1.3. Procedimiento experimental

**Cuadro 12: Tamaño de muestra experimento 1**

N	$\Phi^2$	$\Phi$	a(n-1)	$\beta$	$(1-\beta)$
6	0.83	0.91	15	0.70	0.30
10	1.39	1.18	27	0.60	0.40
20	2.78	1.67	57	0.35	0.65
30	4.17	2.04	87	0.09	0.91
40	5.56	2.36	117	0.06	0.94
60	8.34	2.89	177	0.03	0.97

Para estimar el tamaño de muestra se utilizó la siguiente fórmula: (Montgomery, 2002).

$$\Phi^2 = \frac{n \sum_{i=1}^{n-3} t_i^2}{a \sigma^2}, \text{ donde:}$$

$\Phi^2$  = Valores para

Error tipo I: Rechazar la Ho/ cuando la Ho es verdadera (Alfa)

Error tipo II: Aceptar la Ho/ cuando la Ho es falsa (Beta)

n: Tamaño de muestra fijado por el investigador.

$\sum_{i=1}^{n-3} t_i^2$  : Sumatoria de todos los desvíos al cuadrado.

$t_1 = (\mu_i - \bar{\mu})$ : Diferencia entre el promedio de los tratamientos especificados

$(\mu_u)$  con el promedio de los tratamientos individuales  $(\bar{\mu})$ .

a: Número de tratamientos previos a las fases experimentales

$\sigma^2$ : Varianza poblacional estimada.

### 3.1.4. Cálculo del tamaño de muestra (Experimento N° 01)

- **Primero.-** Se tomó muestras de eyaculados de tres verracos que intervinieron en el experimento y se evaluó la motilidad masal, obteniéndose promedios y varianzas:

Muestra 1 = **50% de motilidad (u<sub>1</sub>)**

Muestra 2 = **89.55% de motilidad (u<sub>2</sub>)**

Muestra 3 = **65% de motilidad (u<sub>3</sub>)**

La varianza muestral ( $s^2$ ) es de: **1,911.54** (Utilizado como estimador de  $\sigma^2$ )

La media poblacional ( $\bar{\mu}$ ) fue de **68.18%** de motilidad.

Número de muestra: a = 3.

- **Segundo.-** Cálculo de la suma de los desvíos al cuadrado:

$$\sum_{i=1}^{n=3} t_i^2 = t_1^2 + t_2^2 + t_3^2$$

$$\sum_{i=1}^{n=3} t_i^2 = (\mu_1 - \bar{\mu})^2 + (\mu_2 - \bar{\mu})^2 + (\mu_3 - \bar{\mu})^2$$

$$\sum_{i=1}^{n=3} t_i^2 = (50 - 68.18)^2 + (89.55 - 68.18)^2 + (65 - 68.18)^2 = 797.30$$

- **Tercero.-** Reemplazando en:

$$\Phi^2 = \frac{n \sum_{i=1}^{n=3} t_i^2}{a \sigma^2}$$

$$\Phi^2 = \frac{n(797.30)}{3(1,911.54)}$$

$$\Phi^2 = 0.139n$$

➤ **Cuarto.-** Se usa la curva de operación característica para  $a-1=3-1=2$  con  $a(n-1) = 3(n-1)$  grados de libertad del error y  $\alpha = 0.05$ . Como la primera conjetura para el tamaño de la muestra requerido, se prueba con  $n=6$  réplicas. Esto  $\phi^2 = 0.83$ ,  $\phi = 0.91$  y  $3(5) = 15$  grados de libertad del error. Por consiguiente, en la tabla de la curva característica  $\beta \approx 0.70$ . Por lo tanto, la potencia de la prueba es aproximadamente  $1 - \beta \approx 0.30$ , que es **menor que 0.99** requerido, por lo que se concluye que  $n=6$  réplicas no son suficiente. Procediendo de manera similar, se construyó la (Cuadro N° 12).

### 3.1.5. Diseño Estadístico para la Fase Experimental 1 (Prueba de U Mann Whitney, prueba de Jonckheere- Terpstre y prueba de Kruskal-Wallis)

Las variables en estudio fueron la temperatura ambiental y la frecuencia de colección.

**Cuadro 13: Esquema del análisis de las características espermáticas por efecto de la temperatura (experimento 1).**

Temperatura	Volumen Seminal	pH	Densidad	Motilidad	Vitalidad	Concentración	Morfología
De 29°C a 32°C							
De 20°C a 25°C							

**3.1.6. Para el análisis de calidad espermática (volumen seminal, pH, densidad, motilidad, vitalidad, concentración espermática y morfoanomalías) se utilizó la prueba de U Mann-Whitney, prueba de Jonckheere–Terpstra y prueba de Kruskal Wallis.**

Estas técnicas no paramétricas empleadas en esta investigación no exige la aleatoriedad en las observaciones, normalidad o la igualdad de la varianza de dos poblaciones o la estimación de cualquier parámetro de la población o

ninguna ley de probabilidades en la población que se obtuvo la muestra, así tenemos las siguientes pruebas (Rius y Barón, 2005).

a) Contraste de Mann-Wirhney se realizó planteando las siguientes hipótesis:

Ho: Las poblaciones de las que provienen las muestras están equidistribuidas.

Ha: Las poblaciones no están equidistribuidas.

b) Contraste de Kruskal-Wallis

Es una alternativa no paramétrica del método ANOVA es decir, sirve para contrastar la hipótesis de que K muestras cuantitativas han sido obtenidas de la misma población y las hipótesis a contrastar fueron:

Ho: Las K muestras provienen de la misma población.

Ha: Alguna proviene de una población con mediana diferente a los demás.

**Cuadro 14: Esquema del análisis de las características espermáticas por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana (experimento 1).**

Frecuencia	Volumen Seminal	pH	Densidad	Motilidad	Vitalidad	Concentración	Morfología
Una colección							
Dos colecciones							
Tres colecciones							

**3.2. Fase Experimental 2**

Los objetivos de este estudio fue corroborar si la temperatura ambiental y la frecuencia de colección seminal por semana originó un efecto sobre la calidad espermática.

### **3.2.1. Lugar de estudio y manejo animal**

Este estudio se realizó en una granja comercial “El Dren” ubicada en el distrito Reque-Lambayeque; las características de esta zona así como las prácticas de manejo nutricional y sanitario fueron similares a las descritas en la fase experimental 1. Se utilizaron cuatro verracos híbridos (Pietrain x Landrace, Belga x Edel), de dos años de edad y de 300 kg.p.v. y cada verraco se distribuyó en un corral cuyo techo y paredes laterales fueron de 1.8 m de altura de material noble, quedando la parte superior de estas paredes descubierta.

Dos de los corrales fueron acondicionados con la instalación de 4 focos de 200 watts y las paredes laterales protegidas con manta de polietileno, para conservar una temperatura entre 29°C y 32°C. Este rango de temperatura se controló con frecuencia, sobre todo en el horario de 11 am y 3 pm, en caso de un aumento de la temperatura sobre el rango superior, se procedió a la abertura de las mantas de una o dos de las paredes laterales, a fin de conservar la temperatura del corral en el rango fijado. Los cerdos utilizados en el experimento 2 fueron diferentes a los cerdos del experimento 1 debido a que podría interferir con los resultados, puesto que los cerdos del experimento 1 fueron sometidos a los dos factores en estudio.

### 3.2.2. Procedimiento experimental

**Cuadro 15: Tamaño de muestra experimento 2**

Nº	$\Phi^2$	$\Phi$	$a(n-1)$	$\beta$	$(1-\beta)$
6	1.21	1.10	10	0.55	0.45
10	2.01	1.42	18	0.50	0.50
<b>20</b>	<b>4.02</b>	<b>2.00</b>	<b>38</b>	<b>0.20</b>	<b>0.80</b>
30	6.03	2.46	58	0.06	0.94

- **Primero.-** Se tomará muestras de eyaculados de dos verracos y se evaluó la motilidad masal, obteniéndose promedios y varianzas:

Muestra 1 = **96.99% de motilidad ( $u_1$ )**

Muestra 2 = **69.57% de motilidad ( $u_2$ )**

La varianza muestral ( $s^2$ ) es de: **934.18** (Utilizado como estimador de  $\sigma^2$ )

La media poblacional ( $\bar{\mu}$ ) fue de **83.28%** de motilidad.

Número de tratamiento:  $a = 2$

- **Segundo.-** Cálculo de la suma de los desvíos al cuadrado:

$$\sum_{i=1}^{n=2} t_i^2 = t_i^2 = t_1^2 + t_2^2$$

$$\sum_{i=1}^{n=2} t_i^2 = (\mu_1 - \bar{\mu})^2 + (\mu_2 - \bar{\mu})^2$$

$$\sum_{i=1}^{n=2} t_i^2 = (96.99 - 83.28)^2 + (69.57 - 83.28)^2 = 375.93$$

➤ **Tercero.-** Reemplazando en:

$$\Phi^2 = \frac{n \sum_{i=1}^{n-2} t_i^2}{a \sigma^2}$$

$$\Phi^2 = \frac{n(375.93)}{2(934.18)}$$

$$\Phi^2 = 0.201n$$

➤ **Cuarto.-** Se usa la curva de operación característica para  $a-1=2-1=1$  con  $a(n-1) = 2(n-1)$  grados de libertad del error y  $\alpha = 0.05$ . Como la primera conjetura para el tamaño de la muestra requerido, se prueba con  $n= 6$  réplicas. Esto  $\Phi^2 = 1.21$ ,  $\Phi = 1.10$  y  $2(5) = 10$  grados de libertad del error. Por consiguiente, en la tabla de la curva característica  $\beta \approx 0.55$ . Por lo tanto, la potencia de la prueba es aproximadamente  $1 - \beta \approx 0.45$ , que es menor que 0.80 requerido, por lo que se concluye que  $n=6$  réplicas no son suficiente. Procediendo de manera similar, se construyó la (Cuadro N° 15).

### 3.2.3 Para el análisis de la calidad espermática

Para el análisis de la calidad espermática (volumen seminal, pH, densidad, motilidad vitalidad, concentración y morfoanomalías), se realizaron las siguientes pruebas no paramétricas; prueba de U Mann-Whitney para la temperatura y frecuencia de colección seminal y prueba de Kruskal-Wallis para la interacción entre temperatura y frecuencia de colección seminal.

**Cuadro 16: Esquema del experimento 2 para evaluar la calidad espermática por efecto de la temperatura ambiental**

Frecuencia	Volumen Seminal	pH	Densidad	Motilidad	Vitalidad	Concentración	Morfología
Una colección							
Dos colecciones							
Tres colecciones							

**Cuadro 17: Esquema del experimento 2 para evaluar la calidad espermática por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana.**

Frecuencia	Volumen Seminal	pH	Densidad	Motilidad	Vitalidad	Concentración	Morfología
Una colección							
Tres colecciones							

### 3.2.4. Métodos de evaluación de las características del semen

Los métodos para evaluar los efectos de los tratamientos sobre los componentes del semen de los verracos, fueron los mismos para ambas fases experimentales.

### 3.2.5. Métodos para evaluar la calidad espermática

#### 3.2.5.1. Volumen seminal

Se evaluó colocando el eyaculado filtrado en una probeta graduada, después de la colección seminal.

#### 3.2.5.2. Concentración espermática

La concentración espermática se determinó mediante la técnica del hemocitómetro (Kraft y Schellinger, 1998 y Kubus, 2001). Para tal fin, el semen fue diluido con el reactivo de Turk, compuesto de ácido acético 4 ml.; azul de metileno al 0.3% 10 gotas y agua destilada 200 ml.

Para su determinación se utilizó la técnica de "recuento directo" (Conejo, 1991); empleando un hemocitómetro (cámara de Neubauer) y una pipeta de Thoma para glóbulos rojos. Se introdujo la pipeta de Thoma al recipiente con el semen, se aspiró hasta que el volumen del semen llegó a la marca de 1 y se terminó de llenar la pipeta con la solución de Turk hasta la marca 101, para obtener una dilución de 1: 200. Se agitó la pipeta para mezclar el semen con el diluyente; desechándose dos gotas y enseguida se llenó la cámara de Neubauer y se realizó el conteo de los espermatozoides utilizando el microscopio a un aumento de 40x. Para realizar el conteo se colocó la cámara de Neubauer sobre la platina del microscopio de luz con el objetivo seco se localizó el área central de la cámara, con cuadrícula fina.

Esta área está formada por 25 cuadros subdivididos a su vez en 16 cuadros más pequeños. Una vez localizada en área de observación, se realizó el conteo considerando únicamente los espermatozoides presentes en los cuatro cuadros grandes del rayado de la cámara, es decir los cuatro cuadros de las esquinas. Los espermatozoides que tocaron las líneas superiores e izquierda de un cuadro se incluyeron en la cuenta de ese cuadro y se excluyeron los que se encontraban atravesando la línea derecha e inferior, para el contaje se utilizó un contador manual.

El número total de espermatozoides por eyaculado, se determinó utilizando la siguiente fórmula propuesta por Sorensen, (1982).

$$\text{Espermatozoides} \text{ / ml} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de espermatozoides contados} * 1000}{\frac{1}{4} * \frac{1}{10} * \frac{1}{200}}$$

Donde:

$\frac{1}{4}$  = Superficie contada en la cámara de Neubauer, ya que se consideraran únicamente cuatro cuadros de los 25 existentes en total.

$\frac{1}{10}$  = La altura de la cámara

$\frac{1}{200}$  = Fue el grado de dilución del semen

1000 = Transformación de  $\text{mm}^3$  a ml

### **3.2.5.3. Motilidad en masa**

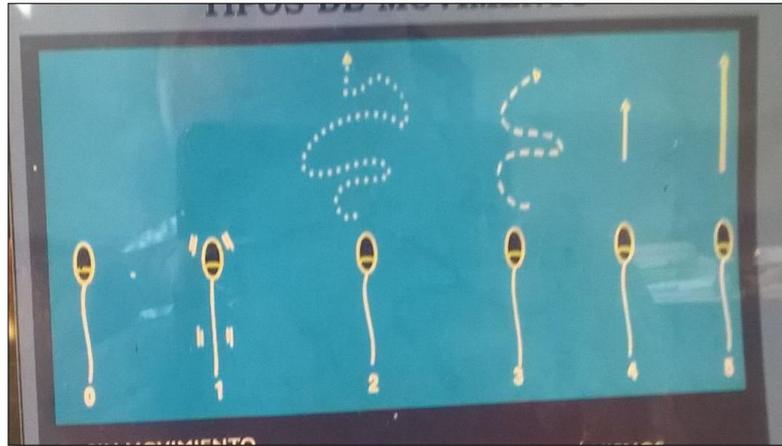
En un portaobjeto temperado, se colocó una gota del eyaculado y se observó sin cubre objeto, en campo claro (10x) los movimientos ondulatorios de los espermatozoides, y se calificó de acuerdo al grado de velocidad de desplazamiento.

La evaluación se realizó de acuerdo a la experiencia del responsable del trabajo de investigación.

### **3.2.5.4. Motilidad individual**

Sobre un porta objeto temperado a  $37^{\circ}\text{C}$ , se colocó una gota del eyaculado y luego cubierto con una laminilla, se observó al microscopio con el objetivo 40x, estimándose en una escala de 0 al 100%, para cada tipo de movimiento calculado del conteo de 100 espermatozoides).

**Fig. 1: Tipos de movimiento espermático individual.**



**Fuente: (Hafez, 1993)**

- 0 : Sin movimientos
- 1 : Sin movimientos progresivos girando sobre si mismo.
- 2 : Con movimientos anormales y algunos progresivos.
- 3 : Con movimientos progresivos lentos y sinuosos.
- 4 : Con movimientos progresivos rápidos.
- 5. : Con movimientos progresivos muy rápidos.

### **3.2.5.5. Vitalidad espermática**

Para realizar la evaluación de esta característica se empleó la técnica de tinción eosina- nigrosina, descrita en varios reportes (Kuiist y Bjorndahl, 2002).

En un extremo de una lámina porta objeto, temperada a 37°C se colocó una gota del eyaculado con una gota de solución acuosa de eosina-nigrosina. Para la extensión de esta mezcla en la lámina, se tomó otra lámina porta objeto cogiéndose el borde posterior del bisel de uno de sus lados y fue colocado en un ángulo de 45°C, en la superficie de la lámina que contiene la mezcla y luego fue desplazado lentamente en retaguardia hacia la mezcla hasta que ambos entren en contacto y la mezcla se deslice uniformemente a lo largo del bisel para luego extenderlo suavemente a lo largo de la superficie de la lámina. La extensión de la lámina fue secada al medio ambiente.

La observación microscópica fue con un objetivo 40X. Los espermatozoides que se tiñeron de color rosado fueron clasificados como muertos y los no teñidos o blancos como vivos, expresando la integridad de su membrana plasmática (Kraft y Schillinger, 1998). La evaluación se expresó en porcentaje, para lo cual se contaron 100 espermatozoides.

#### **3.2.5.6. Morfología espermática**

La expresión de la morfología espermática fue determinada por el método de extensión con tinta china, para lo cual se preparó una solución en base a 1% de fenol agregado a 1 ml de tinta china (Kraft y Schillinger, 1998).

Una gota de esta solución se colocó en un extremo de una lámina porta objeto temperada a 37°C e inmediatamente se añadió una gota del eyaculado para luego mezclarlo uniformemente y ser extendidos siguiendo el mismo procedimiento usado en la técnica que determinó la vitalidad de espermatozoides.

Una vez secada, la extensión fue valuada con ayuda de un microscopio con aumento de 100. En cada campo microscopio observado se determinó el número de espermatozoides normales y con anomalías en la cabeza, pieza intermedia y cola, siguiendo este procedimiento hasta establecer un recuento de 100 espermatozoides. De este total se calculó el porcentaje de espermatozoides anormales de cada uno de los grupos de morfoanomalías observadas.

#### **3.2.5.7. Test de resistencia osmótica (ort)**

Para esta característica se utilizó el método descrito por Kubus, (2001), que consistió en colocar en un tubo de ensayo (A) 3 ml de un diluyente osmótico (MRA) compuesto por 26 g, de glucosa, 8.0g de citrato de sodio, 0.75 g. de cloruro de potasio, 2.0g de ácido cítrico, 2.4 g de EDTA, 1.2 g de bicarbonato

de sodio, 0.2 mg de gentamicina y 1,000 ml de agua destilada. En un tubo de ensayo (B), se le agregó 3 ml de solución hiposmótica de MR-A (MR-A osmótica más agua destilada en volúmenes iguales). Los tubos A y B, se colocaron en baño maría a 37°C y se agregó 0.2 ml del eyaculado en ambos tubos. Después de 15 minutos, se tomó una muestra de la dilución con diluyente isosmótico tubo de ensayo (A), se fijó con la solución de citrato-formol (citrato sódico 2.9 g, formaldehído (40%), 4 ml y 100 ml de agua destilada) y se calculó los acrosomas normales.

Igualmente, se procedió para la muestra con diluyente hiposmótico (tubo de ensayo B), después de dos horas de incubación a 37°C. Para el conteo de acrosomas normales se colocó una gota sobre un portaobjeto y se puso una laminilla, y observó al microscopio a 40X. Los acrosomas normales presentados por los espermatozoides se caracterizan por tener la forma de semiluna en el ápice de la cabeza con bordes nítidos oscuros y sin irregularidades.

Los acrosomas anormales son aquellos que presentaron pequeñas rugosidades, escotaduras y bordes irregulares.

Para las muestras de las soluciones del tubo (A) y tubo (B) se contaron 100 espermatozoides respectivamente y luego se realizó una semisuma de los resultados obtenidos, y se obtuvo el porcentaje de ORT.

#### **3.2.5.8. Integridad del acrosoma**

Para evaluar la integridad del acrosoma de los espermatozoides se utilizó la técnica de la solución citrato – formol, preparada en base a 2.9 g de citrato 4 ml de formaldehído 40 % en 100 ml de agua destilada, 1.5 ml de esta solución se colocó en un tubo de ensayo agregándose luego una gota del fluido seminal y

procedió a mezclarse suavemente. Para la evaluación se colocó una gota de este preparado en un porta objeto cubriéndose con una laminilla y se observó al microscopio a un aumento 40X. Los acrosomas normales fueron considerados en aquellos espermatozoides que exhibieron la forma de semiluna en el ápice de la cabeza con bordes nítidos, oscuros y sin irregularidades. Los acrosomas anormales son aquellos que presentaron pequeñas rugosidades, escotaduras y bordes irregulares (Pursel et al., 1984). EL porcentaje de los acrosomas normales y anormales fueron calculados del total de 100 espermatozoides contados.

#### **3.2.5.9. pH**

La medición del pH nos permite determinar la viabilidad y motilidad espermática y las variaciones del pH en el eyaculado está en relación a la frecuencia de colección seminal y la medida del pH tiene una relación directa con la secreción de las glándulas sexuales accesorias y determinan el eyaculado tenga una reacción alcalina o ácida (King y Mcpherson, 2005).

Para medir el pH se colocó 20 ml. del eyaculado en un tubo de ensayo y luego se introdujo el papel indicador de pH y después de 2 seg. el papel fue extraído y luego se comparó con el pH estándar del laboratorio Merck (Kraft y Schillinger, 1998).

#### **3.2.5.10. Densidad**

Para evaluar la densidad se procedió de la siguiente forma: en una probeta se colocó 3 ml. de eyaculado y luego se colocó urodensímetro y se realizó la lectura respectiva.

### **3.2.6. Métodos de colección seminal**

Para la colección seminal se realizó mediante un maniquí portátil, previamente se le colocó orina de marrano en celo y el maniquí fue trasladado a cada corral donde se encontraban los verracos y luego que los verracos montaron el maniquí se procedió a lavar el prepucio con agua y se realizó masajes en dirección anterior para eliminar el contenido de orina y eyaculado que probablemente se almacenó en el divertículo prepucial y luego se secó con una toalla. Para la colección seminal de los cerdos se hizo por masturbación manual mediante el método de mano enguantada descrita y usada por varios autores (King y Mcpherson, 1973 u Buxadé, 2013), el método consistió en presionar en forma manual el glande del pene del cerdo, seguido de varios movimientos de la pelvis en dirección anterior y luego el cerdo eyaculó en forma eficaz (Hafez, 1993). Para la colección del eyaculado se utilizó termos estériles precalentados a 37°C, a fin de evitar el shock térmico, previamente a los termos se le colocó una gasa estéril para eliminar la porción gelatinosa y coleccionar solamente la parte líquida del eyaculado (Martín, 1982). La frecuencia de colección seminal por semana se realizó de la siguiente forma, al verraco uno se le colectó un eyaculado cada semana (lunes); al verraco dos se le colectó dos eyaculados interdiarios (martes y jueves) y al verraco tres se le colectó tres eyaculados por semana en forma interdiarias (lunes, miércoles y viernes) y las colecciones se realizó por cuatro semanas consecutivas para el experimento 1.

En el experimento 2 a un verraco se le colectó un eyaculado por semana (lunes) y al verraco 2 tres eyaculados por semana en forma interdiarias (lunes, miércoles y viernes).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. Experimento 1

##### 4.1.1. Efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección por semana sobre las características del eyaculado en cerdos

Estos resultados se exponen en el cuadro 18 hasta el cuadro 22 y se complementa con el anexo 1 al anexo 5.

##### 4.1.1.1. Características físicas del eyaculado en cerdos: volumen, pH y densidad, por efecto de la temperatura y frecuencia de colección seminal por semana.

El volumen, pH y densidad, del eyaculado de los cerdos fueron similares ( $P>0,05$ ), en ambos intervalos de temperaturas ambientales y frecuencia de colección del semen (una, dos y tres colecciones), así como la interacción de temperatura por frecuencia, registrando promedios de 231,95 ml, 7,61 y 1,013, para el volumen, pH y densidad, respectivamente, sin embargo en otros trabajos realizados con clima templado y durante los meses cálidos se observó una disminución del volumen seminal (Kolembrander y Kemp, 1990), además los promedios obtenidos en las dos temperaturas estudiadas, estuvieron dentro de los rangos normales 218,8 ml. considerado por Graham et al. (1967) y Fuentes, (1992).

La variación del volumen seminal en el presente estudio está relacionado con la frecuencia de colección seminal y los agentes estresantes como la temperatura ambiental (Fuentes, 2008).

Cabe destacar la tendencia de mantener el volumen seminal cuando la frecuencia de colección por semana aumenta, sin embargo la información

manifiesta que el volumen seminal disminuye el 20% y la reducción es mayor cuando el eyaculado es diario (Mazzarri et al., 1969).

El pH y la densidad obtenida también se encontraron dentro de los valores normales, valores (7.3 y 7.8) reportado por Hugher y Varley, (1984). Sin embargo se han reportado valores de pH que oscilan entre 6,5 a 7,5 (Weitze, 2000) y otros valores que oscilan entre 7,2 y 7,5 (Köning, 1979), similares valores fueron encontrados por Singlenton y Shelby (1972) mientras que Strezezek, (2000) encontró valores inferiores a los reportados por dichos autores. Los cambios de pH en el eyaculado afectan la vitalidad y motilidad espermática siendo las secreciones de las glándulas sexuales accesorias determinantes, para que el pH del semen tengan una reacción alcalina o más ácida (King y Mcpherson, 2005); debido que el plasma seminal está constituido por las secreciones de las vesículas seminales (10% a 25%) con un pH alcalino y por el fluido prostático 50% a 70% con un pH ácido y la mayor frecuencia de colección seminal repercute en el aumento del pH por la menor secreción del fluido prostático (Buxadé 2013).

Sin embargo Trudeau y Sandford (1986) encontraron un incremento de pH que el eyaculado de cerdos que estuvieron en clima cálido.

La densidad del eyaculado está dada por la concentración espermática, es decir que la mayor concentración espermática origina una mayor densidad. Los eyaculados muy densos dan lecturas superiores a 1,020 y las de poca densidad lecturas inferiores a 1,010.

#### **4.1.1.2. Características de los espermatozoides por efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección sobre: la motilidad en masa, motilidad individual, vitalidad, concentración espermática, integridad acrosomal, test de resistencia osmótica y morfoanomalías.**

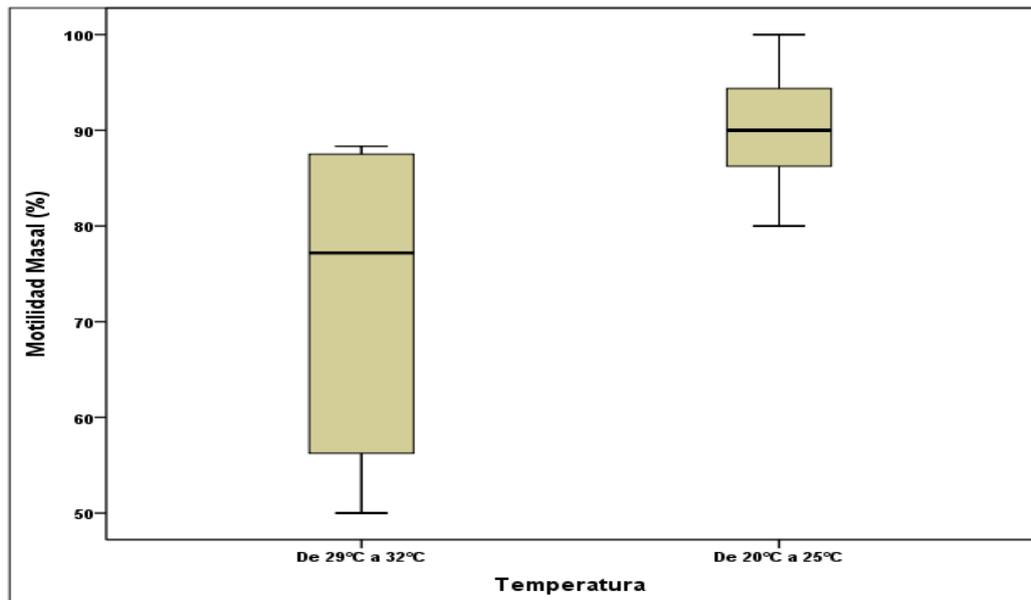
El cuadro 18 y figuras 2 y 3, expresan los promedios de la motilidad espermática en masa e individual, resultando diferente en ambos intervalos de temperaturas ambientales en estudio ( $P < 0.05$ ), siendo la motilidad (masal e individual) menor en las temperaturas ambientales de 29°C a 32°C; efecto que se presentó en el trabajo realizado por Trudeau y Sandford, (1986), donde la motilidad espermática disminuye en climas templados y meses cálidos. La temperatura ambiental fue la que originó este efecto en la motilidad en masa e individual de los espermatozoides, debido a que no hubo interacción con la frecuencia de colección seminal por semana ( $P > 0,05$ ) (anexo 6). El movimiento espermático depende de las anomalías que presenta el espermatozoide cuando transita por el epidídimo por la acción de ciertos factores (Holt, 1982), concordando con el presente estudio, que el factor temperatura afectó el movimiento espermático. La motilidad en los espermatozoides está regulada por el AMPc, el calcio y el pH intracelular (Lindermann y Kanous, 1989), altas temperaturas del medio ambiente va a incrementar el metabolismo energético, siendo el ATP la principal fuente primaria de energía (Salisbury et al., 1978); lo que conllevaría agotar las reservas energéticas, al incrementar la vía glucolítica anaeróbica y luego realizar la vía aeróbica que es más eficiente para producir ATP (Hafez, 1993) y posteriormente energía será tomada para contraerse y propulsar al espermatozoide, encontrándose una correlación entre el movimiento espermático y el contenido de ATP, hipótesis que es confirmada para la especie porcina por (Alberts et al., 1985). El calcio es

otro de los factores que regulan la motilidad espermática y el exceso de movimientos espermáticos en estrés calórico de los cerdos, originan descenso de los niveles de calcio intracelular, siendo el calcio el que debe aumentarse y poder llevar a cabo una reacción acrosomal, proceso fisiológico del espermatozoide que ocurre durante la fertilización, cuando hace contacto con la zona pelúcida del ovocito (Yanaguimachi, 1994), y para llevar a cabo la capacitación espermática la cual requiere un aumento en los niveles de calcio intracelular que al interaccionar con el sulfato de colesterol, origina una inestabilidad en la membrana iniciando así la reacción acrosomal (Brucker y Lipford, 1995); el proceso de reacción acrosomal es la formación de poros que se producen al fusionarse la membrana plasmática y la membrana acrosomal externa del espermatozoides, liberando las enzimas del acrosoma que facilitan la penetración de la zona pelúcida de ovocito. Posteriormente, la fusión de las membranas plasmáticas y acrosomal externa, originan la formación pseudo vesicular con un proceso similar a otros sistemas celulares (Yanaguimachi, 1994).

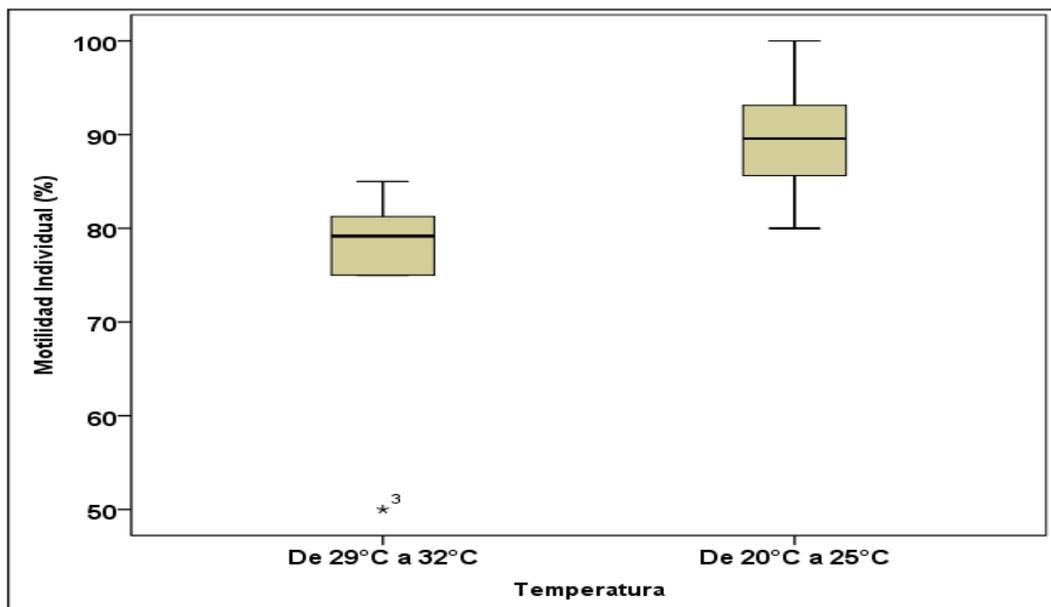
**Cuadro 18: Efecto de la temperatura ambiental sobre motilidad de los espermatozoides del eyaculado de los cerdos (experimento 1)**

<b>Temperatura</b>	<b>Motilidad en masa %</b>	<b>Motilidad individual (%)</b>
<b>De 29°C a 32°C</b>	72,74b	74,93 b
<b>De 20°C a 25°C</b>	90,10 a	89,63 a

a/b: en columnas se muestran las significancias asintóticas a un nivel de significancia de 0,05. Prueba de U Mann – Whitney- Wilcoxon.



**Fig. 2: Efecto de la temperatura ambiental sobre motilidad en masa de los espermatozoides del eyaculado de los cerdos.**



**Fig. 3: Efecto de la temperatura ambiental sobre motilidad individual de los espermatozoides del eyaculado de los cerdos.**

La vitalidad espermática fueron similares ( $P > 0,05$ ) en ambos intervalos de temperaturas ambientales y frecuencias de colecciones. Registrando promedio de 81,18%; porcentaje cercano a los porcentajes obtenidos por Fuentes (1992) quien reportó una vitalidad espermática del 89,86% en una temperatura ambiental

promedio de 28,48°C, igualmente el porcentaje de vitalidad en otras latitudes fue mayor (Park y Yi, 2002) así como en zonas tropicales (Fuentes et al., 1992).

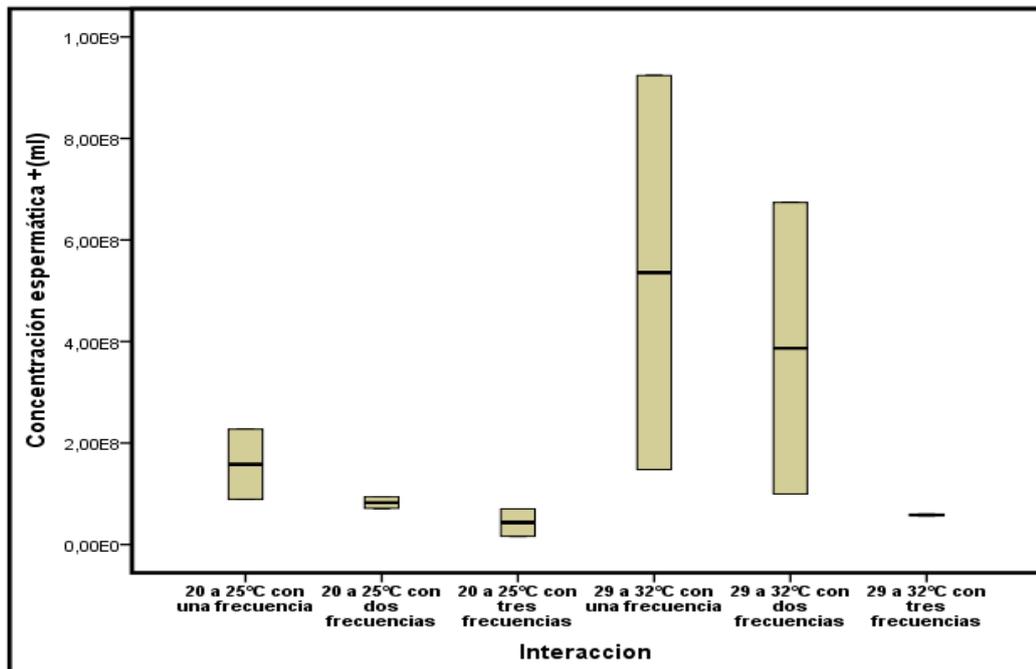
En la concentración espermática por ml. En ambos intervalos de temperatura estudiada fueron estadísticamente diferentes ( $p < 0,05$ ), sumándose el otro factor en estudio que fue la frecuencia de colección seminal por semana así: en una colección seminal ( $53,580 \times 10^7$ ); dos colecciones seminales ( $38,690 \times 10^7$ ) y tres colecciones ( $5,813 \times 10^7$ ) todos estos resultados se dieron en intervalos de temperatura entre 29°C A 32°C; y en una colección seminal ( $15,82 \times 10^7$ ); en dos colecciones seminales ( $8,27 \times 10^7$ ) y en tres colecciones seminales ( $4,33 \times 10^7$ ) en intervalo de temperatura de 20°C a 25°C, observándose que existió una tendencia de disminuir la concentración espermática conforme se incrementó la frecuencia de colección seminal por semana ( $p < 0,05$ ) y la frecuencia de colección seminal más afectada fue cuando se llevó a cabo tres colecciones por semana, cuadro 19, figura 4 (anexo 6). La Concentración espermática en temperatura de 29° a 32°C cuando se colectó una y dos colecciones por semana estuvieron dentro del valor normal 224'740,000 (Galli et al., 1991) y en tres colecciones seminales la concentración espermática estuvo muy por debajo de este valor, igualmente ocurrió en temperatura entre 20°C a 25°C en las tres frecuencias de colección por semana. Mazarri et al., (1965) sostiene que cuando se incrementa la frecuencia de colección seminal la concentración espermática disminuye debido que las reservas espermáticas que se encuentra en la cola del epidídimo también van a disminuir (Córdova et al., 2007), fisiológicamente el verraco es capaz de eyacular de un solo eyaculado casi la totalidad de los espermatozoides de la cola del epidídimo durante el apareamiento (Hurtger, 1986).

Los valores promedios no coincide con los estudios realizados por Kolembrander y Kemp (1990) y Trudeau y Sandford (1986) quienes sostienen que en meses cálidos la concentración espermática disminuye. La concentración espermática es un indicador de la capacidad productiva de gametos en los túbulos seminíferos aunque no está relacionado con la fertilidad, pero sí afecta la tasa de dilución seminal y el número de dosis obtenidas en un eyaculado (Tardif et al., 1999). También se sostiene que la concentración espermática es muy variable entre individuos (Singleton y Shelby, 1972) dependiendo de la edad (Rodríguez y Wallgren, 2000), el ambiente social y la estación (Trudeau y Sandford, 1986), en el presente estudio la variación de la concentración espermática no fue afectada por la temperatura y esto es muy probable a la capacidad de adaptación que tuvieron los verracos en temperatura de 29° a 32°C cuando se origina estrés calórico en los verracos tal como lo sostiene Wollaman et al., (2002), Strezezek (2000), y Trudeau y Sanford (1986); es evidente que el incremento de la frecuencia de colección seminal en las dos temperaturas en estudio originó una disminución de la concentración espermática. En Tailandia la temperatura alta (abril a mayo) originó degeneración testicular en verracos, lo que conllevó a la afección de la espermatogénesis y como consecuencia una baja producción espermática (Kunavongkrit, 1990).

**Cuadro 19: Efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana sobre la concentración espermática de los cerdos (experimento 1).**

Temperatura	Frecuencia de colección seminal por semana	Concentración espermática ml
De 29°C a 32°C	Una colección seminal	53,580x10 <sup>7</sup> a
	Dos colecciones seminales	38,690x10 <sup>7</sup> a
	Tres colecciones seminales	5,813x10 <sup>7</sup> c
De 20°C a 25°C	Una colección seminal	15,82x10 <sup>7</sup> b
	Dos colecciones seminales	8,27x10 <sup>7</sup> bc
	Tres colecciones seminales	4,3333x10 <sup>7</sup> c

a/b/c: en columnas, se encuentran las significancias a un nivel de significación de 0,05. Prueba de U Mann – Whitney- Wilcoxon.



**Fig. 4: Efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana sobre la concentración espermática de los cerdos (experimento 1).**

Al comparar la integridad del acrosoma en intervalos de temperaturas ambientales de 29°C a 32°C y de 20°C a 25°C se determinó diferencia ( $P < 0.05$ ), lo mismo ocurrió en el test de resistencia osmótica-ort (cuadro 20 y figuras 5 y 6), siendo los promedios de integridad acrosomal muy inferiores a los valores normales y cuyos valores están entre 86% a 91% (Pursel et al., 1984).

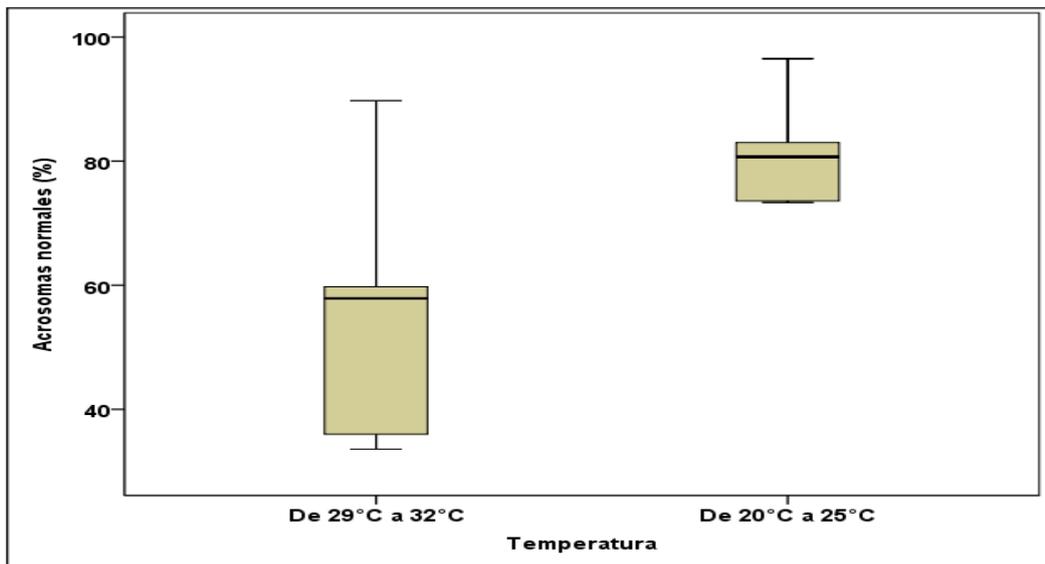
Los factores ambientales como temperatura entre 30°C a 35°C, humedad y falta de ventilación alteran la fisiología del animal y como consecuencia se incrementan las anomalías en los acrosomas (Buxadé 1984); estas anomalías son de importancia en la reproducción porcina ya que se describe que existe correlación positiva entre la integridad acrosomal y la fertilidad (Galli et al., 1991; Slaweta y Strezezek 1984). Además la integridad acrosomal obtenidos en el presente estudio fueron similares a los obtenidos por Wetterman et al., (1976) que los espermatozoides con acrosomas anormales se incrementan en los meses cálidos en climas tropicales.

La integridad acrosomal y la resistencia osmótica-ort por frecuencia de colección fueron similares ( $P > 0.05$ ). Cabe destacar que alteraciones específicas en la cabeza del espermatozoide y en particular del acrosoma, pueden interferir en los procesos de fertilización (Rillo et al., 1996), siendo esta última utilizada por varios investigadores (Jaiswal et al., 1988; Esteves et al., 1998) como indicadores para evaluar el proceso de capacitación espermática.

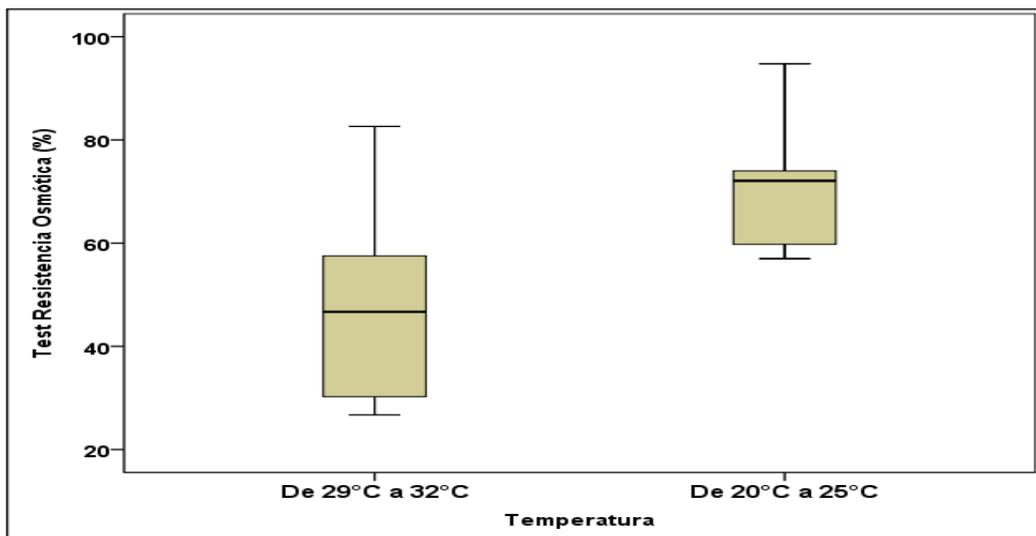
**Cuadro 20: Efecto de la temperatura ambiental sobre la integridad del acrosoma y test de resistencia osmótica (experimento 1)**

Temperatura	Integridad del Acrosoma (%)	Test de resistencia osmótica-ort (%)
De 29°C a 32°C	55,81 b	48,41 b
De 20°C a 25°C	81,30 a	71,61 a

a/b: en columnas, se muestran las significancias asintóticas a un nivel de significancia de 0,05. Prueba de U Mann – Whitney- Wilcoxon.



**Fig. 5: Efecto de la temperatura ambiental sobre la integridad del acrosoma**



**Fig. 6: Efecto de la temperatura ambiental sobre la integridad del test de resistencia osmótica**

La morfoanomalía espermática cola en látigo se comportaron muy similares ( $P>0,05$ ) en los dos intervalos de temperaturas ambientales estudiadas con un promedio de 25.66%

Los espermatozoides con presencia de cola en látigo nos permite determinar que estas anomalías tienen relación directa con el factor temperatura, así en temperatura entre 34,4°C a 37,7°C afectó al espermatozoide en la fase de espermatogénesis y en el momento que se transportó en el epidídimo (Larson 1986; Malmgren 1990; Slaweta y Strezezek et al., 1984), siendo estos resultado diferentes a los obtenidos por los autores citados.

Además estas anomalías también fueron reportadas por De Serrano et al., (1995) quienes demostraron que la temperatura y humedad ejercieron un efecto nocivo sobre este tipo de morfoanomalías espermáticas; otros autores como Fuentes (1992) sostiene que el porcentaje de espermatozoides atípicos promedio es de 13,66% con un rango mínimo de 4,67% y máximo de 22,65%; éstos rangos fueron similares a los obtenidos en el presente estudio.

En trabajos realizados en Argentina en temperatura alta, determinando la calidad seminal del varraco de acuerdo a la temperatura se concluyó una alteración significativa de la morfología espermática (González, 2012). La morfoanomalía gota citoplasmática proximal en relación a la frecuencia de colección fue estadísticamente significativo ( $P<0,05$ ), existiendo mayor porcentaje de morfoanomalía en tres colecciones seminales (7,73%) y la de menor porcentaje de morfoanomalías en una colección seminal (3,31%), (cuadro 21 y figura 7).

La presencia de gota citoplasmática son indicadores que permiten determinar el uso reproductivo que tiene el verraco en la granja, en este análisis espermático gota

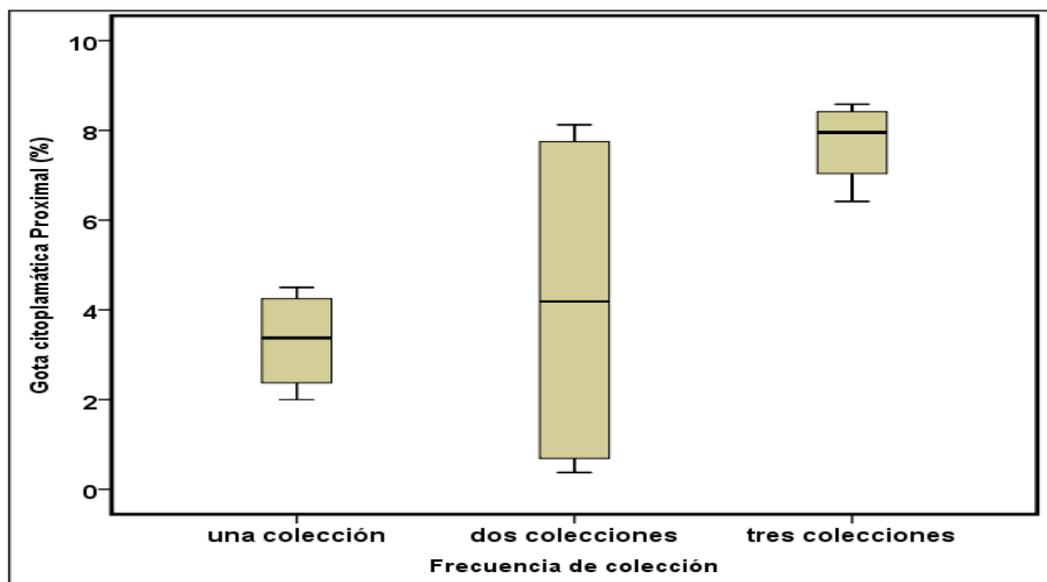
citoplasmática proximal están dentro de los rangos normales 2,2% a 9,4% (Martínez et al., 1992).

En el presente estudio gota citoplasmática distan en temperatura entre 29°C a 32°C (2,49x100%) y en temperatura en 20° a 25°C (0,52%) fueron diferentes ( $p < 0,05$ ) cuadro 22 y figura 8; estos resultados estuvieron dentro de los rangos normales entre 1% a 5% obtenidos por Larson, (1986).

**Cuadro 21: Efecto de la Frecuencia de Colección sobre la morfología de la gota citoplasmática proximal (%) (Experimento 1)**

Frecuencia	Morfología gota citoplasmática proximal (%)
Una colección	3,31 b
Dos colecciones	4,22 ab
Tres colecciones	7,73 a

a/b: en columnas se muestran las significancias asintóticas a un nivel de significancia de 0,05. Prueba de Jonckheere – Terpstra.

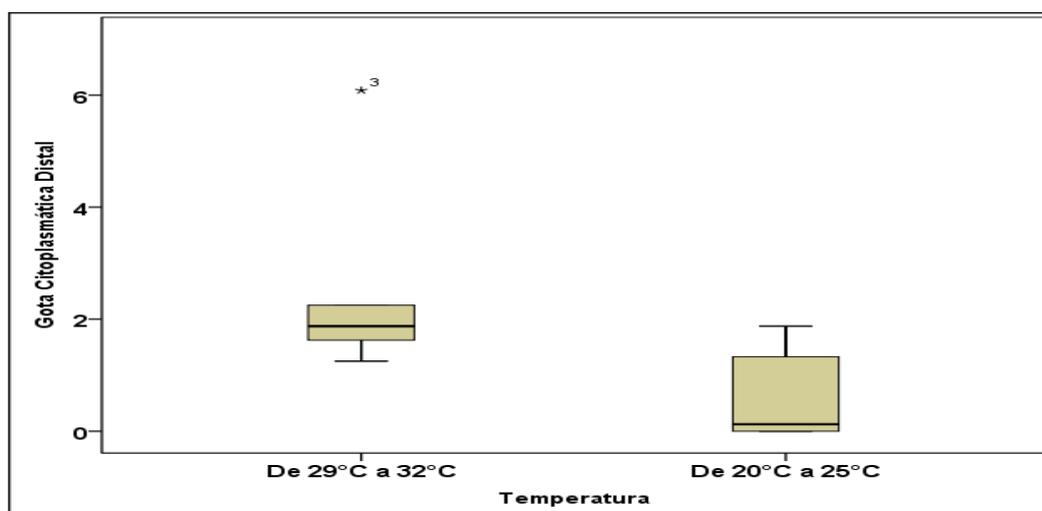


**Fig. 7: Efecto de la Frecuencia de Colección sobre la morfología de la gota citoplasmática proximal (%) (Experimento 1)**

**Cuadro 22: Efecto de la temperatura ambiental sobre la morfología gota citoplasmática distal (experimento 1)**

Temperatura	Morfología gota citoplasmática distal (%)
De 29°C a 32°C	2,49 a
De 20°C a 25°C	0,52 b

a/b: en columnas, muestran las significancias asintóticas a un nivel de significancia de 0,05. Prueba de U Mann – Whitney- Wilcoxon.



**Fig. 8: Efecto de la temperatura ambiental sobre la morfología de la gota citoplasmática distal**

## 4.2. Experimento 2

### 4.2.1. Efecto de la temperatura ambiental y la frecuencia de colección seminal por semana sobre las características del eyaculado en cerdos

Estos resultados se exponen en el cuadro 23 al cuadro 30 y se complementan con el anexo 7 al anexo 10.

#### 4.2.1.1 Características físicas del eyaculado en cerdos: volumen, pH y densidad por efecto de la temperatura

Volumen seminal obtenido en una colección seminal es diferente ( $P < 0,05$ ) a la obtenida en tres colecciones seminales por semana, encontrándose mayor

volumen seminal en esta frecuencia de colección seminal (cuadro 23 y figura 9).

El pH se muestra en el cuadro 24, figura 10 (Anexo 6), el pH fue mayor en temperatura entre 29°C a 32°C en una y tres colecciones seminales por semana a diferencia del pH del eyaculado obtenido en temperatura ambiental de 20°C a 25°C en una frecuencia de colección seminal por semana fue menor.

Estos resultados nos permiten sostener que la temperatura ambiental de 29°C a 32°C es un factor muy importante en el incremento del pH del eyaculado y la frecuencia de colección seminal por semana, también va a incrementar los valores de pH como sostiene Trudeau y Sanford (1986). Existen muchos trabajos sobre el pH del eyaculado de cerdos, existiendo gran variación en los rangos obtenidos por diversos autores; así tenemos un pH que oscila entre 6,5 a 7,5 (Weitze, 2000) y 7,2 a 7,5 (Köning, 1,979) similares valores fueron encontrados por Singleton y Shelby (1972), mientras Strezezek, (2000) encontró valores inferiores a los reportados por dichos autores.

Los cambios de pH en el eyaculado está directamente relacionado con la frecuencia de colección seminal ya que las glándulas sexuales accesorias son determinantes para que el pH del eyaculado del cerdo tenga una reacción alcalina o más acida (King y Macpherson, 2005); estas glándulas intervienen en la composición del eyaculado en 10 a 25%, la vesículas seminales; 15 a 30% las glándulas de Cowper y la próstata de 50 a 70% (Martín 1982; Buxadé 1984; Setchell et al 1994; Luke y Coffey 1994; Garner y Hafez 1993). El pH tiende a incrementarse cuando la frecuencia de colección seminal por semana es mayor a una colección debido a la menor secreción de fluido prostático que posee un pH ácido (Buxadé, 1984).

La densidad del eyaculado fue similar en ambas temperaturas así como en las diferentes colecciones, registrando promedio de 1, 074.

La literatura manifiesta que en climas templados y en meses cálidos el volumen seminal disminuye (Kolembrander y Kemp, 1990) no coincidiendo con lo obtenido en el presente estudio, inclusive superando al promedio normal (218.8 ml) de volumen de eyaculado obtenido por (Graham et al., 1967). En otros trabajos de investigación sostiene que cerdos sometidos a temperatura alta el volumen seminal se mantuvo constante (González, 2002).

El volumen seminal se incrementó conforme se aumenta la frecuencia de colección seminal, diferente a otros autores que sostienen que el volumen disminuye en 20% cuando se realizan dos y tres colecciones por semana (Mazzarri et al., 1969).

En el presente estudio una y tres frecuencias de colección seminal por semana se obtuvo un pH (7,5) dentro de la temperatura de 29°C a 32°C con una tendencia de incrementarse en este intervalo de temperatura inclusive llegando al límite máximo de pH, sin embargo en la temperatura de 20°C a 25°C en una frecuencia de colección seminal el pH fue menor, con respecto a tres colecciones seminales por semana, resultado que no concuerda con lo obtenido por Buxadé, (1984).

### **Cuadro 23: Efecto de la Frecuencia sobre el volumen seminal**

<b>Frecuencia de colección seminal</b>	<b>Volumen seminal(ml)</b>
<b>Una colección</b>	264,900 a
<b>Tres colecciones</b>	355,700 b

a/b: en columnas se muestran las significancias asintóticas a un nivel de significancia de 0,05. Prueba de U Mann – Whitney- Wilcoxon

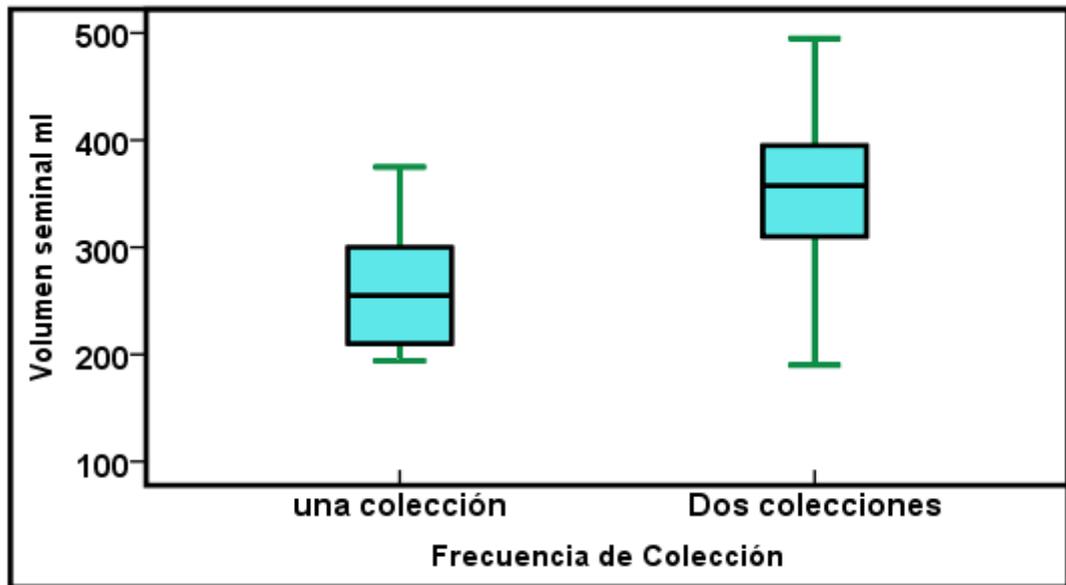


Fig. 9: Efecto de la Frecuencia (una y dos colecciones) sobre el volumen seminal

Cuadro 24: Efecto de la Temperatura del medio ambiente y la frecuencia de colección sobre el pH seminal

Temperatura	Frecuencia de colección seminal por semana	pH
De 29°C a 32°C	Una colección seminal	7,5 a
	Tres colecciones seminales	7,5 a
De 20°C a 25°C	Una colección seminal	7,0 b
	Tres colecciones seminales	7,3 a

a/b: en columnas se muestran las significancias asintóticas a un nivel de significancia de 0,05. Prueba de U Mann – Whitney- Wilcoxon

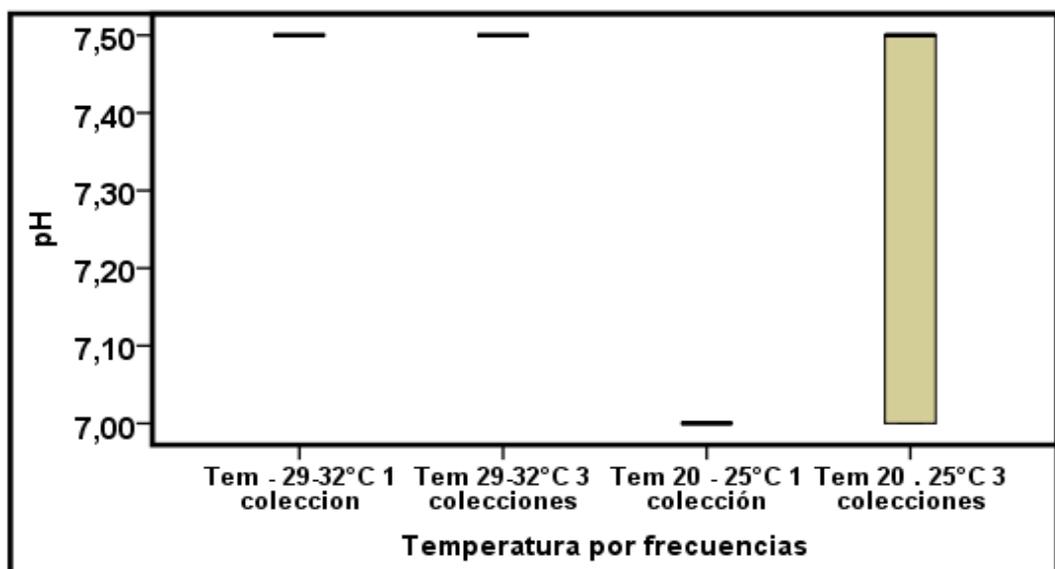


Fig. 10: Efecto de la Temperatura del medio ambiente y la frecuencia de colección sobre el pH seminal

#### **4.2.1.2. Características de los espermatozoides por efecto de la temperatura ambiental sobre la motilidad en masa, motilidad individual, vitalidad, concentración espermática, integridad acrosomal, test de resistencia osmótica y morfoanomalías**

La motilidad, cuadro 25 y figuras 11 y 12; en la motilidad en masa e individual del semen de los cerdos por efecto de la temperatura ambiental por frecuencia de colección seminal por semana (interacción), se comportaron en forma diferente ( $P < 0,05$ ), registrando el menor porcentaje de motilidad en masa (71,70%) e individual (70,30%) en tres colecciones a temperatura de 29°C a 32°C, datos que también lo manifiesta Trudeau y Sandford, (1986) que en meses cálidos la motilidad disminuye; no sucediendo lo mismo en temperatura de 20°C a 25°C.

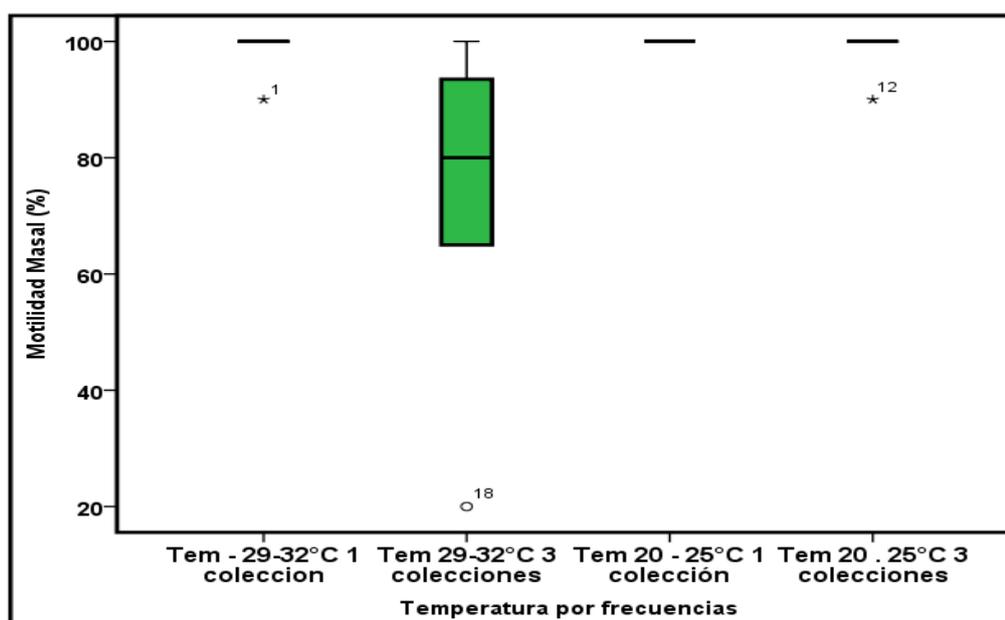
La motilidad espermática en masa e individual tiene una tendencia de disminuir en temperatura de 29°C a 32°C cuando se incrementó la frecuencia de colección seminal y si comparamos estos resultados con la morfología cola en látigo (cuadro 29) siguen la misma tendencia de incrementarse esta anomalía cuando se aumentó la frecuencia de colección seminal en temperatura de 29°C a 32°C; esta alteración espermática va a disminuir el porcentaje de motilidad en masa como individual debido que su estructura del espermatozoide ha sido alterado es decir que la membrana del flagelo que está constituida por regiones donde se lleva a cabo los procesos energéticos como la región que contiene la vaina mitocondrial, parte principal y la pieza terminal (Eddy y O'Brien, 1994); desempeñando la vaina mitocondrial una función importante en el metabolismo aeróbico y el espermatozoide es más eficiente de producir ATP en esta zona (Hafez, 1993), y la energía será tomada para contraerse y propulsar al

espermatozoides; encontrándose una correlación positiva entre la cantidad de ATP en la célula espermática y el movimiento que este realiza (Aalberts et al, 1985).

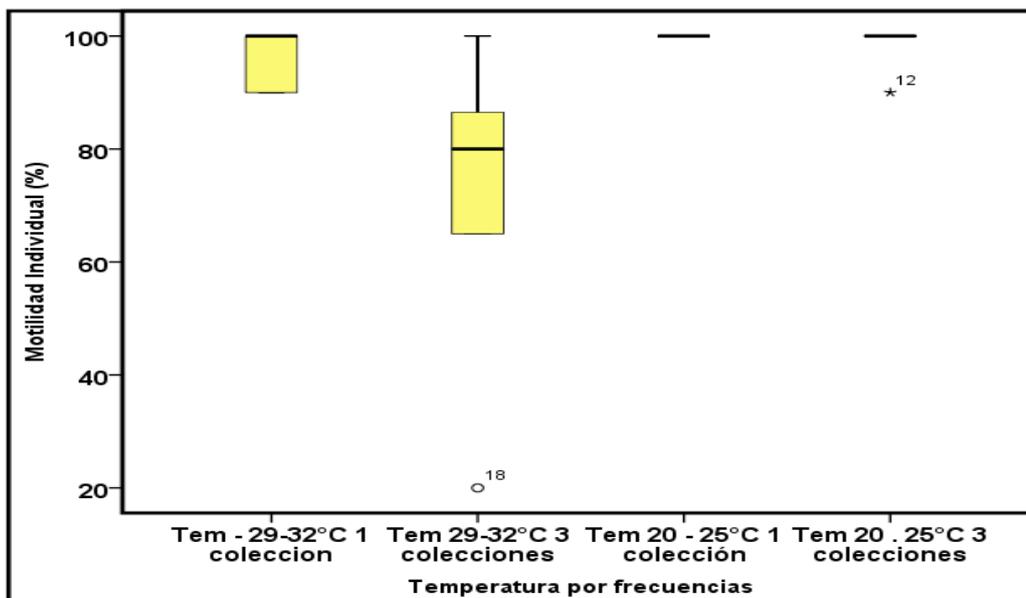
**Cuadro 25: Efecto de la temperatura ambiental sobre la motilidad en masa e individual del semen de los cerdos por efecto de la temperatura ambiental por frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).**

Temperatura	Frecuencia de colección seminal por semana	Motilidad en masa (%)	Motilidad Individual (%)
De 29°C a 32° C	Una colección seminal	98,00 a	96,00 a
	Tres colecciones semanales	71,70 b	70,30 b
De 20°C a 25°C	Una colección seminal	100,00 a	100,00 a
	Tres colecciones semanales	98,00 a	98,00 a

a/b: en columnas se muestra la significancia osmótica a un nivel de significancia de 0,05. Prueba de U Mann – Whitney.



**Fig. 11: Efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección sobre la motilidad en masa**



**Fig. 12: Efecto de la temperatura ambiental y frecuencia de colección sobre la motilidad individual**

El porcentaje de Vitalidad espermática se presenta en el cuadro 26 y figura 13, encontrándose porcentajes diferentes ( $P < 0,05$ ) siendo menor el porcentaje obtenido, cuando los cerdos fueron sometidos a temperaturas entre 29°C a 32°C y se realizó tres colecciones seminales (83,4%) en comparación cuando los cerdos fueron sometidos a temperaturas entre 29°C a 32°C con una colección (90%) y temperaturas de 20°C a 25°C con una colección (97,40%) y tres colecciones seminales (90,5%)

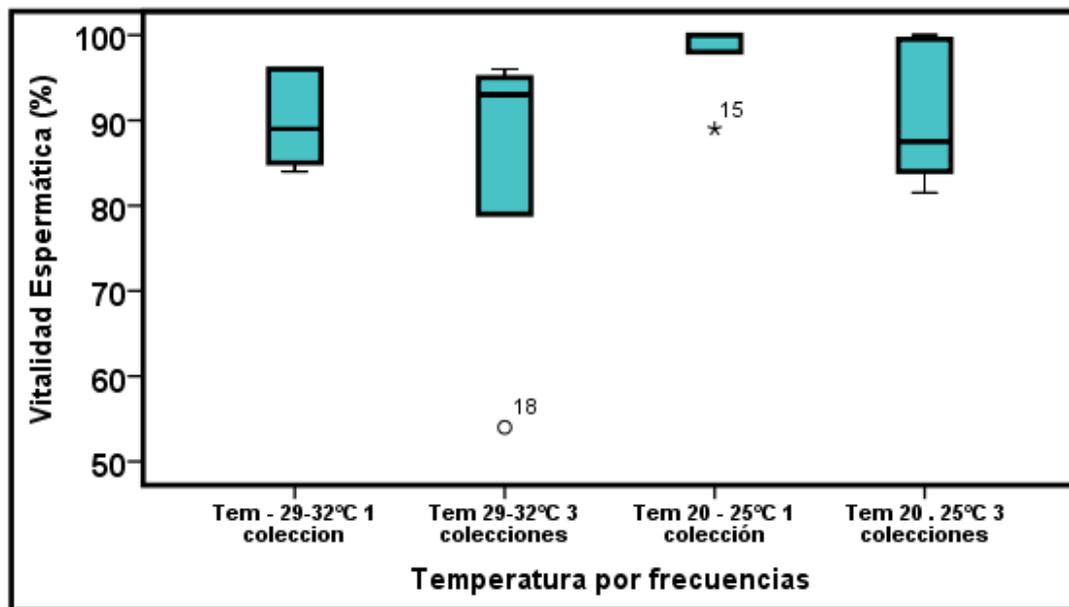
La vitalidad espermática está relacionada con la motilidad progresiva (Hafez, 1993 y Sorensen, 1982) y se encontró que en zonas tropicales la vitalidad espermática fue mayor (Fuentes et al., 1992) y en otros latitudes (Park y Yi, 2002), observándose en el presente trabajo que hay tendencia de disminuir la vitalidad en temperatura de 29°C a 32°C en tres colecciones seminales no ocurriendo lo mismo en temperatura de 20°C a 25°C existiendo relación entre la vitalidad espermática

(cuadro 26) y la motilidad individual (cuadro 25) tal como lo manifiestan (Hafez, 1993 y Sorensen, 1982).

**Cuadro 26: Características de la vitalidad espermática del semen de los cerdos por efecto de la temperatura ambiental por frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).**

Temperatura	Frecuencia de colección seminal por semana	Vitalidad %
De 29°C a 32°C	Una colección seminal	90,00 a
	Tres colecciones seminales	83,40 b
De 20°C a 25°C	Una colección seminal	97,40 a
	Tres colecciones seminales	90,50 a

a/b: en columnas se muestran la similitud, el nivel de significancia de 0,05. Prueba de Kruskal- Wallis.



**Fig. 13: Características de la vitalidad espermática del semen de los cerdos por efecto de la temperatura ambiental por frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).**

La concentración espermática por ml tuvo un promedio  $190,500 \times 10^7$ , no existiendo diferencia estadística ( $p > 0,05$ ) por efecto de la temperatura y la frecuencia de colección seminal por semana. Se conoce que la concentración espermática tiende a disminuir

conforme se incrementa la frecuencia de colección seminal (Mazzarri et al; 1969), lo que no ocurrió en el presente experimento. Igualmente el trabajo realizado por Gonzalez (2002) en temperatura alta la concentración espermática en cerdos se mantuvo constante.

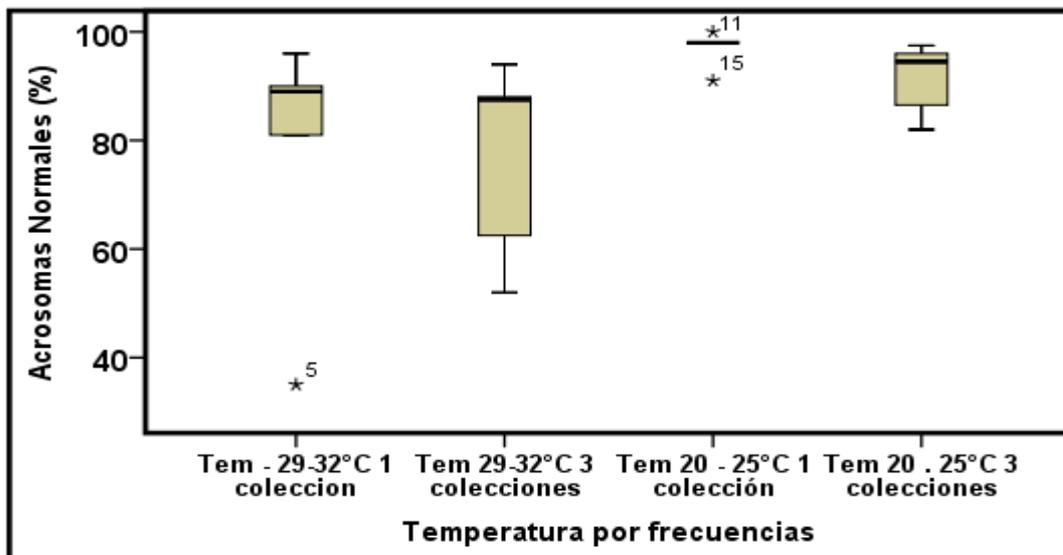
La Integridad del acrosoma se expresa en el cuadro 27 y figura 14, existiendo diferencias ( $p < 0,05$ ), en las temperaturas estudiadas, cuyos porcentajes menores se registraron a temperaturas de 29°C a 32°C en una (78,2%) y tres (76,8%) colecciones semanales, seguido por tres colecciones semanales (91,3%) a temperatura de 20°C a 25°C, obteniendo el mayor porcentaje de integridad a una colección semana a temperatura de 20°C a 25°C. La estructura espermática como en este caso donde la integridad del acrosoma fue afectada por la temperatura tal como lo sostiene Wetterman et al., (1976).

El test de resistencia osmótica fue diferente ( $P < 0,05$ ) en la frecuencia de colección, siendo el mayor porcentaje de resistencia osmótica en una colección semanal (91,6%) comparado con las tres colecciones semanales (78,9%), como está demostrado en la cuadro 28 y figura 15.

**Cuadro 27: Efecto de la temperatura ambiental y la frecuencia de colección seminal por semana sobre la integridad de los acrosomas (experimento 2)**

Temperatura	Frecuencia de colección seminal por semana	Integridad del acrosoma(%)
De 29°C a 32° C	Una colección seminal	78,20 c
	Tres colecciones semanales	76,80 c
De 20°C a 25°C	Una colección seminal	97,00 a
	Tres colecciones semanales	91,30 b

a/b: en columnas se muestra las significancia a un nivel de significancia de 0,05

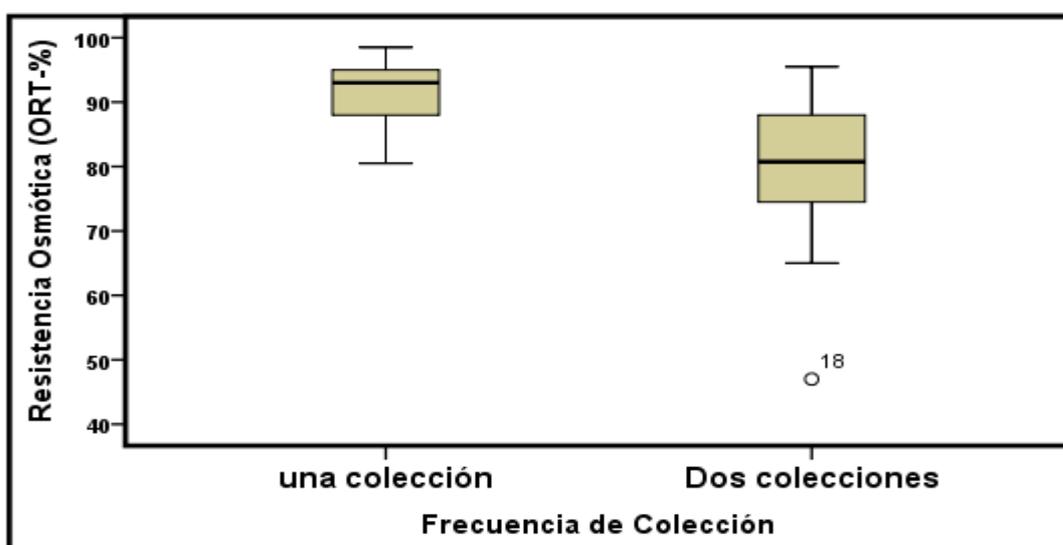


**Fig. 14: Efecto de la temperatura ambiental y la frecuencia de colección seminal por semana sobre la integridad de los acrosomas (experimento 2)**

**Cuadro 28: Efecto de la frecuencia de colección seminal por semana sobre el test de resistencia osmótica (experimento 2)**

Frecuencia de colección	Test de resistencia osmótica (%)
Una colección	91,60 a
Tres colecciones	78,90 b

a/b en columnas se muestran las significancias a un nivel de significancia de 0,05. Prueba de U Mann – Whitney.



**Fig. 15: Efecto de la frecuencia de colección seminal por semana sobre el test de resistencia osmótica (experimento 2)**

Las morfoanomalías se presentan en el cuadro 29, figura 16 (anexo 12), existiendo diferencias ( $P < 0,05$ ) por efecto de la temperatura ambiental para las morfoanomalías; cola en látigo y gota citoplasmática proximal cuadro 30 y figura 17, esto no sucedió en la morfoanomalía gota citoplasmática distal que se comportaron similar ( $P > 0,05$ ) en ambas temperaturas estudiadas; cuyo promedio fue (3,05%).

Una de las características que más fue afectada por efecto de la temperatura es la presencia de cola en látigo en la estructura espermática, estas lesiones espermáticas se pueden producir en la espermatogénesis y en el recorrido que realiza el espermatozoide a través del epidídimo (Larson 1986; Malmgren 1997; Slaweta y Strezezek, 1984).

La morfología gota citoplasmática distal y proximal se encuentran dentro de los rangos normales establecidos por (Martínez et al., 1992; Larson, 1986). Es importante destacar que la morfoanomalía cola en látigo tiene una interacción ( $p < 0,05$ ) entre temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana y se observa la significatividad ( $P < 0,05$ ) que existe entre una y tres frecuencias de colección seminal por semana en temperatura ambiental entre 29°C a 32°C. Es decir que estos dos factores se suman para incrementar esta morfoanomalías espermáticas.

**Cuadro 29: Morfoanomalías espermáticas, cola en látigo, por efecto de la temperatura ambiental \* Frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).**

Temperatura	Frecuencia de colección seminal por semana	Morfología cola en látigo (%)
De 29°C a 32° C	Una colección seminal	19,40 b
	Tres colecciones seminales	70,30 a
De 20°C a 25°C	Una colección seminal	6,00 bc
	Tres colecciones seminales	3,00 c

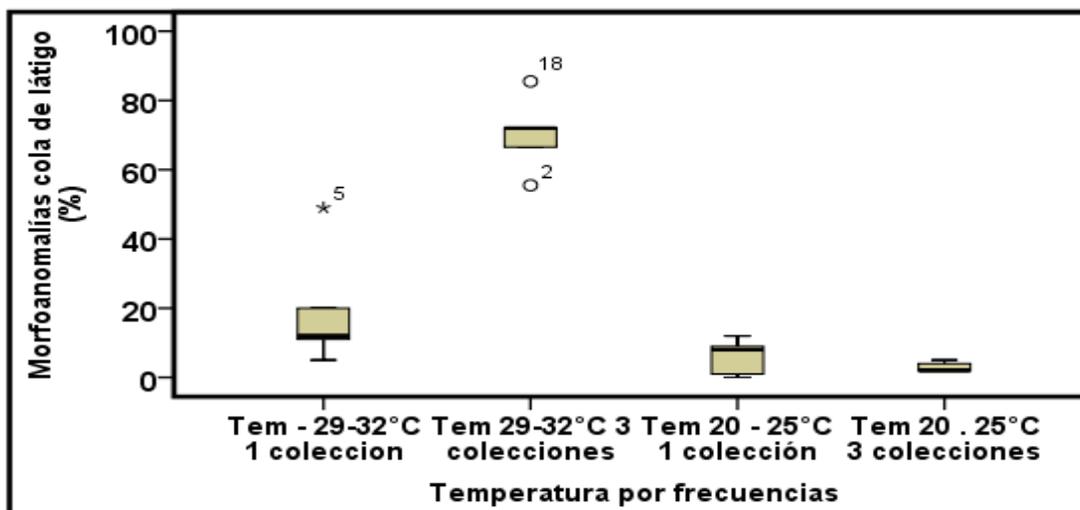


Fig. 16: Morfoanomalías espermáticas, cola en látigo, por efecto de la temperatura ambiental \* Frecuencia de coleccion seminal por semana (experimento 2).

Cuadro 30: Efecto de la temperatura ambiental sobre la morfología de la gota citoplasmática proximal. (Experimento 2)

Temperatura	Morfología gota citoplasmática proximal (%)
De 29°C a 32°C	4,80 a
De 20°C a 25°C	0,60 b
Promedio	2,70

a/b: en columnas se muestran las significancias asintóticas a un nivel de significancia de 0,05. Prueba de U Mann – Whitney.

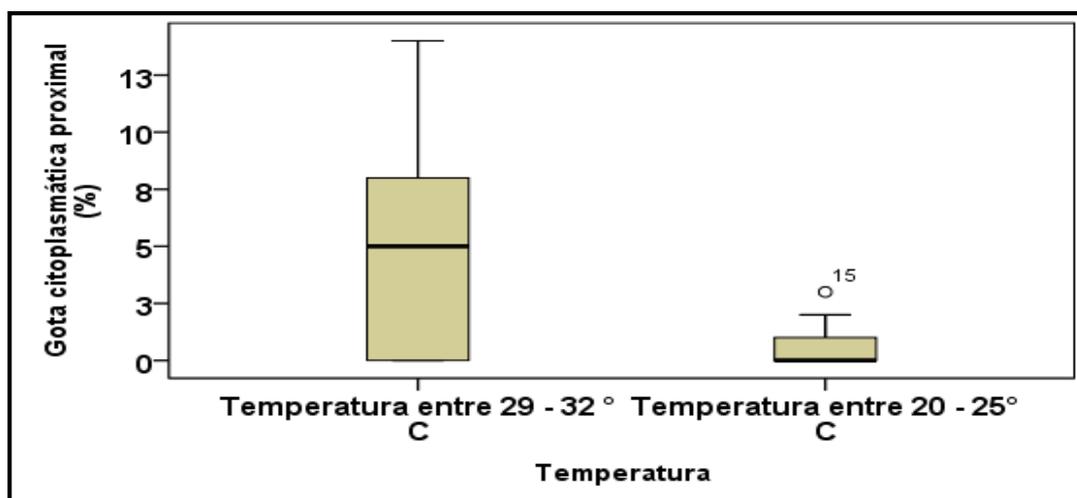


Fig. 17: Efecto de la temperatura ambiental sobre la morfología de la gota citoplasmática proximal. (Experimento 2).

## CAPÍTULO V

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Conclusiones

- La temperatura ambiental entre 29°C a 32°C no afectó las características físicas (volumen, pH y densidad) del eyaculado, el volumen seminal aumentó cuando la frecuencia de colección seminal fue de tres colecciones por semana.
- La temperatura ambiental de 29°C a 32°C originó una disminución de motilidad en masa, motilidad individual, integridad del acrosoma, test de resistencia osmótica, y aumentó la morfología espermática (cola en látigo).
- La concentración espermática disminuyó al incrementar la frecuencia de colección seminal a tres colecciones seminales por semana en ambas temperaturas estudiadas.

## **5.2. Recomendaciones**

En las condiciones y la localidad donde se llevó a cabo el estudio se recomienda:

- Realizar una colección seminal por semana a los verracos que se encuentran en el distrito de Reque – Lambayeque.
- En época de verano en el distrito de Reque, Departamento de Lambayeque investigar el efecto de la GnRh en cerdos sobre la calidad espermática (volumen seminal, ph, densidad, motilidad en masa, motilidad individual, concentración espermática, vitalidad, integridad acrosómica, test de resistencia osmótica, morfología cola en látigo, gota citoplasmática proximal y gota citoplasmática distal).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aalbers, G.; Johnson, A.; Aalberts-Smith, A. y M. Rademaker, (1985). "ATP content of fresh and frozen – thawed boar semen and its relationship to sperm concentration and fertility". En: Deep freezing of boar semen. Univ. Agric. Sci. 1985, pp. 259-264.
- Anderson, L. y E. Hafez, (1993). Reproduction in Farm Animals. Sexta edición. Philadelphia, Lea y Febiger.
- Bamba, K., (1988). "Evaluation of acrosomal integrity of boar spermatozoa by bright field microscopy using an eosin nigrosin." En: Theriogenology. Volumen 29, número 6, 1988, pp. 1245-1252.
- Bonet, S. y M. Britz, (1991). "New data on aberrant spermatozoa in the ejaculate of *Sus domesticus*". En: Theriogenology, número 36, 1991, pp. 725-730.
- Buxadé, C., (2013). Ganado Porcino: Sistemas de Explotación y Técnicas de Producción. Segunda edición. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa.
- Brucker, C. y G. Lipford, (1995). "The human sperm acrosome reaction: physiology and regulatory mechanisms". En: Hum. Rep. Upd. Vol. 1, pp. 51-62.
- Cameron, P., (1995). "Factors influencing semen characteristics in boars". En: Australian Veterinary. 1995, pp. 293–297.
- Ciereszko, A.; Glogowski, J.; Demianowicz, W.; y J. Strzezek, (1994). "Stimulation of aspartate aminotransferase from farm animal semen by pyridoxal 5'-phosphate". En: Animal. Reproduction. Science, número 34. 1994, pp. 327–341.
- Conejo, N. (1991). "Manual de Inseminación artificial de ganado porcino con semen diluido". Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo, pp. 45.
- Córdova, A.; Córdova-Jiménez, A. y S. Córdova-Jiménez, (2007). "Control Reproductivo del Verraco". En: Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana - México, número 18. 2007, pp. 65-69.
- Cooper, W (1980). "Artificial breeding of horses". En: The veterinary clinics of North America. Volumen 2 número 2, pp. 267-274.
- Correa, J. y P. Zavos, (1994). "The hypoosmotic swelling test its employment as an assay to evaluate the functional integrity of the frozen thawed bovine sperm membrane". En: Theriogenology, vol 42, pp.351-360.
- Crabo, G.; Zimmerman, J.; Moore, R. y H. Thornburgh, (1976). "Movement of sodium and potassium into ejaculated boar spermatozoa suspended in seminal plasma and a biological salt solutions". En: *Bioch. Biophys.* 1976, pp. 875-885.

- Chan, Y.; Fox, J.; Chan, M.; Tsoi, W.; Wang, C.; Tang, C.; Tang, W. y P. Ho, (1985). "The relationship between the human sperm hypoosmotic swelling test, routine semen analysis, and the human sperm zona-free hamster ovum penetration assay". In: *fertile. Steril.* Número 44. 1985, pp. 668-672.
- Chemineau, P. (1993). "Medio ambiente y reproducción". En: revista *EAR/RMZ*, número 4, 1993. Pp. 2-14.
- Dadoune, F.; Demoulin, A.; Thibault, C.; Levausser, C.; y F. Hunter, (1993). Structure and function of the testis. En: *Reproduction in Mammals and Man, Ellipses.* 1993, pp. 227-256.
- Gonzalez, M., (2012). Variación de la calidad seminal del verraco de acuerdo a la época. Argentina. Editorial Académica española.
- De Kretser, M. y B. Kerr, (1994). *The cytology of the testis.* New York, Editorial Raven Press.
- De Rooij, G.; Schrans–Stassen, B.; Van Pelt, M.; Shuttles-Worth, A.; Miestrich, C.; y, Nishimune, (2000). Regulation of the differentiation of the undifferentiated spermatogonia. New York, Editorial Springer Verlag,
- De Serrano, L.; Fuente, A.; Valle, A.; C. Regueiro, (1995). "Estudio de las anomalías espermiáticas del verraco en relación con raza, tipo y época en Venezuela". En: *Zootecnia Tropical*, volumen 14, pp. 485-489, disponible en [http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas\\_ci/ZootecniaTropical/zt1401/texto/anormalidades.htm](http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/ZootecniaTropical/zt1401/texto/anormalidades.htm)
- Devlin, M., (2004). *Bioquímica.* Cuarta edición, España. Editorial Reverte S.A.
- De Vries, J. y B. Kolebrander, (1990). "Isolation and characterisation of boar spermatozoa with and without a cytoplasmic droplet" In: *J. Biochem*, number 22. 1990, pp. 519-524.
- De Vries, O. y H. Ericsson, (1966). "Osmotic swelling of mammalian spermatozoa". En: *Experimental Cell Research*, volumen 42, pp. 136-156.
- Díaz, O.; Masa, H; Valencia, J.; Gómez, G. y F. Enero, (2009). "Evaluación de la integridad acrosomal y la funcionalidad bioquímica de la membrana espermiática en cerdos reproductores con gotas citoplasmáticas persistentes". En: *Revista científica.* Año 19, número 5 octubre 2009, pp. 500-505.
- Eddy, E. and D.O'Brien, (1994). *The physiology of reproduction.* E.U. 2da. Ed. USA. Editorial Knobil and J.D. Neil. Raven Press.
- Esponda, P., (1985). *Spermatogenesis and spermatozoa in mammals.* Servicio Editorial Universidad del País Vasco.

- Esteves, C.; Sharma, K.; Thomas, J. y A. Agarwal (1998). "Effect of in vitro incubation on spontaneous acrosome reaction in fresh and cryopreserved human spermatozoa". In: *J. fertility* volumen 43, pp 235-242.
- Evenson, P.; Parks, E.; Kaproth, I. y K., Jost, (1993). "Rapid determination of sperm cell concentration in bovine semen by flow cytometry" En: *journal of Dairy Science*, number 76. 1993, pp. 86-94.
- Fraser, R. (1995). "Ionic control of sperm function". En: *Reproduction. Fertility and Development*, number 7, pp. 905-925.
- Fuentes, A.; De Serrano, G.; Manzo, M.; Regueiro, C. y A. Valle, (1992). "Effect of season on semen traits of boar in the tropics". En: *zootecnia Tropical*, Año 10, número 1. 2009, pp.51- 64.
- Galli, A.; Basetti, M.; Balduzzi, D.; Martignomi, M.; Bornaghi, J. y M., Maffii, (1991). "Frozen bovine semen quality and bovine cervical mucus penetration test". En: *Theriogenology*, number 35. 1991, pp. 937-844.
- Garner, D. y Hafez, (1996). *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. Mc Graw-Hill.
- Gatti, L.; Chevrier, C.; Paquignon, M. y L. Dacheux, (1993). "External ionic conditions, internal pH and motility of ram and boar spermatozoa". En: *Journal of Reproduction and Fertility*, number 98. pp. 439-449.
- Graham, F.; Thompson, L. y W. Neville, (1967). "Physical, physico-chemical and chemical characteristics of boar semen". En: *University of Minnesota*, pp. 3-11.
- Garfen, R.; White, B.; Gotta, M. y M. Wheeler (1993). "Comparison of the semen characteristics of fenying Meishan and Yorkshire boars". In: *Theriogenology*, volume 41, pp 461-469.
- Hacker, R.; Z. Du and J. D'arey, (1994). Influence of penning type and feeding level on sexual behavior and feet and sounders in boars, in *journal animal science* volumen 72, pp 2531-2537.
- Hafez, E. (1993). *Reproducción e Inseminación Artificial en animales*. Sexta edición, Mc. Graw – Hill Interamericana.
- Harayoma, H.; Kanda, S. Y S. Kato, (1992). Influence de season in characteristics of epididymal and ejaculated semen in Meishan boars, in *theriogenology* volume 38, pp 491-500.
- Harrison, P. (1996). "Capacitation mechanisms and role of capacitation as seen in eutherian mammals". En: *Reprodu. Fertil*, número 8. 1996. Pp. 581-594.
- Hecht, B. (2000). *Spermatogenesis after the millennium. The testis. Stem Cell to Sperm Function* Springer-Verlag. New York, Inc. 10-20.

- Hammit, G. y A. Martin, (1989). "Correlations among assays of porcine semen quality following cryopreservation". En: *theriogenology*, número 32. 1989, pp. 369-384.
- Hernández, J., (1998). Variación anual de la calidad del semen porcino y su relación con parámetros reproductivos. Tesis para magister Sc., España, Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Holt, W., (1982). "Epididymal origin of a coiled- tail sperm defect in a boar". En: *Journal of Reproduction and Fertility*, volumen 64, pp. 485-489.
- Hurtger, P., (1986). "Mating Systems and boar management. Current Therapy". En: *Theriogenology*. Morrow, DA, pp. 978-980.
- Hurtger, J.; Larsen Y. y B. Crabo. (1980). "Factors affecting the semens quality in the borrad". En: *Cong. Reprod. Artif. Insem.* 3: 271 - 276
- Hughes, E., y A., Varley, (1984). *Reproducción del Cerdo*. Zaragoza, Editorial Acribia.
- Ivanova, M., y M. Mollova, (1993). "Zona-penetration in vitro test for evaluating boar sperm fertility". En: *Therogenology*, número 40. 1993, pp. 397-410.
- Iyer, K.; Daron, H. y Aull, JL. (1988). "Purification and properties of alkaline phosphatase from boar seminal plasma". En: *J. Reprod. Fétil*, número 82. 1998, pp. 657-664.
- Jaiswal, B.; Dayag, A.; Kaspas, I.; y M. Eisenbach (1998). "Sperm capacitation 15, after all, a prerequisite for both partial and complete acrosome reaction". En: *Febs. Letters*". Volume 427, pp 309-313.
- Jones, R. y A. Bubb, (2000). "Substrates For endogenous metabolism by Mature Boar Spermatozoa". En: *Journal of Reproduction and Fertility*, volumen 119, pp. 129-135.
- Jones, A y M.; Montague M., (1991). "Metabolism of fructose-1-6- bisphosphate by mature boar spermatozoa". En: *Reproduction, fertility and development*, volumen 3, pp. 609-613.
- Kamp, G.; Busselmann, G.; Wiesner, B. y J. Lauterwein (2003) "Energy metabolism and intracellular pH in boar Spermatozoa" En: *reproduction*, volume 126, pp. 517-525."
- Kaplan, M.; Russell, LD., Peterson, RN. y J. Martan, (1984). "Boar Sperm cytoplasmic droplets That epididymis and at eyaculation and their removal during isolation of sperm plasma membranas". En: *Tissue*, volume 16, pp. 455-468.
- Kemp, B.; Baiker, G.; Hartog D. y A. Verstegen (1991). "The effect of semen collection frequency and food intake en semen production in breeding boars". En: *Cambridge Journals*, volumen 52. Abril 1991, pp. 355-360.

- King G. y J. Mcpherson, (1973). "Comparison of two methods for boar semen collection". En: *Journal of Animal. Science*, volumen 36, pp. 563-565.
- King, J y W. McPherson, (2005). "Alkaline and Acid Phosphatase Activity, pH and osmotic Pressure of boar semen". En: *can J. comp. Med. Vet. Science*. Vol. 30, pp. 304-307.
- Kraft, H; y D. Schillinger, (1998). *Métodos de laboratorio clínico en Medicina Veterinaria de mamíferos domésticos*. Tercera edición. Zaragoza, Editorial Acribia S.A.
- Köning, I. (1979). *Inseminación de la cerda* Zaragoza Acribia.
- Kolebrader, B. yB. Kemp, (1990). "Factors influencing semen quality in pig" en *Journal of Reproduction and Fertility*, volumen 40, pp. 105–115.
- Kubus, S.A. (2001). *Primer Taller de Técnicas de Laboratorio en la Inseminación Artificial Porcina*. Lima-Perú.
- Kuist, U. y Bjorndahl. (2002). "Manual on Basic Semen Analysis". En *Eshre Monographs*, Oxford University Press.
- Kunavongkrit, A. (1990). "Influence of ambient temperature on reproductive efficiency in pigs": Boar semen quality. En: *pig Journal*. Vol. 35, pp. 43-47.
- Larsson, K. (1986). "Evaluation of boar semen. Current therapy". En *Theriogenology*, pp. 972-975.
- Lindemann, C. y K. Kanous, (1989). "Regulation of Archives of Andrology", volumen 23, pp.1-22.
- Luke, M y D. Coffey, (1994). "The male sex accessory tisúes: structure, androgen action, and physiology. *The Physiology of Reproduction*". En: *Raven Press*, pp. 1435-1488.
- Mackinon, J. (2006). "Infertilidad Estacional en Porcinos". En *Med. Vet.*, 7, pp.1-7.
- Malmmgren L. (1997). "Assesing the quality of raw semen" In: revista *Theriogenology* pp. 523-530.
- Mann, T y C. Letwamann, (1981). *Male reproductive fuction and semen*. New York, Editorial Springer-Verlivery Heidelberg.
- Martin, S. (1982). *Reproducción e Inseminación Artificial Porcina*. Barcelona, Editorial Aedos.
- Martínez, E.; Ruiz, S.; Roca, J.; Vásquez, M. y P. Coy, (1992a). "Nuevas técnicas en contrastación seminal porcina". En *Med. Vet.*, 9, pp.71-83.

- Martínez, E.; Vázquez, J.; Roca, J. y S. Ruiz, (1992b). "Use of real-time ultrasonic scanning for the detection of reproductive failure in pig herds". En: *Animal Reproduction Science*, volumen 29, pp. 53-59.
- Mazzarri, G.; Mesnil Du Buisson, R. y R. Ortavant, (1969). "Action de la temperatura et de la lumiere sur la spermatogenese, la production et le pouvoir fecondant dy serme chez le verrat". En: *Journée de Recherche Porcine France*, volumen 37, pp.109.
- Mazzarri, G. y A. Fuentes, (1978). "Características Espermáticas de los verracos bajo condiciones tropicales". En *Ciencias Veterinarias*, número 4, pp.1133 – 1139.
- Montgomery, D., (2000), *Diseño y Análisis de experimento*. Segunda edición. México. Editorial Limsa S.A.
- Nääs, A.; Expelo C.; Salgado, D.; Lisboa, N. y R. Muñiz, (2000). "The use of tans en board housing under tropical condition". In: *Proceedings of the 17th Congress of International Pig Veterinary Society*, pp. 612.
- Pace, M., (1980). "Fundamentals of assay of spermatozoa". En: *Congress on Animal Reproduction*, volume 1, pp. 133-146. Madrid.
- Palacios, A., (1993). "Uso de la computadora en la evaluación de semen". *Vet. Méx.*, volumen 24, pp. 93-95, disponible en [http:// www. medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-1993/vm932b.pdf](http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-1993/vm932b.pdf).
- Park, C. and J. Yi, (2002). "Comparison of semen characteristics, sperm freezability and testosterone concentration between Duroc and Yorshire boars during seasons". En: *Animal Reproduction Science*. Vol. 73, N° ½, pp. 53-61.
- Parrish, R. y L. Polakoski, (1981) "Stimulation of proteolytic activity of boar sperm acrosin by divalent metal ions". In: *J. reprodod. Fétil*, volume 62: pp. 417-422.
- Peter, W., (1980). "The system of boar performance testing in central stations". En: *9th International Congress on Animal Reproduction and Insemination Artf*, volumen 3, pp. 264.
- Pinart, E.; Sancho, S.; Briz, M.; Bonet, S. y G. Badia, (1999). "Efficiency of the process of meiosis in scrotal testes of Lealthy boars and unilateral abdominal crytotehid boars". En: *Theratology*, número 60, pp. 209-214.
- Pond, W. Yes J.; Manrer, R. y R. Christenson, (1981). "Effect of doubling daily energy intake during the last two weeks of pregnancy on pig birth weight survival and weaning weight" en *J. Anim. Sci.*, número 52, pp. 535–541.
- Pursel, V. Rexroad, C. y R. Wall, (1984). "Relationship of competitive fertility to quality of boar semen". *Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination*, número 2, pp.63-65.

- Robaire, B., (1999). "Fitty years of insight into the seminiferous epithelium; a tribute in Yves W. Clorment A: Gagnen, C. (id). The Male Gameli: from Basic Stence to Clinical Appilcations". En: Cache River Press, pp. 1-4.
- Rodríguez, G. y T. Rigau, (1995). "Effects of Slight Agitation on the quality of Refrigerated boar Sperm". En: animal Reproduction Science, número 39, pp.141-146.
- Rodríguez, M. y M. Wallgren, (2000). "Factores que influncian la calidad espermática en verracos en inseminación artificial en suinos". En: III simposio internacional Minitub. Flors da Cunha – RS- Brasil pp. 34-41.
- Rillo, S.; Martínez, E.; García, A. y C. de Alba, (1996) "Boar semen evaluation in practise en Reprod". In: Dom. Anim. Volumen 31. Pp. 513-526.
- Rius, F. y F. Barón, (2005). Bioestadística. España. Editorial Thomson. Editores Spain.
- Salisbury, G. Van Demark, N. y J. Lodge, (1978). Physiology of Reproduction and artificial insemination of cattle. San Francisco, Editorial Freeman and Company.
- Schilling, E.; Vengust, M. y D. Smidt, (1984). "A new test to predict the freezability and storage of boar spermatozoa". In: Proceedings of the 8th International Pig Veterinary Society Congress, Agosto 1984, pp.296.
- Senamhi, (2008). Registro de la temperature y humedad relative en el distrito de Reque – Lambayeque. Robaire 1999.
- Senamhi (2008). Dr02.lambayeque 2 senhami.gob.pe pág.web [www.senhami.gob.pe.e-mail\\_senhami\\_y\\_senhami.gob.pe](http://www.senhami.gob.pe.e-mail_senhami_y_senhami.gob.pe).
- Setchell, B.; Maddocks, S., D. Brooks, (1994). "Anatomy, Vasculature, inervation and fluids of the male reproductive tracts. The Physiology of Reproduction". En Raven Press, pp. 1063-1076.
- Slaweta, R. y J. Strzezek, (1984). "The season of year and biological properties of preserved boars semen", pp. 619-622.
- Singleton, and R. Shelby; (1972). "Variation among boars in semen characteristics and fertility". En: Journal of animal science. Vol. 34, N° 5, pp. 762-777.
- Strzezek, J., (2000). "Effect of deplettron tets on the composition of boar semen". En: Theriogenology vol. 54, pp. 949-963.
- Söderquist, L. y K. Larsson, (1985). "Relationship between ATP content and post thaw motility in bull semen". In: Acta veterinaria Scandinava, pp. 308-312.
- Söderquist, L. y E. Stalhammar, (1991). "Relation between ATP Content and Motility in Bovine Spermatozoa With Reference To the Effects of the Bull". In: Acta veterinaria Scandinava, pp. 353-359.

- Sorensen, A., (1982). Reproducción animal principios y prácticas. México, Editorial Mc Graw Hill.
- Storey, T. (1975). “Energy metabolism of spermatozoa Jv. Effect of calcium on respiration of mature epididymal sperun of therabbit”. In: boil. Reprod., number 13, 1975, pp.19.
- Strzezek, J. y R. Slaweta, (1984). “Application of chosen biochemical indexes for biological quality of boar semen stored”. In: International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Junio 1984, pp. 67-69.
- Tardif, S. (1999). “The importance of porcine sperm parameters on fertility in vivo”. In: Theriogenology. Vol. 52, pp. 447-459.
- Trudeau, V. y L Sanford. (1986). “Effect of season and social enviroment on testis size and semen quality of the adult landrace boar”. En: Journal of Animal Science, volumen 63, pp. 1211- 1219.
- Waberski, D.; Weitze, K.; Gleumes, T.; Schwarz, M.; Willmen, T. y R. Petzoldt, (1994). “Effect of time of insemination relative to ovulation on the fertility with liquid and frozen boar semen”. En: Theriogenology, número 42, pp.831-840.
- Weitze, K. y R. Petzoldt, (1992). “Preservation of semen”. In: .Anim. Reprod. Sci., volumen 28, pp. 229 – 235.
- Weitze, F., (2000). “Infertilidad estacional en suinos”. En: III Simposio internacional Inseminación artificial en siunos. Universidad Federal de Rio Grande do sur. Brasil, pp. 50-55.
- Wettermann, R. Wella, M.; Omtvedt, T.; Pope, C. y E. Turman, (1976). “Influence of elevated ambient temperature on reproductive performance of boards”. En: Journal of Animal Science, volumen 42, pp.664 – 669.
- Wiseman, J.; Varley M. Y J. Chadwick, (1998). “Progress in pig science”. Nottingham University press.
- Wolders, H., (1991). “Overview of in vitro methods for evaluation of semen quality”. Reproduction in Domestic Animals, pp. 145-164.
- Wollmann, B., (2002). “Differences in sperm output in boar according to season”. En: Congress of the international pig veterinary society. Ames. Iowa. pp. 664.
- Xu, X.; Ding, J.; Seth, P. Harbison, S. Y G. Foxcroft, (1996) “In vitro matured pig oocytes: Effects of boar and eyaculate fraction”. En: theriogenology, volume 45, pp. 745-755.
- Yanagimachi, R., (1994). “Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity”. Zygote, volumen 2, pp. 371-372.

Yanagimachi, R., (1994). "Mammalian fertilization, en the Phisiology of Reproduction". 2da. USA. Editorial Knobil and I.D. Neil. Reven Press.

Yeste, M.; Briz, M.; Pinart, E.; Sancho, S.; Bussalleve, E. y S. Bonet (2010) "The osmotic tolerance of boar spermatozoa and its usefulness as sperm quality parameter". En: Animal Reproduction, Seience, vol 119, pp. 265-274.

Zaizcidoncha, F.; De Alba, C.; Marigorta, P.; Corcuera, B. y S. Martin, (1994). "Estudio de la Calidad del Semen del verraco a través de la evaluación de parámetros bioquímicos". En: Técnicas de contrastación seminal, número 24, enero- abril 1994, pp. 57-76.

Zaneveld, D., (1976). Sperm enzyme inhibitors as antifertility agents.

## **ANEXOS**

**Anexo 1: Estadígrafos de las características espermáticas de los verracos por efecto de la temperatura ambiental (experimento 1).**

Temperatura		Concentración espermática +(ml)	Volumen Seminal (ml)	Motilidad en Masa (%)	Motilidad Individual (%)	Vitalidad Espermática (%)
De 29°C a 32°C	Promedio	3,2694E8	230,4517	72,7425	74,9300	74,38083
	Kurtosis	-0.770	-1,572	-1,715	4,681	0,252
	Varianza	1,410E17	1969,105	264,500	159,814	291,337
De 20°C a 25°C	Promedio	94744444,4450	233,4517	90,1040	89,6517	87,98500
	Kurtosis	3,560	-2,030	0,352	,616	0,132
	Varianza	4,970 E15	2050,243	46,697	45,777	47,489
Total	Promedio	2,1084E8	231,9517	81,4233	82,2908	81,18292
	Kurtosis	3,363	-1,527	0,829	4,148	1,690
	Varianza	8,107E16	1829,431	223,659	152,558	204,487

Temperatura		Acrosomas normales (%)	Test Resistencia Osmótica (%)	Morfología Espermática cola de látigo (%)	Gota citoplasmática Proximal	Gota Citoplasmática Distal	pH	Densidad Seminal
De	Promedio	55,8050	48,40967	31,60417	6,20817	2,49300	7,627917	1,012375
29°C a	Kurtosis	0,849	0,778	-0,777	-1,318	5,273	-0,051	0,389
32°C	Varianza	412,523	412,450	268,878	5,511	3,208	0,011	0,000
De	Promedio	81,2983	71,61417	19,71467	3,96417	,57583	7,583333	1,012825
20°C a	Kurtosis	2,059	1,427	0,976	-2,159	-0,796	6,000	3,960
25°C	Varianza	71,684	179,150	86,525	11,568	0,672	0,042	0,000
	Promedio	68,5517	60,01192	25,65942	5,08617	1,53442	7,605625	1,012600
Total	Kurtosis	-0,489	-0,497	-0,603	-1,574	5,189	2,898	3,491
	Varianza	397,342	415,759	200,099	9,136	2,766	0,024	0,000

**Anexo 2: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la temperatura ambiental (experimento 1).**

	<b>Hipótesis Nula</b>	<b>Test</b>	<b>Sig.</b>	<b>Decisión</b>
1	La distribución de la concentración espermática (ml) es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,337	Retener la hipótesis nula
2	La distribución de Volumen Seminal (ml) es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,749	Retener la hipótesis nula
3	La distribución de Motilidad en Masa (%) es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,037	Rechazar la hipótesis nula
4	La distribución de motilidad individual (%) es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,010	Rechazar la hipótesis nula
5	La distribución de vitalidad Espermática (%) es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,128	Retener la hipótesis nula
6	La distribución de Acrosomas Normales (%) es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,037	Rechazar la hipótesis nula
7	La distribución de Test de resistencia Osmótica (%) es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,05	Rechazar la hipótesis nula
8	La distribución de morfología Espermática Cola de Látigo (%) es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,262	Retener la hipótesis nula
9	La distribución de gota Citoplasmática proximal es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,262	Retener la hipótesis nula
10	La distribución de gota Citoplasmática distal es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,024	Rechazar la hipótesis nula
11	La distribución de pH es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,104	Retener la hipótesis nula
12	La distribución de Densidad Seminal es la misma entre las categorías de la temperatura	Prueba de U Mann-Whitney	0,872	Retener la hipótesis nula

**Anexo 3: Estadígrafos de las características espermáticas de los verracos por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana (experimento 1)**

Frecuencia de colección		Concentración espermática +(ml)	Volumen Seminal (ml)	Motilidad en Masa (%)	Motilidad Individual (%)	Vitalidad Espermática (%)
una colección	Promedio	3,4700E8	226,5625	80,9375	86,5625	86,12500
	N	4	4	4	4	4
	Kurtosis	3,573	-3,801	1,164	2,858	3,477
dos colecciones	Promedio	2,3480E8	212,4400	83,7500	83,1250	83,71875
	N	4	4	4	4	4
	Kurtosis	3,967	-5,629	,009	-1,411	-0,004
tres colecciones	Promedio	50733333,3325	256,8525	79,5823	77,1850	73,70500
	N	4	4	4	4	4
	Kurtosis	2,997	3,516	3,962	2,583	2,641
Total	Promedio	2,1084E8	231,9517	81,4233	82,2908	81,18292
	N	12	12	12	12	12
	Kurtosis	3,363	-1,527	0,829	4,148	1,690

Frecuencia de colección		Acrosomas normales (%)	Test Resistencia Osmótica (%)	Morfología Espermática cola de látigo (%)	Gota citoplasmática Proximal	Gota Citoplasmática Distal	pH	Densidad Seminal
una colección	Promedio	75,8750	70,40625	28,68750	3,31250	1,00000	7,53125	1,014738
	N	4	4	4	4	4	4	4
	Kurtosis	2,971	2,419	-,862	-3,202	-5,412	4,000	-1,013
dos colecciones	Promedio	70,2200	61,82750	22,87500	4,21875	,71875	7,57812	1,011413
	N	4	4	4	4	4	4	4
	Kurtosis	-5,678	-2,163	-2,810	-5,719	-5,037	-3,901	2,607
tres colecciones	Promedio	59,5600	47,80200	25,41575	7,72725	2,88450	7,70750	1,011650
	N	4	4	4	4	4	4	4
	Kurtosis	,538	1,468	2,816	,865	3,431	-2,266	-5,518
Total	Promedio	68,5517	60,01192	25,65942	5,08617	1,53442	7,60562	1,01260
	N	12	12	12	12	12	12	12
	Kurtosis	-0,489	-,497	-,603	-1,574	5,189	2,898	3,491

**Anexo 4: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana (experimento 1)**

	<b>Hipótesis Nula</b>	<b>Test</b>	<b>Sig.</b>	<b>Decisión</b>
1	La distribución de la concentración espermática (ml) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,005	Rechazar la hipótesis nula
2	La distribución de Volumen Seminal (ml) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,306	Retener la hipótesis nula
3	La distribución de Motilidad en Masa (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,77	Retener la hipótesis nula
4	La distribución de motilidad individual (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,558	Retener la hipótesis nula
5	La distribución de vitalidad Espermática (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,164	Retener la hipótesis nula
6	La distribución de Acrosomas Normales (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,079	Retener la hipótesis nula
7	La distribución de Test de resistencia Osmótica (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,057	Rechazar la hipótesis nula
8	La distribución de morfología Espermática Cola de Látigo (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,661	Retener la hipótesis nula
9	La distribución de gota Citoplasmática proximal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,05	Rechazar la hipótesis nula
10	La distribución de gota Citoplasmática distal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,184	Retener la hipótesis nula
11	La distribución de pH es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,117	Retener la hipótesis nula
12	La distribución de Densidad Seminal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere - Terpstra	0,302	Retener la hipótesis nula

**Anexo 5: Estadígrafos de las características espermáticas de los verracos por efecto de la interacción de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana (experimento 1).**

Interacción		Volumen seminal ml	Motilidad en Masa (%)	Motilidad Individual (%)	Concentración Esperma (ml)	Vitalidad Espermática (%)	Resistencia Osmótica (ORT-%)
temperatura 29 a 30°C una frecuencia de colección	Promedio	269.0000	98.0000	96.0000	9.8400E+08	90.0000	90.2000
	N	5	5	5	5	5	5
	Kurtosis	2.924	5.000	-3.333	.791	-2.972	-2.186
	Variancia	4130.000	20.000	30.000	6.2030E+16	33.500	61.575
temperatura 29 a 30°C tres frecuencias de colección	Promedio	333.4000	71.7000	70.3000	8.1600E+08	83.4000	76.2000
	N	5	5	5	5	5	5
	Kurtosis	.703	1.716	2.070	-.613	1.924	-.714
	Variancia	8910.300	1015.700	949.200	4.6693E+16	317.300	387.700
temperatura 20 a 25°C una frecuencia de colección	Promedio	260.8000	100.0000	100.0000	4.1920E+09	97.4000	93.0000
	N	5	5	5	5	5	5
	Desviación estándar	64.52286	.00000	.00000	4.1976E+09	4.77493	2.54951
	Kurtosis	-1.347	.	.	-3.082	4.302	.580
temperatura 20 a 25°C tres frecuencias de colección	Variancia	4163.200	.000	.000	1.7620E+19	22.800	6.500
	Promedio	378.0000	98.0000	98.0000	1.6280E+09	90.5000	81.6000
	N	5	5	5	5	5	5
	Desviación estándar	71.81574	4.47214	4.47214	1.1274E+09	8.71063	8.76356
Total	Kurtosis	2.563	5.000	5.000	.264	-2.977	.765
	Variancia	5157.500	20.000	20.000	1.2710E+18	75.875	76.800
	Promedio	310.3000	91.9250	91.0750	1.9050E+09	90.3250	85.2500
	N	20	20	20	20	20	20
Total	Desviación estándar	84.54466	19.14369	19.07621	2.4355E+09	10.97518	12.62673
	Kurtosis	-.417	11.181	10.687	5.786	5.507	3.380
	Variancia	7147.800	366.481	363.902	5.9318E+18	120.455	159.434

Interacción		Mormo anomalía espermática (%)	Acrosomas Normales (%)	Gota citoplasmática proximal (%)	pH	Densidad Eyaculado	Gota Citoplasmática Distal (%)
temperatura 29 a 30°C una frecuencia de colección	Promedio	19.4000 b	78.2000 c	5.4000 a	7.5000 a	1.236200 a	2.2000 a
	N	5	5	5	5	5	5
	Desviación estándar	17.38678	24.73257	3.50714	.00000	.3726489	1.64317
	Kurtosis	3.198	4.081	.791	.	4.841	-1.687
	Variancia	302.300	611.700	12.300	.000	.139	2.700
temperatura 29 a 30°C tres frecuencias de colección	Promedio	70.3000 a	76.8000 c	4.2000 a	7.5000 a	1.030600 a	5.0000 a
	N	5	5	5	5	5	5
	Desviación estándar	10.84320	18.40720	5.84808	.00000	.0376802	1.73205
	Kurtosis	1.185	-2.159	2.548	.	4.997	3.667
	Variancia	117.575	338.825	34.200	.000	.001	3.000
temperatura 20 a 25°C una frecuencia de colección	Promedio	6.0000 bc	97.0000 a	.6000 b	7.0000 b	1.015000 a	2.4000 a
	N	5	5	5	5	5	5
	Desviación estándar	5.24404	3.46410	1.34164	.00000	.0032404	3.36155
	Kurtosis	-2.522	3.979	5.000	.	-2.898	-2.195
	Variancia	27.500	12.000	1.800	.000	.000	11.300
temperatura 20 a 25°C tres frecuencias de colección	Promedio	3.0000 c	91.3000 b	.6000 b	7.3000 a	1.013200 a	2.6000 a
	N	5	5	5	5	5	5
	Desviación estándar	1.41421	6.71379	.89443	.27386	.0019235	3.57771
	Kurtosis	-1.750	-1.797	.313	-3.333	2.608	-3.075
	Variancia	2.000	45.075	.800	.075	.000	12.800
Total	Promedio	24.6750	85.8250	2.7000	7.3250	1.073750	3.0500
	N	20	20	20	20	20	20
	Desviación estándar	29.41324	17.01801	3.89467	.24468	.1970912	2.76205
	Kurtosis	-.623	3.727	2.518	-1.719	18.783	-1.282
	Variancia	865.139	289.613	15.168	.060	.039	7.629

**Anexo 6: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la interacción de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana (experimento 1).**

	<b>Hipótesis Nula</b>	<b>Test</b>	<b>Sig.</b>	<b>Decisión</b>
1	La distribución de la concentración espermática (ml) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,222	Retener la hipótesis nula
2	La distribución de Volumen Seminal (ml) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,095	Retener la hipótesis nula
3	La distribución de Motilidad en Masa (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,030	Rechazar la hipótesis nula
4	La distribución de motilidad individual (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,023	Rechazar la hipótesis nula
5	La distribución de vitalidad Espermática (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,119	Retener la hipótesis nula
6	La distribución de Acrosomas Normales (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,022	Rechazar la hipótesis nula
7	La distribución de Test de resistencia Osmótica (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,125	Retener la hipótesis nula
8	La distribución de morfología Espermática Cola de Látigo (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,002	Rechazar la hipótesis nula
9	La distribución de gota Citoplasmática proximal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,098	Retener la hipótesis nula
10	La distribución de gota Citoplasmática distal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,330	Retener la hipótesis nula
11	La distribución de pH es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,003	Rechazar la hipótesis nula
12	La distribución de Densidad Seminal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Kruskal - Wallis	0,261	Retener la hipótesis nula

**Anexo 7: Estadígrafos de las características espermáticas de lo verracos por efecto de la temperatura ambiental (experimento 2).**

Temperatura		Volumen seminal ml	Motilidad en Masa (%)	Motilidad Individual (%)	Concentración Esperma (ml)	Vitalidad Espermática (%)	Resistencia Osmótica (ORT-%)
Temperatura entre 29 - 32 °C	Promedio	301.2000	84.8500	83.1500	9.0E+08	86.7000	83.2000
	N	10	10	10	10.0	10	10
	Kurtosis	-1.089	4.947	4.978	0.1	4.751	2.233
	Variancia	6947.733	652.447	618.669	5.6E+16	168.011	254.122
Temperatura entre 20 - 25°C	Promedio	319.4000	99.0000	99.0000	2.9E+09	93.9500	87.3000
	N	10	10	10	10.0	10	10
	Kurtosis	.429	10.000	10.000	0.9	-1.477	-1.558
	Variancia	7958.044	10.000	10.000	1.0E+19	57.081	73.122
Total	Promedio	310.3000	91.9250	91.0750	1.9E+09	90.3250	85.2500
	N	20	20	20	20.0	20	20
	Kurtosis	-.417	11.181	10.687	5.8	5.507	3.380
	Variancia	7147.800	366.481	363.902	5.9E+18	120.455	159.434

Temperatura		Mormo anomalía espermática (%)	Acrosomas Normales (%)	Gota citoplasmática proximal (%)	pH	Densidad Eyaculado	Gota Citoplasmática Distal (%)
Temperatura entre 29 - 32 °C	Promedio	44.8500	77.5000	4.8000	7.5000	1.133400	3.6000
	N	10	10	10	10	10	10
	Kurtosis	-1.833	.529	.202	.	9.434	1.489
	Variancia	906.281	423.000	21.067	.000	.074	4.711
Temperatura entre 20 - 25°C	Promedio	4.5000	94.1500	.6000	7.1500	1.014100	2.5000
	N	10	10	10	10	10	10
	Kurtosis	-.397	.695	1.864	-1.224	.340	-1.978
	Variancia	15.611	34.392	1.156	.058	.000	10.722
Total	Promedio	24.6750	85.8250	2.7000	7.3250	1.073750	3.0500
	N	20	20	20	20	20	20
	Kurtosis	-.623	3.727	2.518	-1.719	18.783	-1.282
	Variancia	865.139	289.613	15.168	.060	.039	7.629

**Anexo 8: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la temperatura ambiental (experimento 2).**

	<b>Hipótesis Nula</b>	<b>Test</b>	<b>Sig.</b>	<b>Decisión</b>
1	La distribución de la concentración espermática (ml) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,63	Retener la hipótesis nula
2	La distribución de Volumen Seminal (ml) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,733	Retener la hipótesis nula
3	La distribución de Motilidad en Masa (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,123	Retener la hipótesis nula
4	La distribución de motilidad individual (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,043	Rechazar la hipótesis nula
5	La distribución de vitalidad Espermática (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,089	Retener la hipótesis nula
6	La distribución de Acrosomas Normales (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,007	Rechazar la hipótesis nula
7	La distribución de Test de resistencia Osmótica (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,739	Retener la hipótesis nula
8	La distribución de morfología Espermática Cola de Látigo (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,000	Rechazar la hipótesis nula
9	La distribución de gota Citoplasmática proximal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,029	Rechazar la hipótesis nula
10	La distribución de gota Citoplasmática distal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,393	Retener la hipótesis nula
11	La distribución de pH es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,007	Rechazar la hipótesis nula
12	La distribución de Densidad Seminal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,089	Retener la hipótesis nula

**Anexo 9: Estadígrafos de las características espermáticas de los verracos por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).**

<b>Frecuencia de Colección</b>	<b>Volumen seminal ml</b>	<b>Motilidad en Masa (%)</b>	<b>Motilidad Individual (%)</b>	<b>Concentración Esperma (ml)</b>	<b>Vitalidad Espermática (%)</b>	<b>Resistencia Osmótica (ORT-%)</b>	
una colección	Promedio	264.9000	99.0000	98.0000	2.5880E+09	93.7000	91.6000
	N	10	10	10	10	10	10
	Kurtosis	-.314	10.000	1.406	1.448	-1.551	-.060
	Variancia	3704.544	10.000	17.778	1.072E+19	40.233	32.433
tres colecciones	Promedio	355.7000	84.8500	84.1500	1.222E+09	86.9500	78.9000
	N	10	10	10	10	10	10
	Kurtosis	1.274	4.947	4.813	3.784	3.317	1.416
	Variancia	6804.900	652.447	643.892	7.688E+17	188.747	214.544
Total	Promedio	310.3000	91.9250	91.0750	1.905E+09	90.3250	85.2500
	N	20	20	20	20	20	20
	Kurtosis	-.417	11.181	10.687	5.786	5.507	3.380
	Variancia	7147.800	366.481	363.902	5.932E+18	120.455	159.434

<b>Frecuencia de Colección</b>		<b>Morfo anomalía espermática (%)</b>	<b>Acrosomas Normales (%)</b>	<b>Gota citoplasmática proximal (%)</b>	<b>pH</b>	<b>Densidad Eyaculado</b>	<b>Gota Citoplasmática Distal (%)</b>
una colección	Promedio	12.7000	87.6000	3.0000	7.2500	1.125600	2.3000
	N	10	10	10	10	10	10
	Kurtosis	5.772	7.619	-1.132	-2.571	9.534	-.605
	Variancia	196.456	375.378	12.667	.069	.075	6.233
tres colecciones	Promedio	36.6500	84.0500	2.4000	7.4000	1.021900	3.8000
	N	10	10	10	10	10	10
	Kurtosis	-2.283	1.262	6.559	1.406	9.932	-1.207
	Variancia	1311.281	229.025	19.156	.044	.001	8.622
Total	Promedio	24.6750	85.8250	2.7000	7.3250	1.073750	3.0500
	N	20	20	20	20	20	20
	Kurtosis	-.623	3.727	2.518	-1.719	18.783	-1.282
	Variancia	865.139	289.613	15.168	.060	.039	7.629

**Anexo 10: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).**

	<b>Hipótesis Nula</b>	<b>Test</b>	<b>Sig.</b>	<b>Decisión</b>
1	La distribución de la concentración espermática (ml) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,393	Retener la hipótesis nula
2	La distribución de Volumen Seminal (ml) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,015	Rechazar la hipótesis nula
3	La distribución de Motilidad en Masa (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,123	Retener la hipótesis nula
4	La distribución de motilidad individual (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,165	Retener la hipótesis nula
5	La distribución de vitalidad Espermática (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,165	Retener la hipótesis nula
6	La distribución de Acrosomas Normales (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,165	Retener la hipótesis nula
7	La distribución de Test de resistencia Osmótica (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,019	Rechazar la hipótesis nula
8	La distribución de morfología Espermática Cola de Látigo (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,436	Retener la hipótesis nula
9	La distribución de gota Citoplasmática proximal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,684	Retener la hipótesis nula
10	La distribución de gota Citoplasmática distal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,247	Retener la hipótesis nula
11	La distribución de pH es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,280	Retener la hipótesis nula
12	La distribución de Densidad Seminal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de U Mann-Whitney	0,736	Retener la hipótesis nula

**Anexo 11: Estadígrafos de las características espermáticas de los verracos por efecto de la interacción de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).**

Interacción		Concentración espermática +(ml)	Volumen Seminal (ml)	Motilidad en Masa (%)	Motilidad Individual (%)	Vitalidad Espermática (%)	Acrosomas normales (%)
29 a 32°C con una frecuencia	Promedio	5.3580E+08	212.5000	71.8750	83.1250	80.00000	62.8750
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	5.4900E+08	65.40738	22.09709	2.65165	23.334524	38.00699
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	3.0140E+17	4278.125	488.281	7.031	544.500	1444.531
29 a 32°C con dos frecuencias	Promedio	3.8690E+08	210.9400	77.1875	76.8750	81.31250	58.8750
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	4.0602E+08	36.68470	5.74524	2.65165	5.214913	1.23744
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	1.6485E+17	1345.767	33.008	7.031	27.195	1.531
29 a 32°C con tres frecuencias	Promedio	5.8133E+07	267.9150	69.1650	64.7900	61.83000	45.6650
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	2.2627E+06	2.94864	27.10340	20.91622	20.265680	17.09077
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	5.1200E+12	8.694	734.594	437.488	410.698	292.094
20 a 25°C con una frecuencia	Promedio	158200000.0000	240.6250	90.0000	90.0000	92.25000	88.8750
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	9.7581E+07	71.59456	14.14214	14.14214	2.474874	10.78338
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	9.5220E+15	5125.781	200.000	200.000	6.125	116.281
20 a 25°C con dos frecuencias	Promedio	8.2700E+07	213.9400	90.3125	89.3750	86.12500	81.5650
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	1.5698E+07	44.81643	5.74524	5.30330	13.258252	2.02940
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	2.4642E+14	2008.512	33.008	28.125	175.781	4.118
20 a 25°C con tres frecuencias	Promedio	4.3333E+07	245.7900	89.9995	89.5800	85.58000	73.4550
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	3.8089E+07	44.13761	.58902	.59397	.820244	.17678
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	1.4508E+15	1948.128	.347	.353	.673	.031
Total	Promedio	2.1084E+08	231.9517	81.4233	82.2908	81.18292	68.5517
	N	12	12	12	12	12	12
	Desviación estándar	2.8473E+08	42.77185	14.95524	12.35144	14.299882	19.93345
	Kurtosis	3.363	-1.527	.829	4.148	1.690	-.489
	Varianza	8.1073E+16	1829.431	223.659	152.558	204.487	397.342

Interacción		Test Resistencia Osmótica (%)	Morfología Espermática cola de látigo (%)	Gota citoplasmática Proximal	Gota Citoplasmática Distal	pH	Densidad Seminal
29 a 32°C con una frecuencia	Promedio	56.43750	28.37500	3.37500	1.87500	7.562500	1.013375
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	37.034718	29.875262	.883883	.176777	.0883883	.0033588
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	1371.570	892.531	.781	.031	.008	.000
29 a 32°C con dos frecuencias	Promedio	51.56250	31.43750	7.75000	1.43750	7.656250	1.011950
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	8.396893	1.325825	.530330	.265165	.0441942	.0004950
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	70.508	1.758	.281	.070	.002	.000
29 a 32°C con tres frecuencias	Promedio	37.22900	35.00000	7.49950	4.16650	7.665000	1.011800
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	14.878941	20.152543	1.532300	2.710340	.1767767	.0025456
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	221.383	406.125	2.348	7.346	.031	.000
20 a 25°C con una frecuencia	Promedio	84.37500	29.00000	3.25000	.12500	7.500000	1.016100
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	14.672466	9.192388	1.767767	.176777	.0000000	.0055154
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	215.281	84.500	3.125	.031	.000	.000
20 a 25°C con dos frecuencias	Promedio	72.09250	14.31250	.68750	.00000	7.500000	1.010875
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	.045962	6.098796	.441942	.000000	.0000000	.0012374
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	.002	37.195	.195	.000	.000	.000
20 a 25°C con tres frecuencias	Promedio	58.37500	15.83150	7.95500	1.60250	7.750000	1.011500
	N	2	2	2	2	2	2
	Desviación estándar	1.944544	7.068946	.417193	.385373	.3535534	.0021213
	Kurtosis	.	.	.	.	.	.
	Varianza	3.781	49.970	.174	.149	.125	.000
Total	Promedio	60.01192	25.65942	5.08617	1.53442	7.605625	1.012600
	N	12	12	12	12	12	12
	Desviación estándar	20.390163	14.145650	3.022662	1.663097	.1561545	.0028708
	Kurtosis	-.497	-.603	-1.574	5.189	2.898	3.491
	Varianza	415.759	200.099	9.136	2.766	.024	.000

**Anexo 12: Prueba de hipótesis de las características espermáticas de los verracos por efecto de la interacción de la temperatura ambiental y frecuencia de colección seminal por semana (experimento 2).**

	<b>Hipótesis Nula</b>	<b>Test</b>	<b>Sig.</b>	<b>Decisión</b>
1	La distribución de la concentración espermática (ml) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,026	Rechazar la hipótesis nula
2	La distribución de Volumen Seminal (ml) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,404	Retener la hipótesis nula
3	La distribución de Motilidad en Masa (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,071	Retener la hipótesis nula
4	La distribución de motilidad individual (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,095	Retener la hipótesis nula
5	La distribución de vitalidad Espermática (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,530	Retener la hipótesis nula
6	La distribución de Acrosomas Normales (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,487	Retener la hipótesis nula
7	La distribución de Test de resistencia Osmótica (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,578	Retener la hipótesis nula
8	La distribución de morfología Espermática Cola de Látigo (%) es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,164	Retener la hipótesis nula
9	La distribución de gota Citoplasmática proximal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,889	Retener la hipótesis nula
10	La distribución de gota Citoplasmática distal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,207	Retener la hipótesis nula
11	La distribución de pH es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,455	Retener la hipótesis nula
12	La distribución de Densidad Seminal es la misma entre las categorías de la Frecuencia	Prueba de Jonckheere Terpstra	0,528	Retener la hipótesis nula

**Anexo 13: Registro de la temperatura y humedad relativa en el Distrito de Reque del mes de Febrero, Marzo (2008).**



2007-2016 "DECENIO DE LAS PERSONAS CON DISCAPACIDAD EN EL PERÚ"  
"AÑO DE LA CONSOLIDACION ECONOMICA Y SOCIAL DEL PERU"

ESTACION: REQUE  
CATEGORIA: "CO"  
MES: FEBRERO 2008

LAT.: 06° 53' 10,2"  
LONG. 79° 50' 7,6"  
ALT.: 21 msnm

DPTO: LAMBAYEQUE  
PROV: CHICLAYO  
DIST: REQUE

Día	Temperatura Máxima(°C)	Humedad Relativa (%)
1	28,9	77
2	29,1	77
3	28,2	81
4	27,6	78
5	27,5	78
6	29,0	77
7	28,3	76
8	29,5	73
9	28,9	75
10	28,0	78
11	29,5	72
12	29,9	71
13	30,0	73
14	28,8	75
15	28,3	80
16	30,3	77
17	31,3	76
18	29,3	84
19	28,9	87
20	28,2	88
21	29,0	80
22	29,9	80
23	29,9	75
24	29,1	82
25	29,3	82
26	28,9	80
27	29,0	78
28	29,7	81
29	29,3	82



*[Handwritten Signature]*  
**ING° HUGO PANTOJA TAPIA**  
Registro CIP: 74329  
Director Regional SENAMHI-Lambayeque

Ciencia y Tecnología Hidrometeorológica al Servicio del País

Lima: Jirón Cahuide N° 785-Lima 11, Casilla Postal 1308 Telf.: (51-1) 614-1414 Fax: 471-7287  
Los Pinos N° 290 Urb. Sta. Victoria, Telf. (074)-225589 [dr02-lambayeque@senamhi.gob.pe](mailto:dr02-lambayeque@senamhi.gob.pe)  
Pág. Web [www.senamhi.gob.pe](http://www.senamhi.gob.pe) E-mail: [senamhi@senamhi.gob.pe](mailto:senamhi@senamhi.gob.pe)





PERÚ

Ministerio del Ambiente

Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología - SENAMHI

Dirección Regional de Lambayeque

2007-2016 "DECENIO DE LAS PERSONAS CON DISCAPACIDAD EN EL PERÚ"  
"AÑO DE LA CONSOLIDACION ECONOMICA Y SOCIAL DEL PERU"

ESTACION: REQUE  
CATEG  
MES: MARZO 2008

LAT.: 06° 53' 10,2"  
LONG. 79° 50' 7,6"  
ALT.: 21 msnm

DPTO: LAMBAYEQUE  
PROV: CHICLAYO  
DIST: REQUE

Día	Temperatura Máxima(°C)	Humedad Relativa (%)
1	30.2	79
2	30.1	78
3	30.0	75
4	29.5	83
5	29.8	79
6	29.2	83
7	29.5	81
8	30.0	76
9	29.6	78
10	29.9	80
11	29.5	83
12	29.4	79
13	29.6	80
14	29.8	82
15	28.2	85
16	29.8	82
17	28.8	80
18	28.4	79
19	28.1	78
20	28.9	81
21	28.6	80
22	27.8	82
23	29.2	81
24	28.6	81
25	27.5	83
26	28.3	80
27	27.9	80
28	27.9	81
29	28.6	81
30	28.4	81
31	27.9	85



*Hugo Pantoja Tapia*

ING° HUGO PANTOJA TAPIA  
Registro CIP. 74329  
Director Regional SENAMHI-Lambayeque

Ciencia y Tecnología Hidrometeorológica al Servicio del País

Lima: Jirón Cahuide N° 785-Lima 11, Casilla Postal 1308 Telf.: (51-1) 614-1414 Fax: 471-7287  
Los Pinos N° 290 Urb. Sta. Victoria, Telf. (074)-225589 dr02-lambayeque@senamhi.gob.pe  
Pág. Web [www.senamhi.gob.pe](http://www.senamhi.gob.pe) E-mail: [senamhi@senamhi.gob.pe](mailto:senamhi@senamhi.gob.pe)



**Anexo 14: Registro de la temperatura y humedad relativa en el Distrito de Reque del mes de Abril (2008).**



2007-2016 "DECENIO DE LAS PERSONAS CON DISCAPACIDAD EN EL PERÚ"  
"AÑO DEL CENTENARIO DE MACHU PICCHU PARA EL MUNDO"

ESTACION: REQUE  
CATEGORIA: "CO"  
MES: ABRIL 2008

LAT.: 06° 53' 10,2"  
LONG. 79° 50' 7,6"  
ALT.: 21 msnm

DPTO: LAMBAYEQUE  
PROV: CHICLAYO  
DIST: REQUE

Día	Temperatura Máxima(°C)	Humedad Relativa (%)
1	27.6	84
2	30.4	84
3	28.9	82
4	27.9	82
5	26.8	83
6	25.1	85
7	25.5	83
8	25.4	86
9	25.7	85
10	26.2	82
11	25.3	81
12	24.7	84
13	24.3	82
14	26.2	77
15	26.3	84
16	S/D	76
17	S/D	S/D
18	S/D	S/D
19	25.0	84
20	24.3	80
21	24.7	79
22	24.7	80
23	24.0	86
24	23.3	86
25	24.2	84
26	24.4	83
27	22.8	86
28	25.0	84
29	23.5	84
30	23.7	81

S/D=Sin Dato



*Carlos Aguilar Custodio*  
TESORERO  
SENAMHI - LAMBAYEQUE

Ciencia y Tecnología Hidrometeorológica al Servicio del País

Lima: Jirón Cahuipe N° 785-Lima 11, Casilla Postal 1308 Telf.: (51-1) 614-1414 Fax: 471-7287  
Los Pinos N° 290 Urb. Sta. Victoria, Telf. (074)-225589 dr02-lambayeque@senamhi.gob.pe  
Pág. Web [www.senamhi.gob.pe](http://www.senamhi.gob.pe) E-mail: [senamhi@senamhi.gob.pe](mailto:senamhi@senamhi.gob.pe)

