

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



**UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS
VETERINARIAS**

PROGRAMA DE MAESTRIA EN CIENCIAS

TESIS:

**CARACTERÍSTICAS SEMINALES Y ANDROLÓGICAS DE
SEMENTALES FLECKVIEH EN LA PROVINCIA DE CUTERVO**

Para optar el Grado Académico de

MAESTRO EN CIENCIAS

MENCIÓN: PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL

Presentada por:

Bachiller: JOSÉ ELÍAS RAFAEL BAUTISTA

Asesor:

Mg. CARLOS HERBERT POMARES NEIRA

Cajamarca, Perú

2023

COPYRIGHT © 2023 por
JOSÉ ELÍAS RAFAEL BAUTISTA
Todos los derechos reservados

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



UNIDAD DE POSGRADO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

PROGRAMA DE MAESTRIA EN CIENCIAS

TESIS APROBADA:

CARACTERÍSTICAS SEMINALES Y ANDROLÓGICAS DE SEMENTALES FLECKVIEH EN LA PROVINCIA DE CUTERVO

Para optar el Grado Académico de

MAESTRO EN CIENCIAS

MENCIÓN: PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL

Presentada por:

Bachiller: JOSÉ ELÍAS RAFAEL BAUTISTA

JURADO EVALUADOR

Mg. Carlos Herbert Pomares Neira
Asesor

Dr. José Fernando Coronado León
Jurado evaluador

Dr. José Antonio Niño Ramos
Jurado evaluador

Mg. Crisanto Juan Villanueva De La Cruz
Jurado evaluador

Cajamarca, Perú

2023



Universidad Nacional de Cajamarca
LICENCIADA CON RESOLUCIÓN DE CONSEJO DIRECTIVO N° 080-2018-SUNEDU/CD
Escuela de Posgrado
CAJAMARCA - PERU



PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS

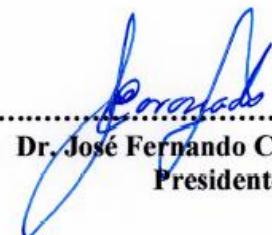
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS


Siendo las 10:00 a.m. horas del día 24 de marzo del dos mil veintitrés, reunidos en el Auditorio de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por el **Dr. JOSÉ FERNANDO CORONADO LEÓN, Dr. JOSÉ ANTONIO NIÑO RAMOS, Mg. CRISANTO JUAN VILLANUEVA DE LA CRUZ** y en calidad de Asesor el **Mg. CARLOS HERBERT POMARES NEIRA**. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno y el Reglamento de Tesis de Maestría de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se dio inicio a la Sustentación de la Tesis titulada **CARACTERÍSTICAS SEMINALES Y ANDROLÓGICAS DE SEMENTALES FLECKVIEH EN LA PROVINCIA DE CUTERVO**, presentada por el **Bach. en Medicina Veterinaria JOSÉ ELÍAS RAFAEL BAUTISTA**.

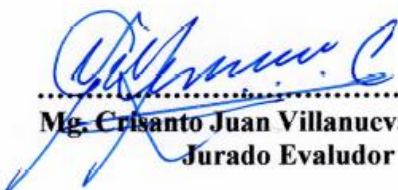
Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó Aprobar con la calificación de Distinción (17) la mencionada Tesis; en tal virtud, el **Bach. en Medicina Veterinaria JOSÉ ELÍAS RAFAEL BAUTISTA**, está apto para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **MAESTRO EN CIENCIAS**, de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Ciencias Veterinarias, con Mención en **PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL**.

Siendo las 12:45 horas del mismo día, se dio por concluido el acto.


.....
Mg. Carlos Herbert Pomares Neira
Asesor


.....
Dr. José Fernando Coronado León
Presidente


.....
Dr. José Antonio Niño Ramos
Jurado Evaluador


.....
Mg. Crisanto Juan Villanueva De La Cruz
Jurado Evaluador

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a:

A Dios quien me ha brindado salud, guiando mis pasos, con fortaleza y amor hasta el día de hoy.

A mis padres José Asunción y María Santos quienes, con paciencia, amor, sabiduría, ayudaron a cumplir un sueño más, gracias por inculcar que con sacrificio y perseverancia se llega a cumplir las metas trazadas en la vida.

A mis hermanos por su apoyo incondicional en todo este proceso, gracias por sus oraciones y palabras de aliento haciendo de mí una mejor persona.

A mi esposa Patricia e hija Anett Nayeli por su paciencia y soporte en esta travesía de difícil caminar y llegar a la meta.

A mis amigos en general por extender la mano en los momentos más difíciles y contribuir con un granito de arena para cumplir con este objetivo.

AGRADECIMIENTO

A Dios por concederme la salud en estos tiempos difíciles y poder culminar con este trabajo de investigación.

A mis padres José Asunción y María Santos por guiar mis pasos y apoyarme para ser un profesional y continuar en la senda de ir obteniendo nuevos conocimientos.

A mi esposa Patricia e hija Nayeli por acompañar mis días en este recorrido.

A mi asesor Carlos Pomares por su apoyo incondicional en el proceso de asesoramiento.

Al colega José Huingo, por contribuir con el trabajo de colección y evaluación seminal de los reproductores.

A los ganaderos de la Asociación Provincial de Criadores de Ganado Fleckvieh de la provincia de Cutervo, por permitir evaluar sus ejemplares.

Cree que puedes, y ya estarás a mitad del camino.

Theodore Roosevelt

CONTENIDOS

Ítem	Página
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
LISTA DE ABREVIACIONES	xv
PREFACIO.....	xvi
RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT	xviii
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	4
CAPÍTULO II.....	5
MARCO TEÓRICO	5
2.1 Antecedentes del estudio.	5
2.2 Bases teóricas.....	8
2.2.1 Obtención y evaluación del semen bovino	8
2.2.2 Recogida del Semen.....	8
2.2.3 Evaluación del semen	9
2.2.4 Evaluación macroscópica.....	9
2.2.5 Evaluación microscópica de la Calidad del Semen	10
2.2.5.1 Motilidad Espermática	10
2.2.5.2 Aspectos Fisiológicos de la Motilidad Espermática	11

2.2.5.3	Morfología Espermática.....	17
2.2.6	Crío preservación del semen bovino.....	19
2.2.6.1	Enfriamiento y shock por frío.....	19
2.2.6.2	Crío preservación y crioprotectores.....	21
2.2.7	Criterios para el rechazo de eyaculados.....	24
2.2.8	Factores que influyen en las características seminales.....	24
2.2.8.1	Factores ligados a la raza.....	24
2.2.8.2	Efecto de la estación.....	24
2.2.8.3	Frecuencia de la colecta:.....	25
2.2.8.4	Número de eyaculado:.....	25
2.2.9	Variables biométricas testiculares.....	26
2.2.10	Medida del tamaño testicular.....	26
CAPÍTULO III.....		28
CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS.....		28
3.1	Hipótesis.....	28
3.2	Localización del estudio.....	28
3.3	Población, muestra y unidad de análisis.....	28
3.4	Materiales.....	29
3.4.1	Material biológico.....	29
3.4.2	Material de campo y laboratorio.....	29
3.5	Metodología.....	30
3.5.1	Tipo y diseño de estudio.....	30

3.5.2	Identificación y selección sementales.....	30
3.5.3	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	30
3.5.4	Evaluación de características seminales	30
3.5.5	Técnicas de procesamiento y análisis de Datos.	35
CAPÍTULO IV		36
RESULTADOS		36
DISCUSIÓN.....		49
CAPÍTULO V		54
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		54
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS		56
ANEXOS.....		61
Anexo 1: Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks de circunferencia escrotal, longitud testicular y edad de los toros raza Fleckvieh.		61
Anexo 2: Prueba de Kruskal Wallis del volumen seminal de cinco toros de raza Fleckvieh.		61
Anexo 3: Prueba de Kruskal Wallis del aspecto con volumen seminal de eyaculados de cinco toros de raza Fleckvieh.		62
Anexo 4: Prueba chi-cuadrado para asociación: Número de eyaculado y aspecto del semen de cinco toros de raza Fleckvieh.		62
Anexo 5: Estadísticas tabuladas: Motilidad Masal (MM).....		63
Anexo 6: Prueba de Kruskal-Wallis: Volumen (ml) vs. Motilidad Masal (MM)		63
Anexo 7: Prueba de Kruskal-Wallis: Concentración vs. Motilidad Masal (MM).....		63

Anexo 8: Prueba de Kruskal-Wallis: Edad en Años vs. Motilidad Masal (MM).....	63
Anexo 9: Prueba de Kruskal-Wallis: Circunferencia Escrotal cm vs. Motilidad Masal (MM)	64
Anexo 10: Prueba de Kruskal-Wallis: Longitud testicular cm vs. Motilidad Masal (MM)	64
Anexo 11: Prueba de T no pareado de la Motilidad individual pre y post congelación de los toros: Campeón, Messi, Ollanta, Rocki y Tesoro raza Fleckvieh.....	64
Anexo 12: Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks de la Motilidad Individual Pre y Pos congelación de los Toros raza Fleckvieh.....	68
Anexo 13: Prueba de Mann- Whitney entre la Motilidad individual pre congelación con la motilidad individual post congelación de los toros raza Fleckvieh.	68
Anexo 14: Prueba de T e IC de dos muestras de motilidad individual pre congelación, motilidad individual Post congelación con el aspecto seminal de los toros raza Fleckvieh.	69
Anexo 15: Prueba de T no pareado de la Motilidad individual pre congelación, Motilidad individual Post congelación con la primera, Segunda y tercera eyaculación de los toros raza Fleckvieh.	71
Anexo 16: Prueba de T no pareado de la Vitalidad pre y post congelación con los toros: Campeón, Messi, Ollanta, Rocki y Tesoro raza Fleckvieh.	74
Anexo 17: Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks de la Vitalidad Pre y Post congelación de los Toros raza Fleckvieh.....	79
Anexo 18: Prueba de Mann- Whitney entre la Vitalidad individual pre congelación con la motilidad individual post congelación de los toros raza Fleckvieh.	79

Anexo 19: Prueba de T e IC de dos muestras de Vitalidad pre congelación, Vitalidad Post congelación con el aspecto seminal de los toros raza Fleckvieh.	80
Anexo 20: Prueba de T no pareado de la Vitalidad pre y post congelación con la primera, Segunda y tercera eyaculación de los toros raza Fleckvieh.	83
Anexo 21: Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks (modificado) en relación a la concentración de toro de raza Fleckvieh	86
Anexo 22: Prueba de Kruskal-Wallis: Concentración Millones/ml vs. Toros de raza Fleckvieh	86
Anexo 23: Prueba de Kruskal-Wallis: Concentración millones/ml vs. Número de eyaculado de toros de raza Fleckvieh.	86
Anexo 24: Prueba de Kruskal-Wallis: Concentración Millones/ml Vs. Aspecto del semen de toros de raza Fleckvieh	87
Anexo 25: Correlación: Volumen (ml), Concentración (millones/ml), Motilidad individual pre congelación (%), Vitalidad Pre congelación (%), Motilidad individual Post congelación (%), Vitalidad Post congelación (%), Circunferencia escrotal (Cm), Longitud testicular (Cm), Edad (años)	88

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Tablas

Tabla 1. Estadísticos descriptivos: Circunferencia escrotal (Cm), Longitud testicular (Cm), Edad (años).....	36
Tabla 2. Características seminales macroscópicas: Volumen seminal (ml) de cinco toros de raza Fleckvieh.	36
Tabla 3. Características seminales macroscópicas: Aspecto y volumen seminal (ml) de los eyaculados de cinco toros de raza Fleckvieh.....	38
Tabla 4. Características seminales macroscópicas: Aspecto del semen de cinco toros de raza Fleckvieh según el número de eyaculados.	39
Tabla 5. Motilidad Masal del semen y su relación con el volumen y concentración seminal de cinco toros de la raza Fleckvieh.	39
Tabla 6. Motilidad Masal del semen y su relación con la edad, circunferencia escrotal (cm), longitud testicular (cm) de cinco toros de raza Fleckvieh.....	40
Tabla 7. Motilidad individual pre y post congelación y su relación con cada toro de raza Fleckvieh.....	41
Tabla 8. Motilidad individual pre y post congelación y su relación con el aspecto del semen de cinco toros de raza Fleckvieh.....	42
Tabla 9. Motilidad individual pre y post congelación y su relación con el número de eyaculados en toros de raza Fleckvieh.....	43
Tabla 10. Vitalidad pre y post congelación y su relación con los cinco toros de raza Fleckvieh.....	43
Tabla 11. Vitalidad pre y post congelación y su relación con el aspecto del semen en toros de la raza Fleckvieh.....	44

Tabla 12. Vitalidad individual pre y post congelación y su relación con el número de eyaculados en toros de la raza Fleckvieh.	45
Tabla 13. Concentración espermática (millones/ml) de cinco toros de raza Fleckvieh .	46
Tabla 14. Concentración (millones/ml) según el número de eyaculados en cinco toros de raza Fleckvieh.	47
Tabla 15. Concentración espermática (millones/ml) con el aspecto del eyaculado de los toros de raza Fleckvieh.	47

Figuras

Figura 1. Espermatogénesis de mamíferos (Teclé & Gagneux, 2015).	14
Figura 2. Secuencia fisiológica de cambios en la superficie que hace que los espermatozoides sean aptos para fertilizar el ovocito (Teclé & Gagneux, 2015). 15	
Figura 3. Diversidad estructural del glucocalix (Teclé & Gagneux, 2015).	17
Figura 4. Gráfica de Caja de Bigotes del volumen seminal (ml) en cinco toros de raza Fleckvieh.	37

LISTA DE ABREVIACIONES

SC: Circunferencia escrotal

VG: Muy bueno

G: Bueno

F: Regular

P: Pobre

LFR: Lactoferrina

LCN5: Lipocalina 5.

CLU: Clusterina

GTX5: Glutation peroxidasa.

TF: Transferrina.

GST: Glutation S transferasa.

GPI: Glucosilfosfatidilinositol.

ZP: Zona pelúcida.

MDSO: Dimetilsulfoxido.

AFP: Proteínas anticongelantes.

AFGP: Glucoproteínas anticongelantes

LT: Longitud testicular.

NL₂: Nitrógeno líquido.

MM: Motilidad masal.

SPZ: espermatozoides

PREFACIO

El presente trabajo de investigación surgió a consecuencia de los múltiples trabajos de colección y congelación de semen de toros reproductores locales adaptados a las condiciones medioambientales de la región Cajamarca; en razón que la evidencia empírica había mostrado que las crías de estos toros llegaban a producir mayor cantidad de leche comparado con las hijas de toros criados en otro medio ambiente.

En los distritos de Súcota, San Andrés, San Luis de Lucma y la Ramada pertenecientes a la provincia de Cutervo, se crían los mejores ejemplares bovinos de la raza Fleckvieh de la región Cajamarca, existiendo un biotipo con mucha fortaleza y aptitud carnicera producto de la selección y el apareamiento natural de los primeros ejemplares llevados a la zona.

Los toros seleccionados para reproductores a través de la monta natural no eran sometidos a evaluaciones sanitarias, andrológicas ni de calidad espermática. El trabajo en Cutervo nace con la necesidad de poder conservar el material germoplásmico del toro “Manuel”, con mucha longevidad y excelente transmisión de características a su descendencia. A quien solamente se logró congelar 400 pajuelas de semen. Y desde ese momento se continuó seleccionando, colectando y congelando semen a varios toros de la raza Feckvieh como: “Ollanta”, “Messi”, “Rocki”, “Tesoro” “Campeón” y otros oriundos de cada distrito antes mencionado.

RESUMEN

Se evaluó las características andrológicas y su relación con las características seminales pre y post congelación en cinco toros de la raza Fleckvieh de la provincia de Cutervo. La circunferencia escrotal y longitud testicular se midió con una cinta métrica, cuyos valores fueron de 40.60 ± 3.78 y 19.80 ± 2.95 cm respectivamente. Se recolectó semen (50 eyaculados) de toros entre 1.8 y 11.3 años, con vagina artificial (38 - 40°C) una vez por mes, entre enero y mayo del 2013. Las variables volumen (mL), motilidad individual (%), concentración ($\times 10^6/\text{mL}$) y vitalidad (%), se evaluaron de manera convencional usando un microscopio de contraste de fase (marca LW Scientific, modelo i4 Infinity), equipado con una platina caliente (37°C). El toro Tesoro produjo el mayor volumen (8.25 mL) y concentración ($1550 \times 10^6/\text{mL}$); y el toro Campeón produjo el menor volumen (3.00 mL) y concentración ($800 \times 10^6/\text{mL}$). Se evidenció diferencia significativa en la motilidad y vitalidad espermática pre y post congelación de los toros Messi, Ollanta, Tesoro y Rocki ($p < 0,05$). Los coeficientes de correlación de Pearson revelaron que existe relación positiva de moderada a fuerte entre las características andrológicas y seminales. La circunferencia escrotal se correlacionó con el volumen ($p < 0,01$; $r: 0.52$; IC95%: 0.2-0.7). La longitud testicular se correlacionó con el volumen ($p < 0,01$; $r: 0.43$; IC95%: 0.17-0.63), con la motilidad pre congelación ($p < 0,01$; $r: 0.63$; IC95%: 0.42-0.77), con la vitalidad pre congelación ($p < 0,01$; $r: 0.39$; IC95%: 0.13-0.60) y con la motilidad post congelación ($p < 0,01$; $r: 0.49$; IC95%: 0.25-0.68). Se concluye que la longitud testicular se correlaciona más fuerte y significativamente con las características seminales pre y post congelación ($p < 0,01$) en toros de raza Fleckvieh de la provincia de Cutervo.

Palabras clave: Toros, Fleckvieh, semen, circunferencia escrotal, longitud testicular.

ABSTRACT

The andrological characteristics and their relationship with pre- and post-freezing seminal characteristics were evaluated in five Fleckvieh bulls from the province of Cutervo. Scrotal circumference and testicular length were measured with a tape measure, whose values were 40.60 ± 3.78 and 19.80 ± 2.95 cm respectively. Semen (50 ejaculates) was collected from bulls between 1.8 and 11.3 years old, with artificial vagina ($38 - 40^{\circ}\text{C}$) once per month, between January and May 2013. The variables volume (mL), individual motility (%), concentration ($\times 10^6/\text{mL}$) and vitality (%), were evaluated conventionally using a phase contrast microscope (LW Scientific brand, model i4 Infinity), equipped with a heated stage (37°C). The Tesoro bull produced the highest volume (8.25 mL) and concentration ($1550 \times 10^6/\text{mL}$); and the Champion bull produced the lowest volume (3.00 mL) and concentration ($800 \times 10^6/\text{mL}$). Significant difference was evidenced in sperm motility and vitality pre and post freezing of Messi, Ollanta, Tesoro and Rocki bulls ($p < 0.05$). Pearson's correlation coefficients revealed a moderate to strong positive relationship between andrological and seminal characteristics. Scrotal circumference correlated with volume ($p < 0.01$; $r: 0.52$; 95%CI: 0.2-0.7). Testicular length correlated with volume ($p < 0.01$; $r: 0.43$; 95%CI: 0.17-0.63), with pre-freezing motility ($p < 0.01$; $r: 0.63$; 95%CI: 0.42-0.77), with pre-freezing vitality ($p < 0.01$; $r: 0.39$; 95%CI: 0.13-0.60) and with post-freezing motility ($p < 0.01$; $r: 0.49$; CI95%: 0.25-0.68). It is concluded that testicular length correlates more strongly and significantly with pre- and post-freezing seminal characteristics ($p < 0.01$) in Fleckvieh bulls from Cutervo province.

Key words: Bulls, Fleckvieh, semen, scrotal circumference, testicular length.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La introducción del ganado vacuno de la raza Fleckvieh en el Perú se remonta a inicios de la década del 70, donde se firmó un convenio entre la Cooperación Técnica Alemana, representada por el Dr. Willybaldo Brack Egg y la parte peruana representada por el Dr. Yehude Simon Munaro. El objetivo fue modernizar la unidad de inseminación artificial que funcionaba en el “Plantel Centro de Recría Lambayeque”. Para lo cual se compraron los sementales Fleckvieh alemán cuyos nombres fueron: Comunero, Papi, Bien y Bosanova, en principio se usó semen fresco y posteriormente se congeló el semen para continuar aplicando la técnica de inseminación artificial.

En la década del 80, el Sr. Roque Mera introduce por primera vez el ganado vacuno de la raza Fleckvieh al distrito de Súcota, inicialmente compró toretes, luego siete vaquillas, formando de esta manera el primer núcleo de la raza; posteriormente otros ganaderos de los distritos de San Andrés, La Ramada y Cutervo hicieron lo mismo.

Actualmente Según el Cenagro – INEI (2012), la Provincia de Cutervo tiene 91,256 cabezas de ganado; de las cuales: 5 287 son de la raza Holstein, 3 074 de la raza Brown Swiss, 2 485 de la raza Gyr/Cebú, 69 583 clasificados como criollos y 10 378 vacunos de otras razas, en este último grupo están los vacunos de la raza Fleckvieh.

Cutervo es un referente nacional en cantidad y calidad genética de ganado vacuno de la raza Fleckvieh, este progreso genético inició con empadre o monta natural y actualmente por el uso de la inseminación artificial. El primer semental campeón de campeonos a nivel nacional está en Cutervo.

Hay que tener en cuenta que muchos de estos sementales, se usan como reproductores, pero no se realizan las evaluaciones sanitarias, andrológicas y seminales.

El tamaño de los testículos ha demostrado ser un buen indicador de la capacidad espermatogénica de un semental, a tal punto que se lo tiene en cuenta como criterio de selección de toros y constituye ya una práctica común. La medida más práctica para evaluar el tamaño de los testículos es la circunferencia escrotal (SC), la cual tiene una alta correlación con el peso y el volumen testicular. A su vez, el peso testicular está en función directa con la cantidad de tejido parenquimático productor de espermatozoides y, por lo tanto, con el volumen y la concentración espermática del eyaculado. Así una selección de toros reproductores por mayor SC se traducirá en una producción seminal con mayor concentración en espermatozoides (Silva et al., 2012).

La SC es altamente heredable y se usa confiablemente para predecir la edad de la pubertad y el rendimiento reproductivo de los bovinos de cualquier raza. Asimismo, la SC se correlaciona con el peso de los testículos, la producción de espermatozoides por día y otros rasgos de calidad de semen y el rendimiento reproductivo de las crías hembras y machos, quienes alcanzan la pubertad mucho más temprano (Menegassi et al., 2019).

El ganado vacuno de la raza Fleckvieh en la provincia de Cutervo, es una alternativa de desarrollo para los ganaderos, por ser una raza de doble propósito y ser muy cotizados en los mercados y atracción en las principales ferias de la región y el país. Muchos ganaderos están optando por la crianza de esta raza de ganado vacuno, por su rusticidad, precocidad y buena conversión alimenticia. Por tal motivo, es necesario ir seleccionando reproductores élite de alto valor genético adaptado a las condiciones medioambientales de nuestra realidad, a los cuales se debe ir realizando sus pruebas de capacidad y aptitud reproductiva.

En sementales de la raza Fleckvieh, la información referente a características andrológicas y su posible relación con la producción de espermatozoides, no es tan amplia

como la existente en sementales de otras razas. Incluso existen datos contradictorios, algunos autores encuentran relación entre parámetros testiculares y seminales y otros no.

Por lo tanto, si se obtiene un material germoplásmico de toros reproductores seleccionados y adaptados a las condiciones medioambientales de nuestra realidad y a un bajo costo se podrá optimizar la ganadería y se tendrá mayor acceso al material genético de buena calidad por los ganaderos de escasos ingresos económicos.

Con la implementación práctica de esta evaluación de calidad espermática de sementales se sentarán las bases para futuros trabajos de investigación en la línea de conservación de material germoplásmico de las diferentes especies ganaderas de nuestra región.

En el presente trabajo, evaluamos las características seminales pre y post congelación y su relación con las características andrológicas en cinco toros de la raza Fleckvieh entre 1,8 a 11,3 años, de la provincia de Cutervo.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar las características seminales pre y post congelación y su relación con las características andrológicas en cinco toros de la raza Fleckvieh de la provincia de Cutervo.

Objetivos específicos

1. Medir las variables biométricas circunferencia escrotal y longitud testicular en toros de la raza Fleckvieh.
2. Determinar las características seminales pre y post congelación en toros de la raza Fleckvieh.
3. Correlacionar las características seminales con la edad y características biométricas testiculares.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes del estudio.

La circunferencia escrotal (SC) está fuertemente correlacionada con el peso del parénquima testicular ($r = 0.95$) y está directamente relacionada con la producción de células espermáticas. La circunferencia escrotal depende de la raza, edad y peso. También se conoce que los toros *Bos indicus* tienen menor circunferencia escrotal y por ende menor peso y volumen testicular que los toros *Bos taurus*. Además, se conoce que cada gramo de parénquima testicular produce entre 10 a 15 millones de células espermáticas por día. La heredabilidad del tamaño testicular en toros es moderada y alta (0.4 – 0.75). Existe alta correlación entre circunferencia escrotal y edad a la pubertad de las hijas (-0.71 a 1). Es decir que las hijas de toros con tamaño testicular superior al promedio, entran en celo antes y también son más fértiles. En el trabajo realizado por Coulter et al. (1987), citado por C. Glauber, A. Acosta, I. Repetto (1990); concluyen que la circunferencia escrotal de toros simmental de un año es de 36.0 cm y 38.8 cm para toros de dos años de edad (Glauber & G Acosta, 1990).

La correlación es positiva entre Circunferencia escrotal y fertilidad, hay una correlación negativa (- 0.71) entre edad al primer estro y circunferencia escrotal, es decir que las hijas de toros con circunferencia escrotal sobre el promedio, empezarán a ciclar más temprano. Los factores que influyen en el tamaño testicular son la edad, la raza, alimentación; el reporte de un trabajo nos indica que la media de la circunferencia escrotal a los 15 meses de edad de toros de raza simmental es de 37.17 cm. Asimismo se propone que las medidas de circunferencia escrotal mínimas de acuerdo a la edad sería la siguiente:

de 6 a 7 meses (20 cm), 12 meses (32 cm), 18 meses (33.5 cm) y 24 meses (35 cm) (Coulter, 1991).

Se conoce que SC está asociado con las características del espermatozoides y la fertilidad. Asimismo, se asocia con rasgos reproductivos en la progenie femenina; teniendo valores negativos (edad de la pubertad, edad del primer estro y edad del primer parto) y positivos (tasa de preñez y tasa de ovulación). (Burns et al., 2011).

Se ha demostrado que toros de raza Nelore seleccionados a los 12 meses de edad con mayor SC, su progenie tuvo altas tasas de preñez a los 16 meses de edad y por ende el parto más temprano (Terakado et al., 2015).

Respecto a la forma, simetría y circunferencia escrotal, se dice que la piel debe ser flexible, la pigmentación puede ser oscura o clara, el escroto óptimo es aquel que tiene un cuello bien conformado, con testículos simétricos y ligamentos fuertes. Además, la circunferencia escrotal mínima aceptable es de 30 cm a los 12 meses de edad (Medina & Bernal, 2007).

Muchos estudios sobre parámetros genéticos de las características andrológicas y calidad seminal en la especie bovina. De las variables andrológicas: consistencia, volumen, peso testicular, el perímetro escrotal es el indicador reproductivo más utilizado en programas de mejoramiento genético en bovinos y estudios de genética cuantitativa. En donde las conclusiones indican que seleccionando a reproductores con mayores perímetros escrotales la repercusión es que estos tendrán mayor producción espermática, mejor calidad seminal; además hay una correlación entre el libido, tamaño testicular, peso corporal y calidad de carcasa (Silva et al., 2012).

El perímetro escrotal tiene estimaciones de heredabilidad de moderada a alta magnitud, genéticamente está asociado a mejorar la fertilidad y longevidad de las hembras bovinas. De allí podemos decir que la adopción del perímetro escrotal como criterio de

selección permite mejorar la fertilidad de ambos sexos. También se conoce que las características seminales son influenciadas por factores ambientales y genéticos como: edad, raza, estación, número y frecuencia de eyaculados. Las correlaciones entre características biométricas testiculares y características seminales indican que, a mayor perímetro testicular, mayor motilidad con menor incidencia de patologías espermáticas.

Al evaluar el efecto de la edad y los factores ambientales sobre la producción y calidad del semen de toros Simmental austriacos, se pudo determinar que la edad de los toros afecta todas las características seminales, el volumen y el número total de espermatozoides aumentaron con la edad; pero la concentración fue menor en toros de mayor edad. Además, se observó que los primeros eyaculados fueron superiores con respecto a volúmenes de eyaculación, concentración de esperma y número total de espermatozoides por eyaculado ($P < 0.001$) (Fuerst-Waltl et al., 2006).

Al evaluar el desarrollo testicular de toros de raza Guzarat y Nellore se determinó que la circunferencia escrotal aumentó ($P < 0.01$) linealmente con la edad y el peso corporal; asimismo los coeficientes de correlación entre circunferencia escrotal y características seminales fueron positivos ($P < 0.01$) que variaron de 0.49 a 0.73 en las dos razas (Trocóniz et al., 1991).

En un estudio de evaluación de predicción de la circunferencia escrotal de toros de carne de las razas Nelore, Angus, Brangus, Hereford y Braford. En donde se pudo determinar que en las razas británicas la circunferencia escrotal debe medirse cuando los ejemplares tengan entre 500 y 600 Kg de peso corporal; asimismo se indica que en los toros *Bos indicus* y sus cruces la circunferencia escrotal debe medirse cuando los toros tengan 550 a 600 días de edad (Menegassi et al., 2019).

En un estudio sobre relación de la biometría testicular con las variables del semen en la evaluación de la solidez reproductiva de los toros Nellore, se pudo determinar lo

siguiente: La variable circunferencia escrotal, volumen testicular, la longitud y el ancho se correlacionaron positivamente con la motilidad del esperma (0,18 a 0,19) y el esperma normal (0.24 a 0.27) y se correlacionaron negativamente con los valores de defectos mayores (-0.24 a -0.27), las mismas que deben considerarse al momento de seleccionar un reproductor (Penitente-Filho et al., 2018).

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Obtención y evaluación del semen bovino

2.2.2 Recogida del Semen

La recogida del semen bovino normalmente se realiza utilizando tres métodos: la vagina artificial, electro eyaculación y masaje transrectal. En los centros de inseminación artificial se emplea de forma rutinaria la vagina artificial. Excepcionalmente en casos muy concretos, en toros con problemas físicos que no puedan realizar la monta, animales jóvenes o machos mal entrenados que se niegan a saltar, se puede utilizar el electroeyaculador y/o masaje transrectal. La vagina artificial está constituida por un tubo cilindro rígido de dimensiones diferentes en función de la edad del semental (7 cm de diámetro por 35 a 40 cm de largo). En ambos extremos del cilindro se fija la camisa de caucho que delimita una cámara interior. El espacio interior se rellena de agua a 45 °C a través de una válvula, pudiendo insuflarse también aire con el objeto de incrementar la presión y facilitar la eyaculación del semental. En uno de los extremos del cilindro se acopla el cono colector unido a un tubo graduado, protegido de la luz y del frío. Para el proceso de extracción se utiliza un animal entrenado para realizar las funciones de maniquí. La recogida de semen en toros adultos suele realizarse dos veces a la semana, En el momento de la extracción normalmente se realizan dos falsas montas sobre el semental que permanece como maniquí, con el fin de estimular al toro donante y obtener

un semen con buena concentración espermática; en la tercera monta, se introduce el pene en la vagina artificial con el fin de provocar la eyaculación. (Román et al., 2014)

El electroeyaculador es un electrodo conectado a una batería que genera descargas eléctricas no mayores a 20 voltios. Con la finalidad de estimular los nervios pélvicos simpáticos y parasimpáticos, próstata y vesículas seminales e inducir la erección del pene y eyaculación (Román et al., 2014).

El método de masaje transrectal consiste en aplicar un masaje longitudinal repetitivo hacia adelante y hacia atrás, sobre la terminación de los canales deferentes, vesículas seminales y próstata, haciendo que el semen fluya a la uretra pélvica (Román et al., 2014).

2.2.3 Evaluación del semen

El análisis del semen es una evaluación fundamental ya que una reducción en la concentración, motilidad y morfología normal de espermatozoides, proporciona información para identificar a los toros de muy baja fertilidad. Para la evaluación correcta y convencional de una muestra de semen, el ejemplar debe estar clínica y reproductivamente sano, tener buen libido y calidad espermática. Dicha evaluación incluye características seminales macroscópicas como (volumen, color, densidad, cuerpos extraños, pH) y microscópicas (motilidad masal, motilidad individual, concentración, vitalidad y morfología) (Geoffrey, 2001; Gómez & Migliorisi, 2015).

2.2.4 Evaluación macroscópica

De forma más práctica el semen es recolectado en un tubo graduado de 15 ml, el mismo que sirve para medir el valor del volumen que puede variar de 2 a 12 ml. (Gómez and Migliorisi, 2015). Pero otros autores también recomiendan que lo ideal para calcular el volumen sería pesando la muestra (Love, 2016). La variabilidad en volumen depende

mucho de la raza, edad, factores ambientales como alimentación, alojamiento, método y frecuencia de colección, número de eyaculados, época del año (Sieme, 2009).

La apariencia macroscópica del semen dependerá de su densidad, la densidad depende de la concentración de espermatozoides, composición del plasma seminal, componentes fisiológicos (células epiteliales) o patológicas (orina o sangre). El color normal debe ser un blanco lechoso con una consistencia que va desde acuosa a cremoso (Sieme, 2009).

Los estándares prácticos recomendados por la sociedad de teriogenología respecto a la densidad, relacionada con el color y la concentración es la siguiente:

Muy bueno (VG) = semen cremoso y granulado con 750 millones a 1 billón de espermatozoides por ml, Bueno (G) = semen lechoso con 400 a 750 millones de espermatozoides por ml, Regular (F) = semen similar a leche descremada con 250 a 400 millones de espermatozoides por ml y Pobre (P) = semen traslúcido (Barth, 2006).

2.2.5 Evaluación microscópica de la Calidad del Semen

2.2.5.1 Motilidad Espermática

La motilidad es uno de los parámetros más importantes de la analítica seminal. Se evalúa en dos momentos. El primero corresponde a evaluar la motilidad masal o en masa. Para lo cual se coloca una gota de semen puro en una lámina portaobjetos limpio y sin grasa, para la lectura se necesita un microscopio con platina caliente a 37 °C y usando el objetivo de 10X, se procede a observar ondas y remolinos oscuros producidos por los espermatozoides y en base a la intensidad de estas ondas, los eyaculados se clasificarán en una escala numérica de 1 a 4. Siendo 1 cuando no presenta ondas y 4 cuando las ondas se mueven rápidamente formando remolinos oscuros (Gómez and Migliorisi, 2015; Kumar Yata et al., 2020).

La evaluación de motilidad espermática ya sea de forma subjetiva u objetiva ha sido y seguirá siendo la medida más utilizada para predecir la calidad seminal y fertilidad de un toro (Utt, 2016).

La motilidad masal se evalúa de la siguiente manera:

Muy buena (VG) (4) = presencia de ondas y remolinos oscuros y rápidos

Buena (G) (3) = presencia de remolinos que se dispensan lentamente en el campo.

Regular (F) (2) = sin remolinos, pero prominente movimiento celular individual.

Pobre (P) (1) = poco o ningún movimiento celular individual.

Y por consiguiente para motilidad individual será de la siguiente forma:

Muy buena (VG) = 80 a 100 %, movimiento lineal rápido.

Buena (G) = 60 a 79 %, movimiento lineal moderadamente rápido

Regular (F) = 40 a 59 %., movimiento lineal lento y generalizado.

Pobre (P) = menos del 40 % de motilidad. Movimiento lineal muy lento y errático (Barth, 2006).

Después de la descongelación los estándares mínimos de motilidad serán de 25 %, con 60 % de acrosomas intactos. Respecto a la morfología una muestra aceptable debe tener como mínimo 70 % de espermatozoides morfológicamente normales, con menos del 20 % de anomalías no compensables de la cabeza como vacuolas nucleares y cabezas piriformes (Thundathil et al., 2016).

2.2.5.2 Aspectos Fisiológicos de la Motilidad Espermática

Las células germinales redondas se transforman en espermatozoides por diversos eventos morfológicos y modificaciones en la superficie. La transformación morfológica se produce en los testículos donde las células germinales se dividen y se transforman por meiosis en espermátidas alargadas y haploides en un proceso conocido como

espermatoogénesis. Cuyo proceso se muestra en la figura 1(Leahy & Gadella, 2011; Tecele & Gagneux, 2015).

La capacidad para fertilizar de los espermatozoides lo obtiene luego del proceso de maduración en el epitelio del epidídimo. Podemos decir que un espermatozoide es fértil y maduro cuando tiene la capacidad de: migrar a través del tracto reproductivo femenino, unirse y penetrar a través de la zona pelúcida, unirse la membrana del ovocito y producir un embrión viable. Los espermatozoides almacenados en el epidídimo corresponden a 9 días de producción testicular en los bovinos y deben permanecer viables durante dos semanas. Esto se logra reduciendo la tasa de actividad metabólica e inhibiendo su motilidad. Los factores que ayudan en la reducción de la motilidad de los espermatozoides a nivel epididimario son: reducción de la temperatura escrotal, bajo contenido de oxígeno, ausencia de glucosa, variación del contenido iónico, bicarbonato y Ca^{++} . En suma, en el epidídimo es donde se completa la diferenciación espermática posgonadal que transforma un espermatozoide testicular infértil e inmóvil en un gameto fértil y móvil (Dacheux et al., 2016).

En el complejo proceso de maduración de los espermatozoides en su paso por el epidídimo, las proteínas secretadas por las células epiteliales principales son las encargadas de proporcionar la fertilidad de los espermatozoides. Tal es así que, usando la tecnología de la genómica, transcriptómica y proteómica en la última década se han identificado miles de estas proteínas. Es necesario conocer la composición de la membrana espermática, donde predominan los lípidos, proteínas y azúcares. Tal es así que el proceso de maduración implica un cambio en la composición de esta estructura principalmente relacionado con pérdida y ganancia de proteínas en forma secuencial (Dacheux et al., 2016).

No más de 20 proteínas representan el 80 - 90 % de las proteínas lumbales totales. Y varias son comunes a diferentes especies como la lactoferrina (LFR), lipocalina 5 (LCN5), clusterina (CLU), glutatión peroxidasa (GTX5), transferrina (TF), glutatión S-transferasa (GST), etcétera (Dacheux et al., 2016).

En los bovinos la proteína que adquiere los espermatozoides en el epidídimo y que le sirve para poder unirse al ovulo en el momento de la fertilización, es una proteína anclada al glucosilfosfatidilinositol (GPI), denominada SPAM1, anteriormente llamada PH-20. Esta proteína ubicada en la cabeza del espermatozoide tiene un dominio de transmembrana, donde la hialuronidasa podrá unirse al ácido hialurónico presente en el cúmulo y a la zona pelúcida (ZP) del ovocito (Morin et al., 2010).

La secuencia fisiológica de cambios en la superficie que hace que los espermatozoides sean aptos para fertilizar el ovocito, se muestran en la figura N° 2 (Leahy & Gadella, 2011).

En el trabajo de Tecle & Gagneux (2015), nos indican que los espermatozoides están envueltos en una gruesa capa de glicocalix (capa de azúcar) que se forma durante el desarrollo, maduración y contacto de los espermatozoides con el líquido seminal. La estructura se puede apreciar en la figura 3.

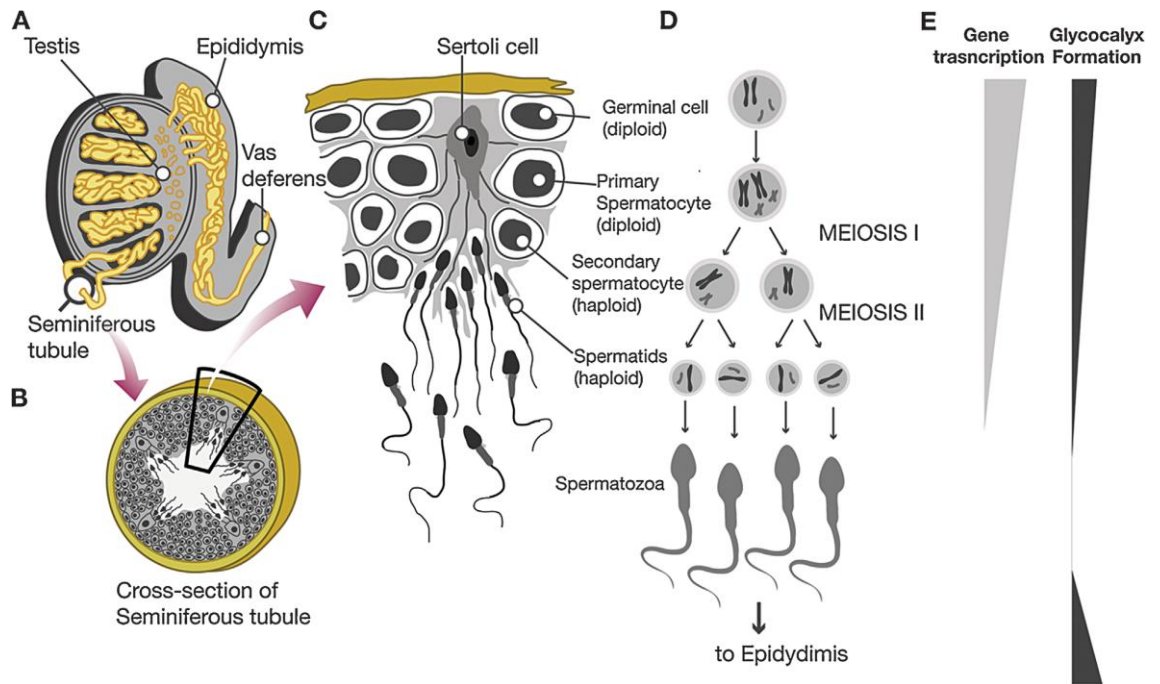


Figura 1. Espermatogénesis de mamíferos (Teclé & Gagneux, 2015).

A: la espermatogénesis tiene lugar en los túbulos seminíferos dentro de los testículos. **B:** las células germinales primordiales (espermatogonias) se diferencian en espermatidas primarias y secundarias, espermatoцитos y espermatozoides. **C:** las células de Sertoli proporcionan el ambiente para una espermatogénesis exitosa. **D:** Esquema de las meiosis I y II. **E:** Comparación de los niveles de transcripción génica y formación de glucocalix durante la maduración de los espermatozoides, de acuerdo con los plazos paralelos de 'C' y 'D'."

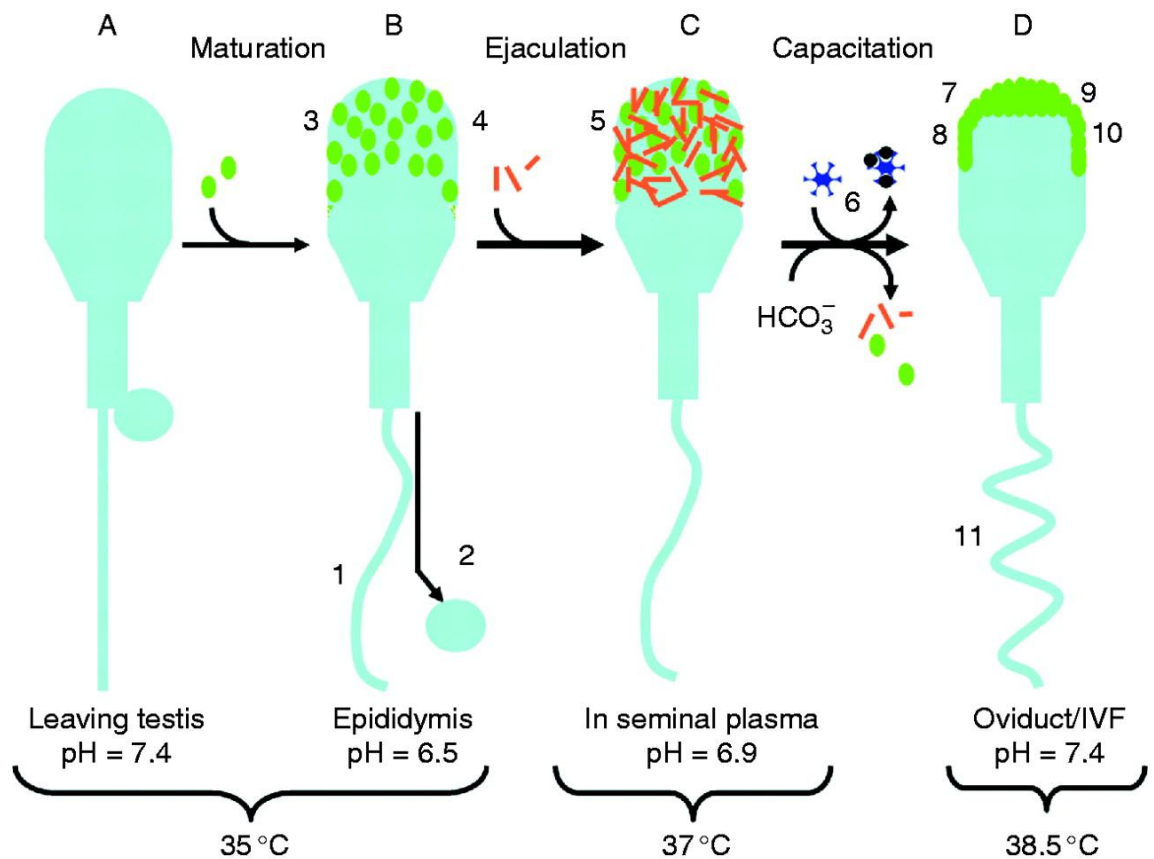


Figura 2. Secuencia fisiológica de cambios en la superficie que hace que los espermatozoides sean aptos para fertilizar el ovocito (Teclé & Gagneux, 2015).

(A) Cuando los espermatozoides abandonan los testículos, están morfológicamente completos, pero carecen de la capacidad de fertilizar el ovocito, ya que son inmóviles y contienen restos de los puentes citosólicos que sincronizan las células espermatogénicas hasta la espermiación (la gota citoplasmática). (B) En el epidídimo, los espermatozoides (1) adquieren características de motilidad, (2) pierden la gota citoplasmática y (3) experimentan una condensación final de cromatina. La superficie del esperma sufre varias alteraciones moleculares. La más importante es la adsorción de proteínas (verdes) que están involucradas en la unión de esperma-zona (4) y factores de estabilización de la superficie. (C) En la eyaculación, los espermatozoides se mezclan con plasma seminal de las glándulas sexuales accesorias. Las glucoproteínas plasmáticas seminales (naranja) se adhieren firmemente a la superficie del esperma y estabilizan eficientemente la célula

durante el transporte a través de la porción inferior del tracto genital femenino (5). (D) Cuando los espermatozoides alcanzan la porción superior del tracto genital femenino (el istmo del oviducto), se activan para capacitarse. (6) el colesterol (negro) se oxida y se elimina de la superficie de los espermatozoides mediante albúmina (azul), (7) proteínas epididimarias (verdes) agregadas en balsas de membrana en la cresta apical de los espermatozoides cabeza, (8) se produce una mezcla parcial de lípidos en la misma área (9) y los seminolípidos migran hacia el área ecuatorial de la cabeza del esperma. En el sitio citosólico, la cresta apical de la cabeza del esperma ahora está acoplada de manera eficiente y estable a la membrana acrosómica externa (10). Funcionalmente El área de la cabeza apical ahora está preparada para la fertilización ya que contiene complejos de proteínas capaces de interactuar con la zona pelúcida o la matriz extracelular de la masa del cúmulo. En la cola del esperma, un aumento en el pH del ambiente fluido evoca la extrusión de protones y las cascadas de transducción de señales provocan eventos de fosforilación de tirosina, que generan motilidad hiperactivada, probablemente por la mejora de la generación anaeróbica de ATP (11). Para más detalles y referencias, consulte la sección 'Alteraciones fisiológicas de la superficie del esperma'.

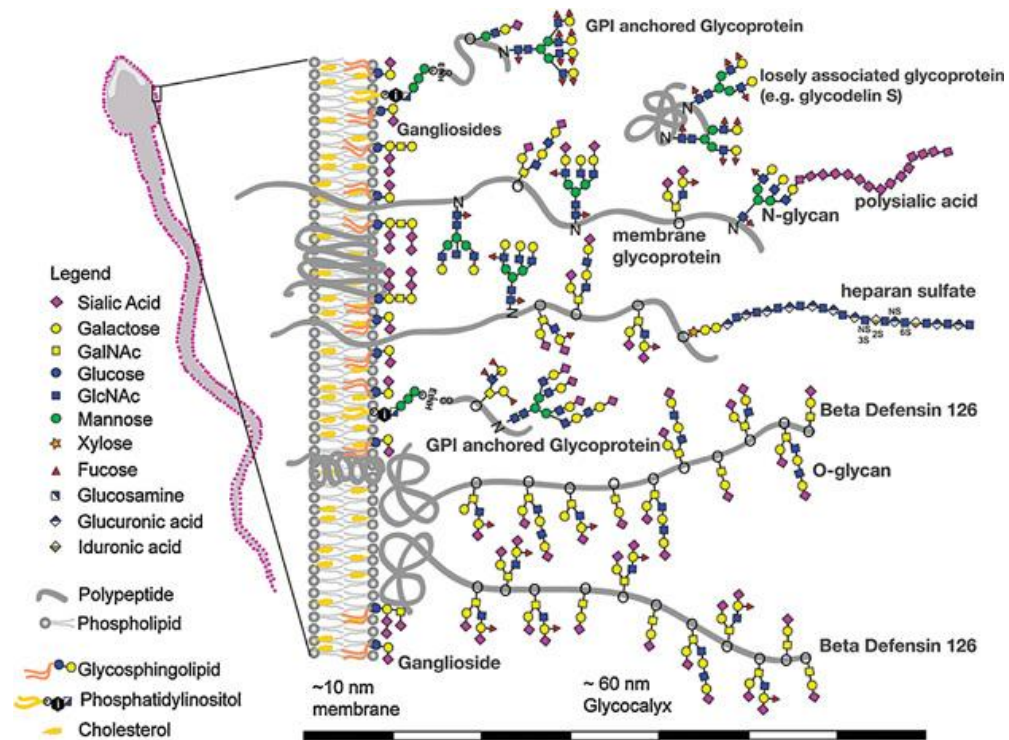


Figura 3. Diversidad estructural del glucocalix (Teclé & Gagneux, 2015).

Las principales clases de glucano y glucoconjugado del esperma glucocalix. Los monosacáridos están codificados por símbolos de colores explicados en la leyenda. Las proteínas y los lípidos son grises, excepto el colesterol (en amarillo) y los lípidos de los glucosfingolípidos (en naranja). Los mamíferos sintetizan la mayoría de los glucanos con una docena de bloques de construcción de monosacáridos diferentes; Algunos de estos monosacáridos pueden modificarse aún más por sulfatación y / o acetilación. Diversidad estructural del glucocalix (Teclé & Gagneux, 2015).

2.2.5.3 Morfología Espermática

La morfología espermática es otra característica importante que influye en la fertilidad de los espermatozoides. Las técnicas para estudiarlas son microscopía óptica, de contraste de fase y de fluorescencia. La mayor cantidad de estudios se han centrado en estudiar la morfología en la cabeza de los espermatozoides y pocos son los que han estudiado la morfología en el núcleo, el acrosoma y pieza media o flagelar. Los resultados

morfología espermática pueden variar por factores intrínsecos como: La edad, raza, madurez sexual y subespecie y por factores extrínsecos como: el medio ambiente, y el procesamiento de la muestra (Yániz et al., 2015).

Esta característica identifica espermatozoides normales y anormales, para lo cual se pueden usar técnicas simples y rápidas como la coloración a base de eosina y nigrosina, que aparte de identificar la morfología espermática se puede determinar la viabilidad de los mismos (Love, 2016).

La frecuencia de anomalías espermáticas de cualquier tipo se ha correlacionado con la fertilidad. Cuando un toro contiene un alto porcentaje de anomalías espermáticas indica que existe una disfunción genital y esto tiende a incrementarse conforme avanza la edad. Las anomalías en la cabeza de los espermatozoides se han correlacionado con una reducción en la estructura de la cromatina y por ende existe una correlación negativa con la fertilidad, principalmente aquellos espermatozoides con cabeza en forma de pera (Al-Makhzoomi et al., 2008).

Las anomalías espermáticas se pueden presentar en la cabeza, pieza media y cola más cualquier remanente citoplásmico anormal. Los remanentes citoplásmicos o gotas citoplasmáticas generalmente se encuentran alrededor del cuello y pieza media pero ocasionalmente aparecen a lo largo de cola y alrededor de la cabeza, las gotas citoplasmáticas se consideran normales cuando son menores que un tercio del tamaño de la cabeza, pero se consideran anormales cuando son mayores a un tercio en relación al tamaño de la cabeza del espermatozoide. Las principales anomalías en el flagelo son: colas dobladas o rotas, horquilladas, cortas, enrolladas y gruesas. A nivel de la cabeza se puede encontrar espermatozoides con doble o triple cabeza, cabezas alargadas o piriformes, espermatozoide con macro y microcefalia, ausencia del acrosoma, espermatozoides con cabezas dismorfas o extrañas (Rothmann & Bort, 2018).

Otra forma de clasificación de las anormalidades es en primarias y secundarias. Los defectos primarios tienen su origen dentro de los testículos durante el proceso de espermatogénesis; y los defectos secundarios se originan dentro del epidídimo. Los rangos aceptables que se debe tener en un eyaculado son: 70 % de espermatozoides normales, 15 a 20 % en defectos nucleares, 25 % de defectos acrosómicos y en la cola del espermatozoide (Barth, 2006).

2.2.6 Crío preservación del semen bovino

El semen bovino se colecta, se evalúa, se diluye, se enfría y se congela de forma indefinida en nitrógeno líquido.

2.2.6.1 Enfriamiento y shock por frío.

Todos los diluyentes deben proporcionar ciertas condiciones a los espermatozoides, una de ellas es la capacidad de amortiguación y los componentes que hacen esta acción son: Citrato, solución salina con fosfato, Tris (hidroximetil aminometano), HEPES, TES (ácido N-tris (hidroximetil) metil -2-aminoetano sulfónico), tricene, proteína de leche descremada y lecitinas de origen vegetal. De esta manera se facilita la actividad metabólica en el periodo de ambientación o descenso de la temperatura a 5 °C. (“shock térmico” o “crio capacitación”) Por otro lado es necesario mantener una presión osmótica de 285 mOsmol, aunque los espermatozoides pueden tolerar diluyentes ligeramente hiperosmóticos. Por otro lado, los azúcares simples como la glucosa, fructosa, manosa, arabinosa sirven se sustratos para proveer energía (Parkinson & Morrell, 2019).

El shock térmico causa daño en la membrana celular y provoca la pérdida de potasio intracelular, enzimas, lípidos, colesterol, lipoproteínas y ATP. Haciendo que los espermatozoides sean más permeables al calcio. La forma efectiva para proteger a los espermatozoides del shock térmico es agregando a los diluyentes yema de huevo, leche descremada, leche de coco. Los componentes químicos de estas sustancias que protegen

a los espermatozoides son las lipoproteínas de baja densidad (LDL), lecitinas; quienes forman una capa protectora o reemplazan los fosfolípidos de membrana que se pierden o dañan, pero también uniéndose a las proteínas del plasma seminal bovino (BSP) y evitando que estas se unan a la membrana del espermatozoide y provoque la pérdida de fosfolípidos y colesterol (Parkinson & Morrell, 2019).

El proteoma espermático en las principales especies de animales domésticos indica por ejemplo que existen 1723 proteomas en el semen de los cerdos; de las cuales 22 son las más abundantes en espermatozoides eyaculados que los que se encuentran en el epidídimo, de la misma manera de los 685 proteomas en el semen del carnero, 37 son las más abundantes. Datos encontrados por Pérez-Patiño, citados por (Rickard et al., 2019).

En un reporte sobre cambio en la superficie del esperma y consecuencias fisiológicas inducidas por el manejo y almacenamiento de los espermatozoides. Nos indica que cuando los espermatozoides interactúan con su entorno inmediato, este contacto remodela la superficie de los espermatozoides preparándolos para el proceso de fertilización. Dichos eventos incluyen la capacitación, no es más que un pequeño proceso de desestabilización de la membrana perdiendo los factores de decapitación, cambios en la organización lateral de las proteínas y lípidos.

La secuencia fisiológica de cambios en la superficie que hace que los espermatozoides sean aptos para fertilizar el ovocito se muestra en la figura 2 (Leahy & Gadella, 2011).

Hay que conocer también que los espermatozoides están cubiertos por una capa gruesa de glicocálix y lo adquiere durante el desarrollo (solo aquí puede sintetizar glucanos de Novo), maduración (a nivel de epidídimo se producen glucoproteínas y glucolípidos unidos con glucofosfatidilinositol y glucado que facilita la unión con la

membrana de espermatozoide) y al momento del contacto con el líquido seminal. La glicocálix favorece la supervivencia en el tracto femenino: Inhibiendo la capacitación prematura, paso a través del moco cervical, protección contra la inmunidad femenina, formación del reservorio de esperma y protegiendo las proteínas espermáticas que intervendrán en la fertilización (Teclé & Gagneux, 2015).

2.2.6.2 Crío preservación y crioprotectores.

La crío preservación del esperma facilita el almacenamiento y transporte; pero el procedimiento en sí expone a las células al estrés, provocando daño celular que compromete la funcionalidad que muchas veces es irreversible. Para minimizar esto es necesario de agentes crioprotectores como el glicerol en concentraciones de 3-4 % si el extensor tiene disacáridos o 7 % si no tiene disacáridos (Parkinson & Morrell, 2019).

Los agentes crioprotectores se clasifican en penetrantes o permeables como el glicerol, dimetilsulfoxido (MDSO), dimetil acetaldehído, propilenglicol y etilenglicol que ingresan a través de la membrana plasmática y reemplazan el contenido de agua, reduciendo el daño de los solutos porque evita la formación de cristales. Crioprotectores no penetrantes o no permeables como la rafinosa, sacarosa, citrato de yema de huevo, albúmina, polietilenglicol, polivinilpirolidona. No penetran la membrana celular y actúan acelerando la deshidratación en un proceso de enfriado rápido, minimizando la formación de cristales de hielo intracelular (Hezavehei et al., 2018; Parkinson and Morrell, 2019; Sieme et al., 2016).

También se están usando los antioxidantes para neutralizar las ROS (especies reactivas de oxígeno) y el estrés oxidativo durante la congelación. Según su estructura química los antioxidantes se dividen en enzimáticos (glutación peroxidasa = GPx, SOD y catalasa) y no enzimáticos (vitamina E, vitamina C, selenio, zinc). Además, se está utilizando algunas proteínas anticongelantes (AFP) y glucoproteínas anticongelantes (AFGP), que actúan disminuyendo el punto de congelación, inhibiendo la formación de

cristales de hielo y estabilizando los fosfolípidos y ácidos grasos insaturados de las membranas plasmáticas, preservando la integridad de la membrana (Hezavehei et al., 2018)

El principio de la criobiología está basado en la “hipótesis de dos factores” respecto a las lesiones de las células durante la congelación, fue diseñada por Peter Mazur en 1972. Cuyos postulados son: “algunos de nosotros creemos que hay al menos dos factores responsables de las lesiones, y que uno de ellos es la formación de hielo dentro de la célula”; "La existencia de una velocidad de enfriamiento óptima debe significar que la supervivencia se ve afectada por al menos dos factores que dependen opuestamente de la velocidad de enfriamiento". El segundo es el efecto osmótico, que provoca la deshidratación celular (Pegg & Kleinhans, 2016).

Las células muestran una velocidad de enfriamiento óptima específica, donde los daños producidos por la deshidratación (lesión por efecto de los solutos) y la formación de cristales de hielo intracelular es mínimo, asegurando que la supervivencia celular después de la descongelación sea máxima. Todo esto depende de la permeabilidad hidráulica de la membrana (Mazur, 1963).

La permeabilidad de membrana disminuye conforme va descendiendo la temperatura, pero los agentes crioprotectores aumentan la permeabilidad de las membranas para el agua, facilitando la deshidratación de las células cuando son expuestas a temperaturas de congelación e incluso a temperaturas bajo cero (Akhoondi et al., 2011).

En el proceso de crío preservación ocurren los siguientes eventos: En primer lugar, cuando la temperatura del medio extracelular cae por debajo del punto de congelación se forman cristales de hielo, los que hacen que se incremente la concentración de solutos y por ende la presión osmótica. Como consecuencia ocurre una deshidratación celular por

la eminente pérdida de agua hacia la parte externa de la célula para mantener el equilibrio en la concentración de solutos. Si las células se deshidratan más de lo normal puede ser letal, esto ocurre cuando se realiza un proceso de congelación lento. La segunda forma que puede ser letal para la célula es cuando se ejecuta un proceso de congelación rápido que evita que la célula se deshidrate y por lo tanto quede la suficiente cantidad de agua en el espacio intracelular promoviendo la formación de cristales de hielo que producen daño físico a las membranas internas (Parkinson & Morrell, 2019; Sieme et al., 2016).

A los dos efectos mencionados anteriormente también hay que añadir la velocidad de congelación y temperatura de descongelación. Cuando las células se enfrían muy rápido, no pierden la suficiente cantidad de agua y facilita la formación de cristales internos y cuando la velocidad es muy lenta las células pueden perder demasiada cantidad de agua inducidas osmóticamente (Parkinson & Morrell, 2019; Sieme et al., 2016).

En suma, el proceso de crio preservación de esperma involucra los siguientes procesos: colección de semen, dilución en el extensor (que contiene nutrientes y protectores), envasado (generalmente en pajillas de plástico de 0.25 o 0.5 ml), enfriamiento (lentamente desde la temperatura ambiente hasta los 5 °C a una velocidad aproximada de 0.1 a 0.3 °C min⁻¹), por un tiempo de 4 horas; luego se realiza la congelación (a una velocidad de 10 a 60 °C min⁻¹ hasta temperaturas tan bajas como -80 o -120 °C.), Después las pajuelas se sumergen en nitrógeno líquido para su almacenamiento y conservación (Kumar Yata et al., 2020; Sieme, 2009).

Para la congelación, las pajuelas se colocan de forma horizontal sobre un bastidor o rampa. La rampa con las pajuelas se introduce en un congelador que tiene graduado la velocidad de disminución de la temperatura de forma automática. Pero una forma práctica es colocar el bastidor con las pajuelas en una caja de poliestireno (Tecnopor) cerrada, para ser expuestas primeramente al vapor del nitrógeno líquido por un tiempo (10 minutos) y

una distancia (6 cm) sobre el nivel del nitrógeno (Kumar Yata et al., 2020; Sieme et al., 2016).

El proceso de descongelación de las pajuelas debe ser rápido porque si se hace de forma lenta, nuevamente se formarían cristales de hielo que podrían producir daño en la membrana celular. En la práctica las pajuelas se descongelan en agua tibia con un rango de temperatura de 30 a 37 °C por 10 a 30 segundos (Kumar Yata et al., 2020; Parkinson & Morrell, 2019).

2.2.7 Criterios para el rechazo de eyaculados

Los eyaculados que tienen menos de 1 ml, menos que 300×10^6 spz/ml, calificación 4 de motilidad masal y menos de 75 % de motilidad individual (Karoui et al., 2011).

2.2.8 Factores que influyen en las características seminales.

2.2.8.1 Factores ligados a la raza.

En el trabajo realizado por (Morrell et al., 2017), estudiaron las variables: Integridad de la membrana plasmática, integridad de la cromatina, estado del acrosoma, actividad mitocondrial y especies reactivas de oxígeno, como indicadores de calidad y fertilidad espermática de seis razas de toros. En donde se pudo demostrar que las características seminales indicadoras de fertilidad varían de acuerdo a la raza de los toros.

2.2.8.2 Efecto de la estación

Si bien es cierto el ganado bovino no es estacional, pero se reportan muchos estudios de donde se evaluaron el efecto de la temporada del año especialmente el estrés por calor sobre la calidad espermática. El estrés por calor disminuye considerablemente la calidad del esperma de toros de la raza Simmental, Limousin y Yanbian. Se menciona que existe un cambio en la actividad enzimática acrosómica, las proteínas de choque térmico inducible (HSP), específicamente la HSP60 y HSP70 se incrementaron y la

HSP90 disminuyó. Por lo tanto la nueva hipótesis del efecto negativo del estrés por calor sobre la calidad de los espermatozoides está relacionada con la susceptibilidad de la proteína HSP90 (Cheng et al., 2016).

También se ha evaluaron algunas características seminales bajo la influencia de un descriptor ambiental continuo (combinación de temperatura y humedad), en donde se determinó el umbral de estrés térmico igual a 60. Indicando que valores superiores a 60 sería perjudiciales para las variables: volumen, concentración, motilidad y número de dosis por eyaculado (Al-Kanaan et al., 2015).

2.2.8.3 Frecuencia de la colecta:

La frecuencia de la colecta entra en el contexto del manejo del macho. El ritmo de la colecta se elige de una manera que evite el estrés al animal, ya que éste tiene un efecto negativo sobre el comportamiento sexual. Varios autores han encontrado un descenso tanto del volumen como de la concentración cuando el ritmo de colecta es muy frecuente. Asimismo, cuando el animal está sometido a un efecto de estrés térmico, el efecto perjudicial se reduce cuando los intervalos entre colectas se hacen más largos (Al-Kanaan et al., 2015).

2.2.8.4 Número de eyaculado:

En la investigación realizada por (Olsen et al., 2020). Determinaron que el volumen seminal aumenta conforme aumenta el número de eyaculados, y aún más con un intervalo más largo entre colecciones, la concentración y motilidad también se incrementaron conforme se incrementaron el número de eyaculados.

En otros trabajos determinaron que la concentración es mayor en el primer eyaculado, mientras la motilidad no se vio afectada o disminuyó en el primer eyaculado. Teniendo en cuenta que el “número de eyaculados” se refieren a la cantidad de eyaculados tomados en el mismo día (Karoui et al., 2011).

2.2.9 Variables biométricas testiculares.

2.2.10 Medida del tamaño testicular.

La revisión sobre comprender y evaluar los testículos bovinos, hace referencia que las mediciones testiculares de los bovinos tienen mucha relevancia desde el año 1979, en esas épocas el peso testicular tenía mucha relevancia en la producción espermática, pero el peso no se puede determinar de forma directa, por lo que se han desarrollado mediciones indirectas de los testículos y escroto como: longitud, diámetro y ancho de los testículos, circunferencia escrotal (SC) y volumen testicular. Hay que tener en cuenta que conociendo la SC se puede predecir el peso testicular cuyas correlaciones están entre (0.89 a 0.95 en toros de razas lecheras y 0.95 en toros de razas cárnicas). Asimismo, se conoce la correlación entre SC y producción de esperma en toros jóvenes de razas lecheras es de 0.81. La heredabilidad promedio de la SC de varios estudios es de 0.61 (Kastelic, 2014).

Para determinar la circunferencia escrotal se usa una cinta métrica la que se hace pasar alrededor del mayor diámetro del testículo. Las longitudes (dorsoventral) y diámetros (medio-lateral) se usan una regla. Para determinar el volumen testicular (V) se usa la fórmula para calcular el volumen de un cilindro. A saber: $V = 2\{(R)^2 \times \pi \times TL\}$, donde: R = radio (diámetro/2), LT = longitud testicular y $\pi = 3.14$ (Rodrigues et al., 2020).

Las medidas de circunferencia escrotal son significativas entre las razas, en un estudio donde se evaluaron 7918 toros de las razas Simmental, Angus, Charoláis, Hereford, Shorthorn y Limousin, los datos de 941 toros de la raza simmental indicaron que las medidas aceptables de circunferencia escrotal al año y dos años de edad son: 36 ± 0.2 y 38.8 ± 0.1 cm. Respectivamente. Los datos de otras razas se muestran en la tabla N° 1 (Coulter et al., 1987).

Tabla A. Efecto de la Raza en la Circunferencia Escrotal en Toros de Carne de 1 y 2 años.

Raza	2 años			1 año	
	N° de toros	Circunferencia escrotal	Rango	N° de toros	Circunferencia escrotal
Simmental	540	38.8 ± 0.10	29 - 47	401	36 ± 0.2
Aberdeen Angus	629	37.2 ± 0.09	28.5 - 47	260	33.9 ± 0.1
Charoláis	499	36.3 ± 0.09	28.5 - 44	607	33.1 ± 0.1
Hereford (con cuernos)	3 769	36.1 ± 0.03	26 - 47	614	32.9 ± 0.1
Hereford (sin cuernos)	2 170	35.6 ± 0.04	28 - 41	332	32.3 ± 0.2
Shorthorn	231	34.9 ± 0.04	25 - 45.5	147	32.5 ± 0.2
Limousin	80	32.2 ± 0.18	25 - 37	276	30.3 ± 0.3

Tabla B. Circunferencia escrotal mínima en toros de raza simmental y shorton.

Edad (meses)	Razas y edad de toros de carne			
	Simmental	Angus y Charolais	Hereford y Shorthorn	Limousin
12 - 14	33	32	31	30
15 -20	35	34	33	32
21 -30	36	35	34	33
> 30	37	36	35	34

CAPÍTULO III

CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

3.1 Hipótesis

La edad y características andrológicas influyen directamente sobre las características seminales pre y post congelación, en cinco toros de la raza Fleckvieh de la provincia de Cutervo.

3.2 Localización del estudio.

El estudio se realizó entre enero y mayo del 2013, en los distritos de San Luis de Lucma y la Ramada de la provincia de Cutervo

Los datos meteorológicos de la provincia de Cutervo son los siguientes*

Altitud: 2 668 metros de altitud.

Latitud: 6° 22'46.7''

Longitud: 78° 48'18.44''

Temperatura: máxima (22.2 °C), mínima (5.4 °C)

Humedad relativa: 75.2 %

3.3 Población, muestra y unidad de análisis.

Se trabajó con cinco toros de raza Fleckvieh entre 1.8 a 11.3 años de edad, clínicamente sanos y libre de enfermedades, pertenecientes a dos productores y criadores de la raza en los distritos de la Ramada y San Luis de Lucma en la provincia de Cutervo. Que eran usados como reproductores en empadre natural.

La unidad de análisis fueron 50 muestras de semen, colectadas con vagina artificial (38 – 40 °C).

* Fuente: <https://www.senamhi.gob.pe/?&p=estaciones>

3.4 Materiales.

3.4.1 Material biológico.

50 muestras de semen de cinco toros de raza Fleckvieh

3.4.2 Material de campo y laboratorio.

- ✓ Vagina artificial
- ✓ Material de vidrio (tubo colector graduado, probetas, etc.)
- ✓ Cubeta con agua
- ✓ Tijeras
- ✓ Toallas de papel absorbentes.
- ✓ Cinta métrica.
- ✓ Guantes estériles.
- ✓ Diluyente previamente preparado.
- ✓ Lubricante
- ✓ Microscopio.
- ✓ Baño maría.
- ✓ Material de vidrio (matraces, probetas, pipetas, portaobjetos, cubreobjetos)
- ✓ Papel filtro.
- ✓ Agua bidestilada estéril.
- ✓ Jeringas descartables (1,3,5, 10 y 20 ml.)
- ✓ Pinzas
- ✓ Refrigeradora.
- ✓ Dispositivos para llenado y sellado de pajillas.
- ✓ Termo criogénico con nitrógeno líquido de 20 Kg. De capacidad.
- ✓ Bastones de aluminio.
- ✓ Goblets de plástico.
- ✓ Pajillas de 0.5 ml.
- ✓ Block de distribución y rack de congelación.
- ✓ Autoclave.
- ✓ Cronómetro.
- ✓ Micropipeta.
- ✓ Tips.
- ✓ Regla para medir nitrógeno

3.5 Metodología

3.5.1 Tipo y diseño de estudio.

El diseño de la investigación corresponde a un estudio descriptivo y analítico.

3.5.2 Identificación y selección sementales.

Este estudio se realizó con cinco sementales reproductores con edades comprendidas entre 1,8 y 11,3 años. Como criterio de selección de los sementales, se tomó en consideración las características fenotípicas propias de la raza y aquellos toros que eran usados como reproductores.

- **Alimentación.** Programa de alimentación únicamente al pastoreo a base de pasturas naturales de la zona y asociación de rye Grass-trébol.
- **Evaluación sanitaria.** Se realizó la evaluación clínica descartando la presencia de algún síntoma de alguna enfermedad infectocontagiosa.
- **Evaluación de las características andrológicas.**

Para calcular la circunferencia escrotal (SC) y longitud testicular se usó una cinta métrica.

3.5.3 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La obtención de las muestras seminales se realizó a través de una vagina artificial, la frecuencia de colecta fue una vez por mes, en cada sesión de colecta se tomaron de dos a tres eyaculados por cada toro.

3.5.4 Evaluación de características seminales

Valoración macroscópica:

Volumen del eyaculado

Se realizó sobre el semen fresco, determinándose el volumen del eyaculado por observación directa de los tubos colectores graduados de 15 ml. Estos tubos de recogida se colocaron, inmediatamente tras la obtención del eyaculado, en un baño

maría a 37 °C manteniéndose temperados durante todo el proceso de evaluación seminal.

Color del eyaculado

El color del eyaculado también se observó directamente en el tubo colector por observación directa del mismo. Esta valoración se realizó siempre por el mismo observador y nunca pasados más de 5 minutos desde la recogida. Se observaron, además, posibles irregularidades en cuanto al olor o aspecto que pudiera presentar algún eyaculado. Se tomó en cuenta los estándares prácticos de la sociedad de teriogenología respecto a la densidad, relacionada con el color y la concentración, en donde se obtienen eyaculados:

Muy bueno (VG) = cremoso y granulado (750 a 1 billón de spz/ml).

Bueno (G) = lechoso (400-750 spz/ml).

Regular (F) = Acuoso (250-400 spz/ml)

Pobre(P) = Traslúcido.

Valoración microscópica:

Motilidad masal o en Masa (MM)

Se valoró depositando una gota de la muestra seminal fresca sin diluir sobre un porta-objetos temperado a 37 °C en una placa térmica y se observó la muestra en un microscopio óptico a 10X. Se evaluó de forma subjetiva la formación de ondas y remolinos oscuros producidas por la masa espermática en movimiento en una escala de 1 a 4.

1.- Pobre (P) = poco o ningún movimiento celular individual.

2.- Regular (F) = sin remolinos, pero prominente movimiento celular individual.

3.- Buena (G) = presencia de remolinos que se dispensan lentamente en el campo

4.- Muy buena (VG) = presencia de ondas y remolinos oscuros y rápidos.

Motilidad individual progresiva

Se estimó el porcentaje de espermatozoides en movimiento (de 0 a 100). Se obtuvo mediante observación en microscopio óptico a 100X de una gota seminal, generalmente diluida, colocada entre el portaobjetos y cubreobjetos previamente temperados en platina térmica a 37 °C.

Concentración

La concentración espermática de los eyaculados se determinó manualmente mediante una cámara newbauer, se colocó 10 µl de muestra de semen diluida 1/200 y se usó la cámara central. Las variables utilizadas para realizar los cálculos fueron los siguientes: factor de dilución, recuento medio de espermatozoides, área evaluada y profundidad de la cámara. Según lo mostrado por (Brito et al., 2016) .

Vitalidad espermática mediante la tinción eosina-nigrosina

El recuento de espermatozoides vivos se llevó a cabo individualmente en cada uno de los eyaculados recogidos. Una gota de 5µl del colorante, precalentado a 37 ° C, se colocó en el borde de un portaobjeto y sobre él se añadirá otra gota del mismo volumen del semen a analizar y también mantenido en el baño termostático a 37 ° C. Una vez mezcladas ambas gotas, se deslizó un portaobjetos, con un ángulo de 30-40 °, sobre otro portaobjeto, para obtener una extensión que se seca rápidamente al aire. Se evaluaron 200 células, bajo microscopio óptico a 100X y con aceite de inmersión.

Esta tinción se realizó para obtener el porcentaje de células vivas y muertas de cada muestra analizada, Si el espermatozoide se encuentra muerto, la membrana plasmática permite el paso de la eosina y la cabeza del espermatozoide aparece tenida de color rosa, indicando una alteración de la membrana citoplasmática. En las células vivas, la cabeza es de color blanco, indicando que presentan una membrana funcional, ya que no permite el paso de la eosina.

Preparación de diluyentes y procedimiento de preservación seminal

Preparación y almacenamiento del diluyente AndroMed

El contenido (200 ml) de un frasco de AndroMed® se mezcló con 800 ml de agua destilada estéril previamente temperada a +30 ° C hasta +35 ° C. Es posible preparar volúmenes menores, siempre que se mantenga la proporción de 4 partes de agua con 1 parte de concentrado.

Dilución del semen

Después de la recolección de los eyaculados, estos fueron diluidos con diluyente comercial AndroMed, a temperatura ambiente en alícuotas de igual volumen seminal, hasta que se le realice los cálculos necesarios para determinar el número de espermatozoides totales de la muestra. Esto con el objetivo de calcular el número de dosis de cada eyaculado, así como para determinar el volumen total de diluyente requerido. El volumen final del diluyente que añadimos se calculó dividiendo el número total de espermatozoides de la muestra entre 200×10^6 , haciendo esto con el único objetivo de conseguir que cada mililitro de muestra contenga 200×10^6 millones de espermatozoides.

Envasado del semen

Para realizar esta fase, se usó pajillas de PVC de 0,50 mL. La operación se llevó a cabo a temperatura ambiente, utilizando el sistema de llenado de aspiración manual, con la ayuda de barquetas, soporte de barquetas y peines de aspiración. Las pajuelas se llenarán dejando una cámara de aire de aproximadamente 1 cm de longitud en el extremo abierto de la pajuela, para evitar el contacto directo del semen con el sistema de sellado. El sellado de las pajuelas se realizó con alcohol polivinílico.

Seguidamente, las dosis fueron colocadas dentro de una cubeta con agua a temperatura ambiente. Cabe destacar que cada pajuela de 0,5 ml contiene

aproximadamente 100×10^6 millones de espermatozoides, y que cada una de ella representa una dosis seminal.

Refrigeración del semen

Tras aproximadamente 20 minutos de equilibrio a la temperatura ambiente, las muestras pasaron a la refrigeradora a una temperatura de 4°C , durante 12 horas. Esta fase constituye el periodo de equilibrado, que persigue obtener un descenso lento de la temperatura de la muestra, desde temperatura ambiente hasta 4°C .

Congelación y conservación seminal

Las muestras fueron sometidas al proceso de congelación en caja de Tecnopor acondicionada y con capacidad para congelar 200 dosis/congelación. La operación se llevó a cabo de acuerdo a la siguiente rampa de descenso: de $+4^{\circ}\text{C}$ a -10°C a velocidad de $+5^{\circ}\text{C}/\text{min.}$; de -10°C a -100°C a una velocidad de $+40^{\circ}\text{C}/\text{min.}$; de -100°C a $-140^{\circ}\text{C}/\text{min}$ a una velocidad de $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Posteriormente, las muestras fueron sumergidas en caja de Tecnopor con nitrógeno líquido y clasificadas en globets para su posterior almacenaje en contenedor de nitrógeno líquido, hasta el momento de su utilización.

Descongelación y estimación subjetiva de la calidad del semen

La técnica de descongelación consiste en sumergir completamente las pajuelas en un termo a 37°C durante 60 segundos.

Posteriormente, tras el secado de las pajuelas y para evitar sesgos o errores en la valoración de la calidad de las muestras, cada una será depositada en un tubo eppendorf de 1,5 ml, sumergido en baño termostático en seco por un periodo de 5 minutos. Trascorrido dicho periodo, se tomaron $5\ \mu\text{l}$ de semen con pipeta y se depositaron en un portaobjeto previamente temperado en platina termostática a 37°C . Luego, con la

ayuda de un microscopio se evaluó visualmente la viabilidad y la progresividad espermática. De cada eyaculado congelado, se eligieron, al azar, al menos 3 pajuelas por congelación/seminal, sacando una media general de las tres muestras. La prueba de descongelación se realizó, inmediatamente después de terminar el proceso de congelación. Aquellas dosis con un porcentaje de espermatozoides motiles superior al 50 % fueron almacenadas en los contenedores, formando parte del “Banco de Semen de la Raza”.

Las evaluaciones de la calidad seminal (porcentaje de espermatozoides motiles y motiles progresivos) fueron realizadas por la misma persona a lo largo del experimento.

3.5.5 Técnicas de procesamiento y análisis de Datos.

Los resultados obtenidos fueron procesados empleando el programa Minitab (MINITAB Release 12.22, 1998), Las características seminales se reportan en tablas con estadísticos descriptivos de promedio, mediana, desviación estándar, mínimo y máximo, Para comparar los toros se usó la prueba (T Student), previa prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, para ver la relación de características seminales con características testiculares y la edad se usó r de Pearson.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Tabla 1. Estadísticos descriptivos: Circunferencia escrotal (Cm), Longitud testicular (Cm), Edad (años).

Variable	N	Media	C. V. (%)	Mínimo	Máximo
Circunferencia escrotal (Cm)	5	40.60±3,78	9.31	37.00	46.00
Longitud testicular (Cm)	5	19.80±2.95	14.90	15.00	22.00
Edad (años)	5	5.30±3.70	69.88	1.80	11.30

Existe distribución normal en la circunferencia escrotal, longitud testicular y la edad en años ($P>0.05$ - anexo 1). Presentándose un elevado coeficiente de variación (69.88 %) en la edad de los toros, debido a que existe un toro de 11.3 años en comparación a los otros toros que están entre 1.8 a 6.2 años.

Tabla 2. Características seminales macroscópicas: Volumen seminal (ml) de cinco toros de raza Fleckvieh.

Toros	N°	Media (ml)	Mediana (ml)	Coeficiente de Variación %
Campeón	9	3.6±1,1	3.00 c	31.00
Messi	10	6.1±3	6.75 ab	48.38
Ollanta	13	4.8±0,9	5.00 bc	19.48
Tesoro	10	8.8±2,6	8.25 a	29.54
Rocki	8	7.2±2,1	7.00 a	29.50

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($P<0.05$ -Kruskal y Wallis)

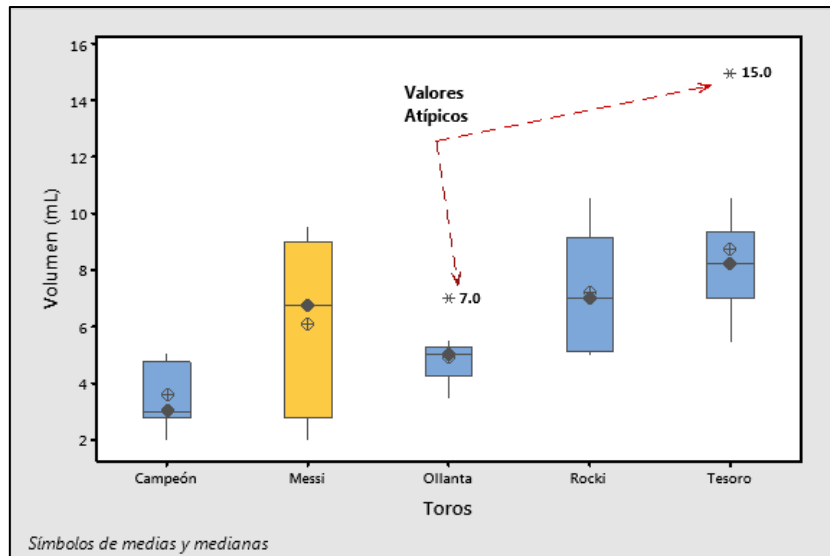


Figura 4. Gráfica de Caja de Bigotes del volumen seminal (ml) en cinco toros de raza Fleckvieh.

Los volúmenes de semen colectados con diferente número de eyaculados no tienen una normalidad o simetría en los cinco toros ($P > 0.05$), donde a la prueba de Kruskal y Wallis fue significativo ($P < 0.05$ - anexo 2), al comparar las medianas del volumen seminal entre los toros, observado en la tabla 2, indica que el mayor volumen fue para los toros Tesoro (8.25 ml) y Rocki (7.2ml) y los menores volúmenes fueron para los toros Ollanta (5 ml) y Campeón (3 ml). El volumen seminal observado en la figura 4, indica que el toro Messi tiene mayor variabilidad o dispersión en su producción de volumen seminal, el que tiene menor variabilidad es el toro Ollanta, presentando valores atípicos el toro Ollanta y Tesoro.

Existiendo una relación directamente proporcional ($p < 0.01$; $r: 0.45$; $IC_{95\%}: 0.2-0.6$) entre la edad y el volumen del eyaculado de toros, ($p < 0.01$; $r: 0.58$; $IC_{95\%}: 0.3-0.7$) entre la circunferencia escrotal y el volumen del semen del toro ($p < 0.01$; $r: 0.43$; $IC_{95\%}: 0.17-0.6$) entre la longitud testicular y el volumen del semen del eyaculado del toro, correlaciones de moderas a fuertes, podría ser debido al bajo número de muestras de los toros.

Tabla 3. Características seminales macroscópicas: Aspecto y volumen seminal (ml) de los eyaculados de cinco toros de raza Fleckvieh.

Aspecto	Número	%	Volumen Promedio (ml)	Volumen Mediana (ml)	Toros
Denso amarillento	13	26	4.85	5b	Ollanta
Denso cremoso	27	54	5.57	5b	Campeón, Messi, Rocki
Denso lechoso	10	20	8.75	8.25a	Tesoro
Todo	50	100			

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$ -Kruskal y Wallis)

Se determinó que no existe normalidad en la variable volumen mediante la prueba de Anderson Darly, así como no hay igualdad de varianzas a la prueba de Levene, a la prueba de Kruskal y Wallis.

Se realizaron 50 colectas de cinco toros (Tabla 3- anexo 3), donde el semen de los toros Campeón, Messi y Rocki mostraron un aspecto denso cremoso que corresponde a un 54% (27), el 26% fue denso amarillento que pertenece al toro Ollanta y el 20% fue denso lechoso correspondiente al toro Tesoro. Demostrando que el aspecto del eyaculado del toro no depende del número de colectas, sino que es una característica del mismo toro.

Según el aspecto del semen con lo relacionado al volumen, esto fue significativo ($P < 0.05$) a la prueba de Kruskall y wallis (Anexo 3), siendo mayor el volumen el semen de aspecto Denso Lechoso que corresponde al toro Tesoro. Los volúmenes del semen del aspecto denso cremoso (Campeón, Messi y Rocki) y denso amarillento (Ollanta) fueron similares, pero menores al volumen del semen de aspecto denso lechoso.

Tabla 4. Características seminales macroscópicas: Aspecto del semen de cinco toros de raza Fleckvieh según el número de eyaculados.

	Denso amarillento	Denso cremoso	Denso lechoso	Todo
Toros	Ollanta	Campeón, Messi, Rocki	Tesoro	
Primer eyaculado	5	13	4	22
%	38.5	48	40	44
Segundo eyaculado	5	13	4	22
%	38.5	48	40	44
Tercer eyaculado	3	1	2	6
%	23	4	20	12
Todo	13	27	10	50
%	100	100	100	100

A la prueba de Chi cuadrado no existió efecto ($P>0.05$) del número de eyaculados con lo relacionado al aspecto del semen, observándose en la tabla 4 anexo 4, que el mayor número de colectas fueron para los dos primeros eyaculados 22 (44% c/u) y en menor cantidad para la tercera colecta 6 (12%) o eyaculado realizado a cada toro

Tabla 5. Motilidad Masal del semen y su relación con el volumen y concentración seminal de cinco toros de la raza Fleckvieh.

Motilidad Masal (MM)	Número	Porcentaje	Volumen (ml) Medianas	Concentración *10 ⁶ Medianas
Muy buena	16	32	8 a	1550 a
Buena	28	56	5 a	800 a
Regular	5	10	5 a	1000 a
Pobre	1	2	3 a	200 b
Total	50	100		

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($P<0.05$ -Kruskal y Wallis)

En la motilidad masal (Tabla 5-anexos 5-7) de 50 colectas realizadas en cinco toros de la raza Fleckvieh, el 56% fueron clasificadas con una motilidad buena, el 32% con una motilidad masal muy buena, el 10 % con una motilidad regular y solamente el 2% (1 colecta) fue de motilidad masal pobre, no existiendo una diferencia significativa ($p>0.05$) en los promedios de volumen seminal obtenidos en la clasificación de la motilidad masal.

La mejor concentración espermática ($p<0.05$) se observó en la motilidad masal muy buena.

Tabla 6. Motilidad Masal del semen y su relación con la edad, circunferencia escrotal (cm), longitud testicular (cm) de cinco toros de raza Fleckvieh.

Motilidad Masal (MM)	Número	Edad (años) Mediana	Circunferencia Escrotal (cm) Mediana	Longitud del testículo (cm) Mediana
Muy buena	16	3.50 a	38 a	19 b
Buena	28	3.70 a	39 a	21 ab
Regular	5	3.70 a	39 a	22 a
Pobre	1	1.80 a	37 a	15 b
Total	50			

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($P<0.05$ -Kruskal y Wallis)

La clasificación de la edad de los toros Fleckvieh según motilidad masal, fueron similares ($p>0.05$, anexo 8) al igual que la Circunferencia escrotal de los toros, demostrando de que no existe efecto de la edad ni de la circunferencia escrotal con la clasificación de la motilidad masal (anexo 8 y 9), pero si existió diferencia ($p<0.05$ - anexo 10) en lo referente a la Longitud testicular, existe diferencia donde la motilidad masal regular tiene la mayor longitud del testículo (Tabla 6).

Tabla 7. Motilidad individual pre y post congelación y su relación con cada toro de raza Fleckvieh.

Variable	Toros									
	Campeón		Messi		Ollanta		Rocki		Tesoro	
	N°	Media	N°	Media	N°	Media	N°	Media	N°	Media
Motilidad individual Pre congelación	9	62.8±12a	10	85±7 a	13	83±6a	8	75±9 a	10	91±5 a
Motilidad individual Post congelación	9	51.7±15a	10	75±10 b	13	71.5±6 b	8	60.6±11 b	10	75±9b

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$ -Kruskal y Wallis)

Para determinar si se presentó efecto entre motilidad individual pre y post congelación en los toros de raza Fleckvieh utilizados en el presente trabajo de investigación, se comprobó una normalidad e igualdad de variancias en la motilidad individual pre y post congelación, observándose (Tabla 7 –anexo 11) que existió una diferencia significativa ($p < 0.05$ -T Student) en las motilidades individuales pre congelación comparados con las motilidades individuales post congelación, en los toros Messi, Ollanta, Rocki y Tesoro, siendo mayor los porcentajes de las motilidades individuales pre congelación, en el Toro Campeón no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$).

Tabla 8. Motilidad individual pre y post congelación y su relación con el aspecto del semen de cinco toros de raza Fleckvieh.

Variable	N°	Mediana	Aspecto					
			Amarillento		Cremoso		Lechoso	
			N°	Media	N°	Media	N°	Media
Motilidad individual Pre congelación	50	80 a	13	83.1±6a	27	74.6±13a	10	90.9±5a
Motilidad individual Post congelación	50	70b	13	71.54±5.9b	27	63±15 b	10	74.5±9 b

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa (P<0.05-Kruskal y Wallis)

No existió normalidad a la prueba Shapiro Wilks en la motilidad individual pre congelación y en la motilidad individual post congelación, donde el promedio de la mediana de motilidad individual pre y post congelación fue diferente en la prueba de Mann Whitney ($p<0.01$) siendo mayor la motilidad pre congelación (80%) comparado con la post congelación (70%), existiendo normalidad e igualdad de variancias en los porcentajes de pre y post congelación en los aspectos denso amarillento, denso cremoso y denso lechoso, observándose a la prueba de t Students una mayor motilidad individual en los valores de pre congelación ($p<0.05$ - anexo 12-13-14).

A medida que se incrementa el porcentaje de la motilidad individual pre congelación se incrementa la motilidad individual post congelación ($p<0.01$; $r:0.80$; $IC_{95\%}$ 0.674-0.886); igual tendencia se observa cuando se compara: La motilidad individual pre congelación con la longitud testicular con ($p<0.01$; $r: 0.626$, $IC_{95\%}$: 0.42-0.77), con Concentración Millones /ml ($p<0.01$; $r: 0.646$, $IC_{95\%}$: 0.449-0.784), Con el Volumen ($p<0.01$; $r: 0.519$, $IC_{95\%}$: 0.281-0.696).

Tabla 9. Motilidad individual pre y post congelación y su relación con el número de eyaculados en toros de raza Fleckvieh.

Variable	Número de Eyaculados					
	Primero		Segundo		Tercero	
	Nº	Media	Nº	Media	Nº	Media
Motilidad individual Pre congelación	22	78±12 a	22	81.4±13a	6	81.7±11 a
Motilidad individual Post congelación	22	65±15 b	22	68.9±12 b	6	70.8±14 a

Existió normalidad con variancias similares cuando se compararon las motilidades individuales pre y post congelación de las eyaculaciones primera, segunda y tercera (Tabla 9-anexo 15), los mayores valores se registraron en la motilidad individual pre congelación ($P < 0.01$ *Prueba de t Students), registrando valores atípicos en la primera eyaculación que corresponden a una motilidad de 50 % en la pre congelación y de 20% en la post congelación, valores menores a los registrados. En la segunda eyaculación se registró un valor atípico en la post congelación con valor de motilidad de 40 %.

Tabla 10. Vitalidad pre y post congelación y su relación con los cinco toros de raza Fleckvieh.

Variable	Toros									
	Campeón		Messi		Ollanta		Rocki		Tesoro	
	Nº	Media	Nº	Media	Nº	Media	Nº	Media	Nº	Media
Vitalidad Pre congelación	9	65.6±5a	10	78.5±12 a	13	76.5±11 a	8	66.3±16 a	10	92.1±5a
Vitalidad Post congelación	9	55.5±5b	10	65.5± 9b	13	62.7±12 b	8	61.3±13 a	10	68.5±7b

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$ -Kruskal y Wallis)

Para determinar si se presentó efecto entre vitalidad pre y post congelación en los espermatozoides de los cinco toros de raza Fleckvieh, se comprobó primeramente la normalidad e igualdad de variancias en la vitalidad pre y post congelación, observándose

(Tabla 10 – anexo 16) que existió una diferencia significativa ($p < 0.05$ -T Student) en la vitalidad pre congelación comparado con la vitalidad post congelación, en los toros Campeón, Messi, Ollanta y Tesoro, siendo mayor los porcentajes de la vitalidad pre congelación, en el Toro Rocki no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$). Observándose un valor atípico en la vitalidad individual post congelación.

Tabla 11. Vitalidad pre y post congelación y su relación con el aspecto del semen en toros de la raza Fleckvieh.

Variable	N°	Mediana	Aspecto					
			Amarillento		Cremoso		Lechoso	
			N°	Media	N°	Media	N°	Media
Vitalidad Pre congelación	50	80 a	13	76.5±12a	27	70.6±13a	10	90.1±5a
Vitalidad Post congelación	50	62.5b	13	62.7±11b	27	60.9±10 b	10	68.5±7 b

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$ -Kruskal y Wallis)

Los datos registrados de vitalidad de los espermatozoides pre y post congelación a la prueba de Shapiro Wilk (anexo 17), demostraron que no existió normalidad, donde la vitalidad pre y post congelación fue diferente a la prueba de Mann Whitney ($p < 0.01$) demostrando mayor vitalidad la pre congelación (80%) comparado con la vitalidad post congelación (62.5 %), observándose un valor atípico* en la vitalidad post congelación. Existió normalidad e igualdad de variancias en los porcentajes de pre y post congelación en los aspectos denso amarillento, denso cremoso y denso lechoso, observándose a la prueba de t Students una mayor vitalidad individual en los valores de pre congelación ($p < 0.05$), presentando un valor atípico positivo en el aspecto denso cremoso (anexos 18-19).

* Valor atípico es el valor que no es común con las otras medidas, que puede ser elevado o puede ser bajo, lo que altera el promedio o media. Puede deberse a varias causas, como el que realiza la lectura, del toro, etc.

A medida que se incrementa el porcentaje de la vitalidad pre congelación se incrementa la vitalidad post congelación ($p < 0.01$; $r: 0.0.707$; IC al 95% 0.406-0.869); igual tendencia se observa cuando se compara: La vitalidad pre congelación con la concentración espermática ($p < 0.01$; $r: 0.671$, IC¹_{95%}: 0.348-0.852), con el volumen ($p < 0.05$; $r: 0.44$; IC_{95%}: 0.08-0.755). La vitalidad post congelación tiene una relación directamente proporcional con: concentración millones /ml ($p < 0.01$; $r: 0.480$, IC_{95%}: 0.734-0.75), Con la motilidad individual pre congelación ($p < 0.01$; $r: 0.655$, IC_{95%}: 0.323-0.844), con la motilidad individual post congelación ($p < 0.01$; $r: 0.655$; IC_{95%} 0.323-0.844), con motilidad individual post congelación ($p < 0.01$; $r: 0.538$; IC_{95%} 0.151-0.782).

Tabla 12. Vitalidad individual pre y post congelación y su relación con el número de eyaculados en toros de la raza Fleckvieh.

Variable	Número de Eyaculados					
	Primero		Segundo		Tercero	
	Nº	Media	Nº	Media	Nº	Media
Vitalidad individual Pre congelación	22	72.7±12 a	22	78.2±14a	6	80±14 a
Vitalidad individual Post congelación	22	60.5±8 b	22	64.6±9 b	6	65.8±16 a

Existió normalidad con variancias similares (Shapiro Wilk) cuando se comparó la vitalidad pre y post congelación de las eyaculaciones primera, segunda y tercera, observándose en la tabla 12 y anexo 20, que, los mayores valores se registraron en la vitalidad pre congelación ($P < 0.01$ -T Student), registrando valores atípicos en la primera eyaculación que corresponden a una vitalidad 50 en la pre congelación y de 20% en la post congelación, valores menores a los registrados. En la segunda eyaculación se registró un valor atípico en la post congelación con valor de motilidad de 40%.

¹ IC. Intervalo de Confianza al 95%

Tabla 13. Concentración espermática (millones/ml) de cinco toros de raza Fleckvieh

Variable	Toros	N	Medias	CV	Medianas	Aspecto
Concentración	Campeón	9	$700 \cdot 10^6 \pm 206 \cdot 10^6$	29	$800 \cdot 10^6$ c	Denso Cremoso
Concentración	Messi	10	$1340 \cdot 10^6 \pm 412 \cdot 10^6$	31	$1300 \cdot 10^6$ ab	Denso Cremoso
Concentración	Ollanta	13	$800 \cdot 10^6 \pm 256 \cdot 10^6$	32	$800 \cdot 10^6$ c	Denso Amarillento
Concentración	Rocki	8	$900 \cdot 10^6 \pm 141 \cdot 10^6$	16	$850 \cdot 10^6$ bc	Denso Cremoso
Concentración	Tesoro	10	$1450 \cdot 10^6 \pm 324 \cdot 10^6$	22	$1550 \cdot 10^6$ a	Denso Lechoso

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa ($P < 0.05$ -Kruskal y Wallis)

No existe una normalidad en la concentración (millones/ml), del semen de las 50 muestras analizadas ($p < 0.01$), con una media de $1036 \cdot 10^6 \pm 411 \cdot 10^6$ con un coeficiente de variación de 40%, un valor mínimo de $200 \cdot 10^6$ (millones/ml) y un valor máximo de $2000 \cdot 10^6$ (millones/ml), con un valor atípico de $2000 \cdot 10^6$ (millones/ml) correspondiente al toro Messi en la segunda eyaculación (anexo 21)

No existió relación de la edad ni de la circunferencia escrotal cuando fueron comparadas con la concentración espermática ($p > 0.05$), pero si existió una relación positiva de la Longitud testicular ($p < 0.01$; $r: 0.504$; comparadas con la concentración espermática, relaciones moderadas que podrían ser por los mismos motivos antes mencionados.

Existe diferencia ($p < 0.01$ - anexo 22) en las concentraciones promedios de los diferentes toros, registrando las mayores concentraciones el toro Tesoro ($1550 \cdot 10^6$) con un aspecto denso lechoso, comparado con las concentraciones de los toros Rocki ($850 \cdot 10^6$), Ollanta ($800 \cdot 10^6$) y Campeón ($800 \cdot 10^6$), con aspectos denso cremoso, denso amarillento y denso cremoso, respectivamente. La concentración del toro Tesoro es similar a la concentración del Toro Messi ($1300 \cdot 10^6$ aspecto denso cremoso) y éste último similar estadísticamente a la concentración del toro Rocki.

Tabla 14. Concentración (millones/ml) según el número de eyaculados en cinco toros de raza Fleckvieh.

Eyaculado	N	Media	Coef. Var	Mediana
Primer eyaculado	22	1031.8*10 ⁶ ±402*10 ⁶	38.93	1000*10 ⁶ a
Segundo eyaculado	22	1070.5*10 ⁶ ±443*10 ⁶	41.39	900*10 ⁶ a
Tercer eyaculado	6	925*10 ⁶ ±360*10 ⁶	38.94	800*10 ⁶ a

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05-Kruskall Wallis)

A la prueba de Kruskal y Wallis, no existió diferencia en las concentraciones entre el primer, segundo y tercer eyaculado (Tabla 14 - anexo 23), existiendo 22 colecciones en el primer y segundo eyaculado y solamente 6 colecciones en el tercer eyaculado, los coeficientes de variación elevado indica que existe una alta variabilidad.

Tabla 15. Concentración espermática (millones/ml) con el aspecto del eyaculado de los toros de raza Fleckvieh.

Aspecto	Nº	Media	CoefVar	Mediana	Toro
Denso amarillento	13	800*10 ⁶ ±256 *10 ⁶	31.97	800*10 ⁶ b	Ollanta
Denso cremoso	27	996.3*10 ⁶ ±395*10 ⁶	39.61	800*10 ⁶ b	Messi, Rocki, Campeón
Denso lechoso	10	1450*10 ⁶ ±324*10 ⁶	22.35	1550*10 ⁶ a	Tesoro

Letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa (P<0.05-Kruskal y Wallis)

Existió una diferencia altamente significativa (p<0.01- anexo 24) en las concentraciones espermáticas de los toros según el aspecto del semen, registrando mayor concentración el Aspecto denso lechoso (1550 - Toro Tesoro) y diferente a las concentraciones de denso cremoso (800 - Toros Messi, Rocki y Campeón) y Denso Amarillento (800 toro Ollanta)

Para evaluar la relación que existe entre el volumen con la concentración, existió una relación directamente proporcional ($r: 0.59$; $p < 0.05$, IC al 95% 0.37-0.74 moderado) indicando que cuando el volumen (ml) aumenta, la concentración millones /ml, también aumenta, ambas variables son independientes. La ecuación ajustada para el modelo lineal que describe la relación entre la concentración y el volumen es $Y = 480.1 + 90.53 X$ con un R^2 ajustado del 32.9%, lo que permite deducir que el modelo no explica bien la tendencia, no ajustando adecuadamente los datos existen dos residuos grandes y no ajustan adecuadamente la ecuación que son los valores que corresponden al Toro Messi con su primer eyaculado con 2ml de volumen y 1400 millones/ml de concentración y su segundo eyaculado con 7.5 ml de volumen y 2000 millones de concentración. También existe otro valor lo que permite que la línea se aleje o se acerque a este punto y es el valor del primer eyaculado (15 ml) con una concentración de 1800.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

El presente estudio se realizó con la finalidad de evaluar las características andrológicas y su relación con las características seminales pre y post congelación en cinco toros de la raza Fleckvieh de la provincia de Cutervo.

Las características andrológicas evaluadas fueron circunferencia escrotal (SC) y longitud testicular. Los valores de SC fueron de 37, 38, 39, 43 y 46 cm para los toros Campeón (1,8 años), Messi (3,5 años), Ollanta (3,7 años), Tesoro (6,2 años) y Rocki (11,3 años) respectivamente. Con una media de $40,6 \pm 3,78$ cm. Los resultados indicaron que conforme aumenta la edad de los toros, se incrementa la SC, cuyos valores guardan relación con los reportados por (Trocóniz et al., 1991); quienes encontraron que la SC se incrementa linealmente con la edad y el peso en toros de raza Nellore y Guzerat. El valor de la SC del toro Campeón, guarda relación con los datos reportados por Bart, 2006, donde la SC fue de 34,7 cm y 38,8 cm en toros Simmental de uno y dos años respectivamente. De igual manera con datos reportados por Coulter et al., 1987, donde indicaron que las medidas aceptables de circunferencia escrotal en toros simmental de uno y dos años de edad son: $36 \pm 0,2$ y $38,8 \pm 0,1$ cm. Respectivamente. Además, que la medida mínima aceptable de SC en toros simmental a los 12 meses debe ser de 30 cm (Medina & Bernal, 2007).

La longitud testicular tuvo una media de $19,80 \pm 2,95$ cm, superior a los datos reportados por (Leite et al., 2021), quienes en 12 toros simmental de 3 a 4 años, obtuvieron valores de $7,65 \pm 0,26$ cm. y los resultados de (Penitente-Filho et al., 2018) quienes en toros de raza Nellore mayores de 48 meses obtuvieron $13,93 \pm 0,04$ cm de longitud testicular.

Al comparar las medianas del volumen seminal entre los toros (Tabla 2), se evidenció que el mayor volumen fue para los toros Tesoro (8,25 ml) y Rocki (7,2 ml) y los menores volúmenes fueron para Ollanta (5 ml) y Campeón (3 ml). Estos valores guardan relación con los datos reportados por (Gómez and Migliorisi, 2015) quienes indican que el volumen puede variar entre 2 a 12 ml. Asimismo, hay relación con los datos reportados por (Fuerst-Waltl et al., 2006) quienes en toros Simmental austriacos determinaron que la edad afecta a todas las características seminales, el volumen y el número total de espermatozoides aumentaron con la edad. Además, en la figura 1, se aprecia que el toro Messi tiene mayor dispersión en la producción de volumen seminal, el toro Ollanta tiene menor dispersión, Tesoro y Ollanta presentan valores atípicos.

Existiendo una relación directamente proporcional ($p < 0,01$; $r: 0,45$; $IC_{95\%}: 0,2-0,6$) entre la edad y el volumen del eyaculado de los toros, ($p < 0,01$; $r: 0,58$; $IC_{95\%}: 0,3-0,7$) entre la circunferencia escrotal y el volumen seminal de los toros, ($p < 0,01$; $r: 0,43$; $IC_{95\%}: 0,17-0,6$) entre la longitud testicular y el volumen seminal de los toros, correlaciones de moderadas a fuertes, podría ser debido al bajo número de muestras de los toros.

La apariencia macroscópica de 50 colectas de semen de cinco toros (Tabla 3-Anexo 3) fueron las siguientes: El semen de los toros Campeón, Messi y Rocki mostraron un aspecto denso cremoso (muy bueno) que corresponde a 27 (54 %), y 10 (20 %) fue denso lechoso (bueno) correspondiente al toro Tesoro. Los mismos que guardan relación con los estándares prácticos reportados por la sociedad de Teriogenología (Barth, 2006) y 13 (26 %) fue denso amarillento que pertenece al toro Ollanta. Demostrando que el aspecto de los eyaculados de los toros no depende del número de colectas, sino que es una característica inherente a cada toro. (Tabla 4)

La relación del aspecto con el volumen seminal fue significativa ($P < 0.05$) a la prueba de Kruskal y wallis (Anexo 3), siendo mayor el volumen el semen de aspecto denso lechoso que corresponde al toro Tesoro. Los volúmenes del semen del aspecto denso cremoso (Campeón, Messi y Rocki) y denso amarillento (Ollanta) fueron similares, pero menores al volumen del semen de aspecto denso lechoso.

La primera característica seminal microscópica evaluada fue la motilidad masal (Tabla 5-anexos 5-8). De las 50 colectas realizadas, 28 (56%) fueron clasificadas con motilidad buena, 16 (32%) con motilidad masal muy buena, 5 (10%) con motilidad regular y solamente 1 (2%) fue de motilidad masal pobre, no existiendo diferencia significativa ($p > 0.05$) en los promedios de volumen seminal obtenidos en la clasificación de la motilidad masal.

La mejor concentración espermática ($p < 0.05$) se observó en la motilidad masal muy buena.

No existió efecto de la edad ni la circunferencia escrotal de los toros en la clasificación de la motilidad masal ($p > 0.05$, anexo 9), pero si existió diferencia ($p < 0.05$, anexo 25) entre la longitud testicular, evidenciando que las muestras de semen con motilidad masal regular, provienen de testículos con mayor longitud (Tabla 6)

Los resultados de motilidad individual pre y post congelación evidenciaron que existió una diferencia significativa ($p < 0,05$ – T Student) en los toros Messi, Ollanta, Rocki y Tesoro, siendo mayor los porcentajes de las motilidades individuales antes de la congelación, en el toro Campeón no hubo diferencia significativa ($p > 0.05$). De igual manera ocurrió cuando se compara la motilidad con el aspecto del semen, siendo la motilidad individual pre congelación (80 %) y la post congelación (70 %) ($p < 0,05$ – anexo 12-13-14)

A medida que se incrementa el porcentaje de la motilidad individual pre congelación se incrementa la motilidad individual post congelación ($p < 0,01$; $r: 0,80$; $IC_{95\%}$ 0,674-0,886); igual tendencia se observa cuando se compara: La motilidad individual pre congelación con la longitud testicular con ($p < 0,01$; $r: 0,626$, $IC_{95\%}$: 0,42-0,77), con la concentración millones /ml ($p < 0,01$; $r: 0,646$, $IC_{95\%}$: 0,449-0,784), con el volumen seminal ($p < 0,01$; $r: 0,519$, $IC_{95\%}$: 0,281-0,696). valores superiores a los reportados por (Penitente-Filho et al., 2018). Quienes indicaron que la relación existente entre la circunferencia escrotal y longitud testicular con la motilidad espermática fue de 0,18 a 0,19. Pero similares a las correlaciones reportados por (Pant et al., 2003) con asociación positiva y altamente significativa entre variables testiculares y seminales.

La vitalidad pre congelación fue mayor (80%) a la post congelación (62.5%), existiendo diferencia significativa ($p < 0,05$ T-Student) en los toros Campeón, Messi, Ollanta y Tesoro, en el toro Rocki no hubo diferencia significativa ($p > 0,05$)

A medida que se incrementa el porcentaje de la vitalidad pre congelación se incrementa la vitalidad post congelación ($p < 0,01$; $r: 0,707$; $IC_{95\%}$: 0,406-0,869); igual tendencia se observa cuando se compara: La vitalidad pre congelación con la concentración espermática ($p < 0,01$; $r: 0,671$; $IC_{95\%}$: 0,348-0,852), con el volumen ($p < 0,05$; $r: 0,44$; $IC_{95\%}$: 0,08-0,755). La vitalidad post congelación tiene una relación directamente proporcional con: concentración millones/ml ($p < 0,01$; $r: 0,480$; $IC_{95\%}$: 0,734-0,75), Con la motilidad individual pre congelación ($p < 0,01$; $r: 0,655$; $IC_{95\%}$: 0,323-0,844) y con motilidad individual post congelación ($p < 0,01$; $r: 0,538$; $IC_{95\%}$ 0,151-0,782).

Existe diferencia ($p < 0,01$ -anexo 22) en el promedio de la concentración espermática de los diferentes toros, registrando las mayores concentraciones el toro Tesoro ($1550 \cdot 10^6$) con un aspecto denso lechoso, comparado con las concentraciones de los toros Rocki ($850 \cdot 10^6$), Ollanta ($800 \cdot 10^6$) y Campeón ($800 \cdot 10^6$), con aspectos denso

cremoso, denso amarillento y denso cremoso, respectivamente. La concentración del toro Tesoro es similar a la concentración del Toro Messi (1300×10^6 aspecto denso cremoso) y éste último similar estadísticamente a la concentración del toro Rocki.

Para evaluar la relación que existe entre el volumen con la concentración, existió una relación directamente proporcional ($p < 0.05$, $r: 0.59$, $IC_{95\%}: 0.37-0.74$) indicando que cuando el volumen (ml) aumenta, la concentración millones /ml, también aumenta, ambas variables son independientes. La ecuación ajustada para el modelo lineal que describe la relación entre la concentración y el volumen es $Y=480.1+90.53 X$ con un R^2 ajustado del 32.9%, lo que permite deducir que el modelo no explica bien la tendencia, no ajustando adecuadamente los datos existen dos residuos grandes y no ajustan adecuadamente la ecuación que son los valores que corresponden al Toro Messi con su primer eyaculado con 2ml de volumen y 1400 millones/ml de concentración y su segundo eyaculado con 7.5 ml de volumen y 2000 millones de concentración. También existe otro valor lo que permite que la línea se aleje o se acerque a este punto y es el valor del primer eyaculado (15 ml) con una concentración de 1800.

No existió relación de la edad ni de la circunferencia escrotal cuando fueron comparadas con la concentración espermática ($p > 0.05$), pero si existió una relación positiva de la Longitud testicular ($p < 0.01$; $r: 0.504$; comparadas con la concentración espermática, relaciones moderadas que podrían ser por los mismos motivos antes mencionados.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Existen correlaciones directas y positivas de moderadas a fuertes entre la edad y volumen seminal ($p < 0,01$; $r: 0,45$; IC 0,2-0,6), entre la circunferencia escrotal y volumen seminal ($p < 0,01$; $r: 0,58$; IC: 0,3-0,7), y entre la longitud testicular con el volumen seminal ($p < 0,01$; $r: 0,43$; IC: 0,17-0,6).

El 54 % de eyaculados tuvieron un aspecto denso-cremoso, el 20 % denso-lechoso y el 26 % denso amarillento. El mayor volumen seminal se relacionó significativamente con el aspecto denso-lechoso ($p < 0,05$).

Respeto a la motilidad masal, 56 % de eyaculados tuvieron una clasificación buena, 32 % muy buena, 10 % regular y 2% pobre.

Existe una relación directa, positiva y altamente significativa entre la motilidad pre y post congelación ($p < 0,01$; $r: 0,80$; IC_{95%} 0,674-0,886), motilidad individual pre congelación con la longitud testicular ($p < 0,01$; $r: 0,626$, IC_{95%}: 0,42-0,77), con la concentración espermática ($p < 0,01$; $r: 0,646$, IC_{95%}: 0,449-0,784) y con el volumen seminal ($p < 0,01$; $r: 0,519$, IC_{95%}: 0,281-0,696).

Existe una relación directa, positiva y altamente significativa entre vitalidad pre y post congelación ($p < 0,01$; $r: 0,707$; IC_{95%}: 0,406-0,869), de igual manera cuando se compara con la concentración espermática ($p < 0,01$; $r: 0,671$; IC_{95%}: 0,348-0,852), con el volumen seminal ($p < 0,05$; $r: 0,44$; IC_{95%}: 0,08-0,755). La vitalidad post congelación se relaciona directamente con la concentración ($p < 0,01$; $r: 0,480$; IC_{95%}: 0,734-0,75), con la motilidad pre congelación ($p < 0,01$; $r: 0,655$; IC_{95%}: 0,323-0,844) y la motilidad post congelación ($p < 0,01$; $r: 0,538$; IC_{95%} 0,151-0,782).

La longitud testicular mostró efecto en el volumen, motilidad individual pre y post congelación, y la vitalidad pre congelación ($p < 0,01$)

No existió efecto de la edad ni la SC en la clasificación de la motilidad masal, concentración espermática, motilidad y vitalidad pre y post congelación ($p>0.05$).

Se recomienda realizar más trabajos de investigación usando tecnologías como el sistema CASA y citometría de flujo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Akhoondi, M., Oldenhof, H., Stoll, C., Sieme, H., Wolkers, W.F., 2011. Membrane hydraulic permeability changes during cooling of mammalian cells. *Biochim Biophys Acta Biomembr* 1808, 642–648.
- Al-Kanaan, A., König, S., Brügemann, K., 2015. Effects of heat stress on semen characteristics of Holstein bulls estimated on a continuous phenotypic and genetic scale. *Livest Sci* 177, 15–24.
- Al-Makhzoomi, A., Lundeheim, N., Håård, M., Rodríguez-Martínez, H., 2008. Sperm morphology and fertility of progeny-tested AI dairy bulls in Sweden. *Theriogenology* 70, 682–691.
- Barth, A.D., 2006. Evaluation of Potential Breeding Soundness of the Bull. *Current Therapy in Large Animal Theriogenology Second Edi. ed*, 228–240.
- Brito, L.F.C., Althouse, G.C., Aurich, C., Chenoweth, P.J., Eilts, B.E., Love, C.C., Luvoni, G.C., Mitchell, J.R., Peter, A.T., Pugh, D.G., Waberski, D., 2016. Andrology laboratory review: Evaluation of sperm concentration. *Theriogenology*.
- Burns, B.M., Gazzola, C., Holroyd, R.G., Crisp, J., McGowan, M.R., 2011. Male reproductive traits and their relationship to reproductive traits in their female progeny: A systematic review. *Reproduction in Domestic Animals*.
- Cheng, Y., Liu, S., Zhang, Ying, Su, D., Wang, G., Lv, C., Zhang, Yu, Yu, H., Hao, L., Zhang, J., 2016. The effect of heat stress on bull sperm quality and related HSPs expression. In: *Animal Biology*. Brill Academic Publishers, pp. 321–333.
- Coulter, G.H., 1991. El Tamaño Testicular. *Conferencia Veterinaria Argentina* 556–560.
- Coulter, G.H., Mapletoft, R.J., Kozub, G.C., Cates, W.F., 1987. Scrotal circumference of two-year-old bulls of several beef breeds. *Theriogenology* 27, 485–491.

- Dacheux, J.L., Dacheux, F., Druart, X., 2016. Epididymal protein markers and fertility. *Anim Reprod Sci* 169, 76–87.
- Fuerst-Waltl, B., Schwarzenbacher, H., Perner, C., Sölkner, J., 2006. Effects of age and environmental factors on semen production and semen quality of Austrian Simmental bulls. *Anim Reprod Sci* 95, 27–37.
- Geoffrey, H.A., 2001. Fertility and infertility in male animals. *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics* 695–750.
- Glauber, C.E., G Acosta, A.P., 1990. Circunferencia Escrotal en Toros Bos Indicus y sus Derivados, *Vet. Arg.*
- Gómez, V., Migliorisi, L., 2015. Protocolo para la evaluacin de semen en rumiantes. *Unlp* 1, 4–9.
- Hezavehei, M., Sharafi, M., Kouchesfahani, H.M., Henkel, R., Agarwal, A., Esmaeili, V., Shahverdi, A., 2018. Sperm cryopreservation: A review on current molecular cryobiology and advanced approaches. *Reprod Biomed Online*.
- Karoui, S., Díaz, C., Serrano, M., Cue, R., Celorrio, I., Carabaño, M.J., 2011. Time trends, environmental factors and genetic basis of semen traits collected in Holstein bulls under commercial conditions. *Anim Reprod Sci* 124, 28–38.
- Kastelic, J.P., 2014. Understanding and evaluating bovine testes. *Theriogenology*.
- Kumar Yata, V., Kumar Gangwar, D., Sharma, V., Kumar Dubey, S., Kumar Yadav, S., Choudhary, S., Kumar, S., Kumar Mohanty, T., Kumar Mohanty, A., 2020. Semen analysis and sperm characteristics of Karan Fries cattle. *Anim Reprod Sci* 212, 106250.
- Leahy, T., Gadella, B.M., 2011. Sperm surface changes and physiological consequences induced by sperm handling and storage. *Reproduction*.

- Leite, R.F., de Agostini Losano, J.D., de Souza Ramos Angrimani, D., Sousa, R.G.B., de Miranda Alves, Á., Cavallin, M.D., Kawai, G.K.V., Cortada, C.N.M., Zuge, R.M., Nichi, M., 2021. Reproductive parameters of *Bos taurus* and *Bos indicus* bulls during different seasons in tropical conditions: focus on an alternative approach to testicular assessments using ultrasonography. *Anim Reprod Sci* 225, 106668.
- Love, C.C., 2016. Modern Techniques for Semen Evaluation. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*.
- Mazur, P., 1963. Kinetics of Water Loss from Cells at Subzero Temperatures and the Likelihood of Intracellular Freezing. *J Gen Physiol* 47, 347–369.
- Medina, J.M., Bernal, Hector., 2007. Prototipo del Simmental mexicano. Monterrey.
- Menegassi, S.R.O., Pereira, G.R., McManus, C., Roso, V.M., Bremm, C., Koetz, C., Lopes, J.F., Barcellos, J.O.J., 2019. Evaluation and prediction of scrotal circumference in beef bulls. *Theriogenology* 140, 25–32.
- Morin, G., Sullivan, R., Laflamme, I., Robert, C., Leclerc, P., 2010. SPAM1 isoforms from two tissue origins are differentially localized within ejaculated bull sperm membranes and have different roles during fertilization. *Biol Reprod* 82, 271–281.
- Morrell, J.M., Nongbua, T., Valeanu, S., Lima Verde, I., Lundstedt-Enkel, K., Edman, A., Johannisson, A., 2017. Sperm quality variables as indicators of bull fertility may be breed dependent. *Anim Reprod Sci* 185, 42–52.
- Olsen, H.B., Heringstad, B., Klemetsdal, G., 2020. Genetic analysis of semen characteristic traits in young Norwegian Red bulls. *J Dairy Sci* 103, 545–555.
- Pant, H.C., Sharma, R.K., Patel, S.H., Shukla, H.R., Mittal, A.K., Kasiraj, R., Misra, A.K., Prabhakar, J.H., 2003. Testicular development and its relationship to semen production in Murrah buffalo bulls. *Theriogenology* 60, 27–34.

- Parkinson, T.J., Morrell, J.M., 2019. Artificial insemination. In: *Veterinary Reproduction & Obstetrics*. Elsevier, pp. 746–777.
- Pegg, D., Kleinhans, F., 2016. In memoriam Peter Mazur--cryobiologist. *Cryobiology* 72, 83–85.
- Penitente-Filho, J.M., Silva, F.F. e., Facioni Guimarães, S., Waddington, B., da Costa, E.P., Gomez León, V., Siqueira, J.B., Silva Okano, D., Piccolo Maitan, P., Guimarães, J.D., 2018. Relationship of testicular biometry with semen variables in breeding soundness evaluation of Nelore bulls. *Anim Reprod Sci* 196, 168–175.
- Rickard, J.P., Pool, K.R., Druart, X., de Graaf, S.P., 2019. The fate of spermatozoa in the female reproductive tract: A comparative review. *Theriogenology*.
- Rodrigues, N.N., Rossi, G.F., Vrisman, D.P., Taira, A.R., Souza, L.L., Zorzetto, M.F., Bastos, N.M., de Paz, C.C.P., de Lima, V.F.M.H., Monteiro, F.M., Franco Oliveira, M.E., 2020. Ultrasonographic characteristics of the testes, epididymis and accessory sex glands and arterial spectral indices in peri- and post-pubertal Nelore and Caracu bulls. *Anim Reprod Sci* 212.
- Román, A., de Jesús, R., Figueroa, F., Antonio, J., Peña, M., 2014. Métodos de Extracción de Semen Bovino. *Revista electrónica veterinaria REDVET* 1–8.
- Rothmann, S.A., Bort, A.M., 2018. Sperm Morphology. *Encyclopedia of Reproduction* 85–95.
- Sieme, H., 2009. Semen Evaluation. In: *Equine Breeding Management and Artificial Insemination*. Elsevier Inc., pp. 57–74.
- Sieme, H., Oldenhof, H., Wolkers, W.F., 2016. Mode of action of cryoprotectants for sperm preservation. *Anim Reprod Sci* 169, 2–5.

- Silva, M.R., Pedrosa, V.B., Silva, J., Herrera, L., Eler, J.P., Albuquerque, L.G., 2012. Parámetros genéticos de las características andrológicas en la especie bovina, Arch Med Vet.
- Teclé, E., Gagneux, P., 2015. Sugar-coated sperm: Unraveling the functions of the mammalian sperm glycocalyx. Mol Reprod Dev.
- Terakado, A.P.N., Boligon, A.A., Baldi, F., Silva, J.A.II., Albuquerque, G., 2015. Genetic associations between scrotal circumference and female reproductive traits in Nelore cattle. American Society of Animal Science. 93, 2706–2713.
- Thundathil, J.C., Dance, A.L., Kastelic, J.P., 2016. Fertility management of bulls to improve beef cattle productivity. Theriogenology.
- Trocóniz, J.F., Beltrán, J., Bastidas, H., Larreal, H., Bastidas, P., 1991. Testicular development, body weight changes, puberty and semen traits of growing guzerat and Nellore bulls. Theriogenology 35, 815–826.
- Utt, M.D., 2016. Prediction of bull fertility. Anim Reprod Sci 169, 37–44.
- Yániz, J.L., Soler, C., Santolaria, P., 2015. Computer assisted sperm morphometry in mammals: A review. Anim Reprod Sci.

ANEXOS

Anexo 1: Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks de circunferencia escrotal, longitud testicular y edad de los toros raza Fleckvieh.

Variable	N	Media	D.E.	W*	p (Unilateral D)
Circunferencia	5	40.60	3.78	0.89	0.40
Longitud	5	19.80	2.95	0.83	0.15
Edad	5	5.30	3.70	0.89	0.39

Anexo 2: Prueba de Kruskal Wallis del volumen seminal de cinco toros de raza Fleckvieh.

Variable	Toros	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Volumen	Campeón	9	3.56	1.10	3.00	24.30	0.0001
Volumen	Messi	10	6.10	2.95	6.75		
Volumen	Ollanta	13	4.85	0.94	5.00		
Volumen	Tesoro	10	8.75	2.58	8.25		
Volumen	Rocki	8	7.19	2.12	7.00		

<u>Trat. Ranks</u>	
Campeón	10.33 A
Ollanta	19.04 A B
Messi	26.85 B C
Rocki	33.75 C
Tesoro	39.60 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 3: Prueba de Kruskal Wallis del aspecto con volumen seminal de eyaculados de cinco toros de raza Fleckvieh.

Variable Aspecto	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Volumen Denso amarillento	13	4.85	0.94	5	12.48	0.0018
Volumen Denso cremoso	27	5.57	2.63	5		
Volumen Denso lechoso	10	8.75	2.58	8.25		

Trat.	Ranks
Denso amarillento	19.04 A
Denso cremoso	23.39 A
Denso lechoso	39.60 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 4: Prueba chi-cuadrado para asociación: Número de eyaculado y aspecto del semen de cinco toros de raza Fleckvieh.

Filas: Eyaculado Columnas: Aspecto

	Denso amarillento	Denso cremoso	Denso lechoso	Todo
Primer eyaculado	5	13	4	22
Conteo esperado	5,72	11,88	4,4	
Segundo eyaculado	5	13	4	22
Conteo esperado	5,72	11,88	4,4	
Tercer eyaculado	3	1	2	6
Conteo esperado	1,56	3,24	1,2	
Todo	13	27	10	50

Prueba de chi-cuadrado

	Chi-cuadrada	GL	Valor p
Pearson	3,876	4	0,423
Relación de verosimilitud	4,085	4	0,395

5 celda(s) con conteos esperados menores que 5.

Anexo 5: Estadísticas tabuladas: Motilidad Masal (MM)

Filas: Motilidad Masal (MM)

	Conteo	% de columna
Buena	28	56
Muy buena	16	32
Pobre	1	2
Regular	5	10
Todo	50	100

Anexo 6: Prueba de Kruskal-Wallis: Volumen (ml) vs. Motilidad Masal (MM)

Variable	Motilidad	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Volumen	Buena	28	5,43	2,18	5,00	5,77	0,1195
Volumen	Muy bueno	16	7,34	3,25	8,00		
Volumen	Pobre	1	3,00	0,00	3,00		
Volumen	Regular	5	5,70	1,89	5,00		

Anexo 7: Prueba de Kruskal-Wallis: Concentración vs. Motilidad Masal (MM)

Variable	Motilidad	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Concentración	Buena	28	916,07	250,57	800,00	14,37	0,0020
Concentración	Muy buena	16	1381,25	432,39	1550,00		
Concentración	Pobre	1	200,00	0,00	200,00		
Concentración	Regular	5	770,00	315,44	1000,00		

Anexo 8: Prueba de Kruskal-Wallis: Edad en Años vs. Motilidad Masal (MM)

Variable	Motilidad	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Edad	Buena	28	5,78	3,74	3,70	4,36	0,2075
Edad	Muy buena	16	4,19	1,73	3,50		
Edad	Pobre	1	1,80	0,00	1,80		
Edad	Regular	5	4,20	1,12	3,70		

Anexo 9: Prueba de Kruskal-Wallis: Circunferencia Escrotal cm vs. Motilidad Masal (MM)

Variable	Motilidad	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Circunferencia Buena		28	40.96	3.63	39.00	4.36	0.2075
Circunferencia Muy buena		16	39.69	2.68	38.00		
Circunferencia Pobre		1	37.00	0.00	37.00		
Circunferencia Regular		5	39.80	1.79	39.00		

Anexo 10: Prueba de Kruskal-Wallis: Longitud testicular cm vs. Motilidad Masal (MM)

Variable	Motilidad	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
Longitud Buena		28	20.14	2.61	21.00	7.26	0.0421
Longitud Muy buena		16	19.38	2.58	19.00		
Longitud Pobre		1	15.00	0.00	15.00		
Longitud Regular		5	22.00	0.00	22.00		

Trat.	Ranks
Pobre	5.00 A
Muy buena	21.91 A
Buena	25.88 A B
Regular	39.00 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 11: Prueba de T no pareado de la Motilidad individual pre y post congelación de los toros: Campeón, Messi, Ollanta, Rocki y Tesoro raza Fleckvieh

Campeón

Prueba T e IC de dos muestras: Motilidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual Post congelación

μ_2 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual pre congelación

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Motilidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Motilidad individual Post congelación	9	51.7	15.0	5.0
Motilidad individual pre congelación	9	62.8	12.0	4.0

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-11.11	13.59	(-24.69, 2.47)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$		
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$		
Valor T	GL	Valor p	
-1.73	16	0.102	

Messi.

Prueba T e IC de dos muestras: Motilidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual Pos congelación

μ_2 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual pre congelación

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Motilidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Motilidad individual Post congelación	10	75.0	10.3	3.2
Motilidad individual pre congelación	10	85.00	7.45	2.4

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-10.00	8.98	(-18.43, -1.57)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$	
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$	
Valor T	GL	Valor p
-2.49	18	0.023

Ollanta

Prueba T e IC de dos muestras: Motilidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual Pos congelación

μ_2 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual Pre congelación

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Motilidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Motilidad individual Pos congelación	13	71.54	5.91	1.6
Motilidad individual Pre congelación	13	83.08	5.96	1.7

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-11.54	5.94	(-16.35, -6.73)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$	
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$	
Valor T	GL	Valor p
-4.95	24	0.000

Rocki

Prueba T e IC de dos muestras: Motilidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual Post congelación

μ_2 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual Pre congelación

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Motilidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Motilidad individual Pos congelación	8	60.6	10.5	3.7
Motilidad individual Pre congelación	8	75.00	9.26	3.3

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-14.38	9.90	(-24.99, -3.76)

Prueba

Hipótesis nula $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Valor T	GL	Valor p
-2.90	14	0.012

Tesoro

Prueba T e IC de dos muestras: Motilidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual Post congelación

μ_2 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual Pre congelación

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Motilidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Motilidad individual Post congelación	10	74.50	8.64	2.7
Motilidad individual Pre congelación	10	90.90	5.34	1.7

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-16.40	7.19	(-23.15, -9.65)

Prueba

Hipótesis nula $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Valor T	GL	Valor p
-5.10	18	0.000

Anexo 12: Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks de la Motilidad Individual Pre y Pos congelación de los Toros raza Fleckvieh

Variable	N	Media	D.E.	W*	p (Unilateral D)
Motilidad individual Pre congelación	50	80.08	12,26	0,90	0,00
Motilidad individual Post Congelación	50	67.50	13,18	0,93	0,02

Anexo 13: Prueba de Mann- Whitney entre la Motilidad individual pre congelación con la motilidad individual post congelación de los toros raza Fleckvieh.

Método

η_1 : mediana de Motilidad individual pre congelación

η_2 : mediana de Motilidad individual Post congelación

Diferencia: $\eta_1 - \eta_2$

Estadísticas descriptivas

Muestra	N	Mediana
---------	---	---------

Motilidad individual pre congelación	50	80
Motilidad individual Pos congelación	50	70

Estimación de la diferencia

Diferencia	IC para la diferencia	Confianza lograda
15	(10, 20)	95,02%

Prueba

Hipótesis nula $H_0: \eta_1 - \eta_2 = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \eta_1 - \eta_2 \neq 0$

Método	Valor W	Valor p
No ajustado para empates	3202,00	0,000
Ajustado para empates	3202,00	0,000

Anexo 14: Prueba de T e IC de dos muestras de motilidad individual pre congelación, motilidad individual Post congelación con el aspecto seminal de los toros raza Fleckvieh.

Prueba T e IC de dos muestras: Amarillento, Subíndices

Método

μ_1 : media de Amarillento cuando Subíndices = Motilidad individual Post congelación

μ_2 : media de Amarillento cuando Subíndices = Motilidad individual Pre congelación

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Aspecto amarillento

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Motilidad individual Post congelación	13	71,54	5,91	1,6
Motilidad individual Pre congelación	13	83,08	5,96	1,7

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-11,54	5,94	(-16,35 – 6,73)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$	
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$	
Valor T	GL	Valor p
-4,95	24	0,000

Prueba T e IC de dos muestras: Aspecto cremoso, Subíndices

Método

μ_1 : media de Cremoso cuando Subíndices = Motilidad individual Pos congelación

μ_2 : media de Cremoso cuando Subíndices = Motilidad individual Pre congelación

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Aspecto cremoso

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Motilidad individual Pos congelación	27	63,0	15,4	3,0
Motilidad individual Pre congelación	27	74,6	13,3	2,6

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-11,67	14,38	(-19,52 – 3,81)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$	
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$	
Valor T	GL	Valor p
-2,98	52	0,004

Prueba T e IC de dos muestras: Aspecto lechoso, Subíndices

Método

μ_1 : media de Lechoso cuando Subíndices = Motilidad individual Pos congelación

μ_2 : media de Lechoso cuando Subíndices = Motilidad individual Pre congelación

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Aspecto lechoso

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Motilidad individual Pos congelación	10	74,50	8,64	2,7
Motilidad individual Pre congelación	10	90,90	5,34	1,7

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-16,40	7,19	(-23,15 – 9,65)

Prueba

Hipótesis nula $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Valor T GL Valor p

-5.10 18 0.000

Anexo 15: Prueba de T no pareado de la Motilidad individual pre congelación, Motilidad individual Post congelación con la primera, Segunda y tercera eyaculación de los toros raza Fleckvieh.

Prueba T e IC de dos muestras: Motilidad, Subíndices primero

Método

μ_1 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual Post congelación

μ_2 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual pre congelación

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Motilidad

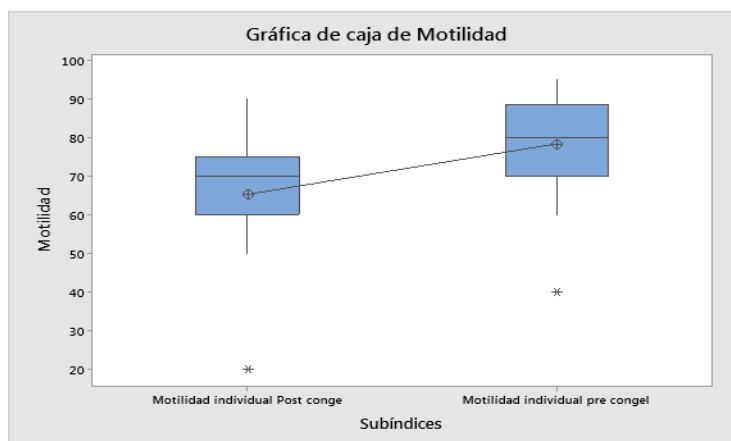
Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Motilidad individual Post congelación	22	65.2	14.5	3.1
Motilidad individual pre congelación	22	78.3	12.4	2.6

Estimación de la diferencia

Desv.Est. Diferencia agrupada	IC de 95% para la diferencia
-13.09	13.50 (-21.30, -4.88)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$
Valor T GL	Valor p
-3.22 42	0.002



Prueba T e IC de dos muestras: Motilidad, Subíndices segundo

Método

μ_1 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual Pos Congelación

μ_2 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual pre Congelación

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Motilidad

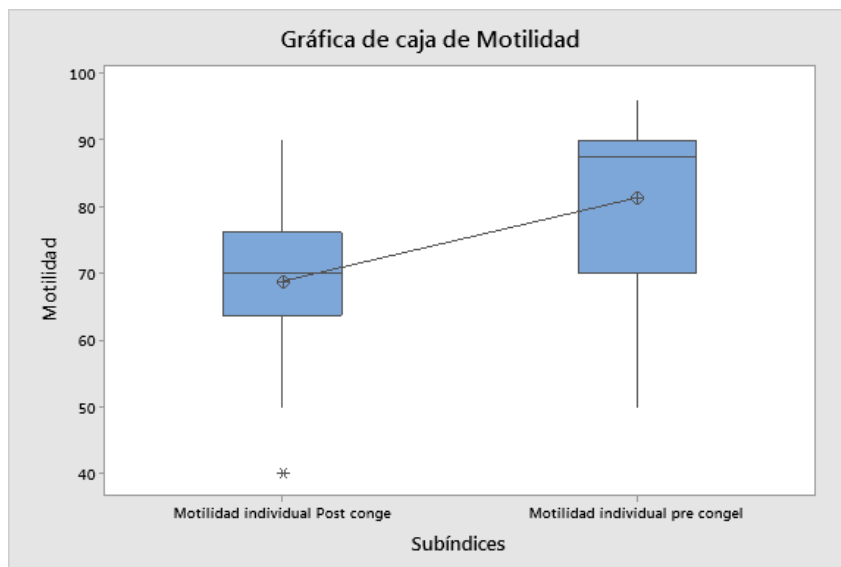
Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Motilidad individual Post Congelación	22	68.9	11.8	2.5
Motilidad individual pre Congelación	22	81.4	12.8	2.7

Estimación de la diferencia

Desv.Est. Diferencia agrupada	IC de 95% para la diferencia
-12.55	12.33 (-20.05, -5.04)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$	
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$	
Valor T	GL	Valor p
-3.37	42	0.002



Prueba T e IC de dos muestras: Motilidad, Subíndices Tercero

Método

μ_1 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual Post Congelación

μ_2 : media de Motilidad cuando Subíndices = Motilidad individual pre Congelación

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Motilidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Motilidad individual Pos Congelación	6	70.8	13.6	5.5
Motilidad individual pre Congelación	6	81.7	10.8	4.4

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-10.83	12.26	(-26.61, 4.94)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$		
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$		
	Valor T	GL	Valor p
	-1.53	10	0.157

Anexo 16: Prueba de T no pareado de la Vitalidad pre y post congelación con los toros: Campeón, Messi, Ollanta, Rocki y Tesoro raza Fleckvieh.

Campeón

Prueba T e IC de dos muestras: Vitalidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Post congelación (%)

μ_2 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad pre congelación (%)

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Vitalidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Vitalidad Post congelación (%)	9	55.56	5.27	1.8
Vitalidad pre congelación (%)	9	65.56	4.64	1.5

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-10.00	4.97	(-14.96, -5.04)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$
Valor T	Valor p
-4.27	0.001

Messi

Prueba T e IC de dos muestras: Vitalidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Post congelación (%)

μ_2 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad pre congelación (%)

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Vitalidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Vitalidad Post congelación (%)	10	65.50	8.96	2.8
Vitalidad pre congelación (%)	10	78.5	12.3	3.9

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-13.00	10.74	(-23.09, -2.91)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$
Valor T	Valor p
-2.71	0.014

Ollanta

Prueba T e IC de dos muestras: Vitalidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Post congelación (%)

μ_2 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad pre congelación (%)

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Vitalidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Vitalidad Post congelación (%)	13	62.7	11.5	3.2
Vitalidad pre congelación (%)	13	76.5	10.5	2.9

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-13.85	10.99	(-22.74, -4.95)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$
Valor T	Valor p
-3.21	0.004

Rocki

Prueba T e IC de dos muestras: Vitalidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Post congelación (%)

μ_2 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad pre congelación (%)

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Vitalidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Vitalidad Post congelación (%)	8	61.3	12.7	4.5
Vitalidad pre congelación (%)	8	66.3	16.0	5.6

Estimación de la diferencia

Diferencia agrupada	Desv.Est.	IC de 95% para la diferencia
-5.00	14.45	(-20.50, 10.50)

Prueba

Hipótesis nula $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Valor T	GL	Valor p
-0.69	14	0.500

Tesoro

Prueba T e IC de dos muestras: Vitalidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Post congelación (%)

μ_2 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad pre congelación (%)

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Vitalidad

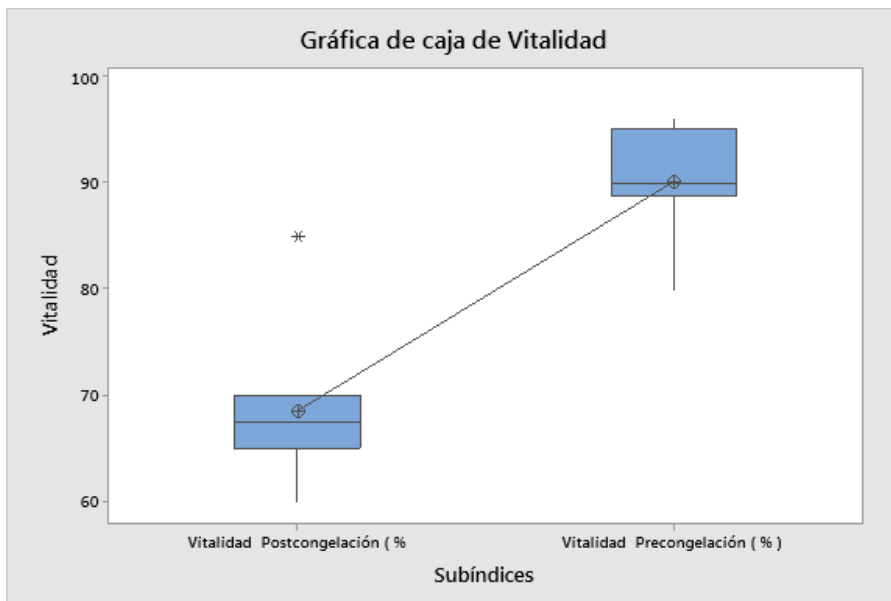
Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Vitalidad Post congelación (%)	10	68.50	6.69	2.1
Vitalidad Pre congelación (%)	10	90.10	4.84	1.5

Estimación de la diferencia

Desv.Est.	IC de 95% para Diferencia agrupada	la diferencia
-21.60	5.84	(-27.08, -16.12)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$
Valor T GL	Valor p
-8.27 18	0.000



Anexo 17: Prueba de Normalidad de Shapiro Wilks de la Vitalidad Pre y Post congelación de los Toros raza Fleckvieh.

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Vitalidad Pre congelación	50	76.02	13.28	0.90	0.00
Vitalidad Post Congelación	50	62.90	10.06	0.93	0.04

Anexo 18: Prueba de Mann- Whitney entre la Vitalidad individual pre congelación con la motilidad individual post congelación de los toros raza Fleckvieh.

Mann-Whitney: Vitalidad Pre congelación (%), Vitalidad Post congelación (%)

Método

η_1 : mediana de Vitalidad Pre congelación (%)

η_2 : mediana de Vitalidad Pos congelación (%)

Diferencia: $\eta_1 - \eta_2$

Estadísticas descriptivas

Muestra	N	Mediana
Vitalidad Pre congelación (%)	50	80.0
Vitalidad Post congelación (%)	50	62.5

Estimación de la diferencia

Diferencia	IC para la diferencia	Confianza lograda
15	(10, 20)	95.02%

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \eta_1 - \eta_2 = 0$	
Hipótesis alterna	$H_1: \eta_1 - \eta_2 \neq 0$	
Método	Valor W	Valor p
No ajustado para empates	3193.50	0.000
Ajustado para empates	3193.50	0.000

Anexo 19: Prueba de T e IC de dos muestras de Vitalidad pre congelación,
Vitalidad Post congelación con el aspecto seminal de los toros raza Fleckvieh.

Aspecto amarillento.

Prueba T e IC de dos muestras: Vitalidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Post congelación (%)

μ_2 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Pre congelación (%)

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Vitalidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Vitalidad Post congelación (%)	13	62.7	11.5	3.2
Vitalidad Pre congelación (%)	13	76.5	10.5	2.9

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-13.85	10.99	(-22.74, -4.95)

Prueba

Hipótesis nula $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Valor T	GL	Valor p
-3.21	24	0.004

Aspecto cremoso

Prueba T e IC de dos muestras: Vitalidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Post congelación (%)

μ_2 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Pre congelación (%)

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Vitalidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Vitalidad Post congelación (%)	27	60.93	9.91	1.9
Vitalidad Pre congelación (%)	27	70.6	12.9	2.5

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-9.63	11.49	(-15.91, -3.35)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$	
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$	
Valor T	GL	Valor p
-3.08	52	0.003

Aspecto lechoso.

Prueba T e IC de dos muestras: Vitalidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Post congelación (%)

μ_2 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Pre congelación (%)

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Vitalidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Vitalidad Post congelación (%)	10	68.50	6.69	2.1
Vitalidad pre congelación (%)	10	90.10	4.84	1.5

Estimación de la diferencia

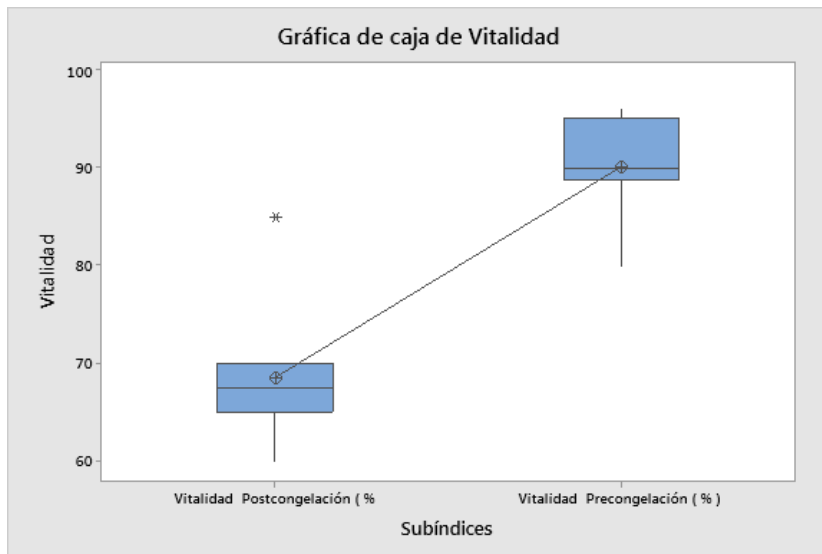
Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-21.60	5.84	(-27.08, -16.12)

Prueba

Hipótesis nula $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Valor T	GL	Valor p
-8.27	18	0.000



Anexo 20: Prueba de T no pareado de la Vitalidad pre y post congelación con la primera, Segunda y tercera eyaculación de los toros raza Fleckvieh.

Primer eyaculado

Prueba T e IC de dos muestras: Vitalidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Post congelación (%)

μ_2 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Pre congelación (%)

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Vitalidad

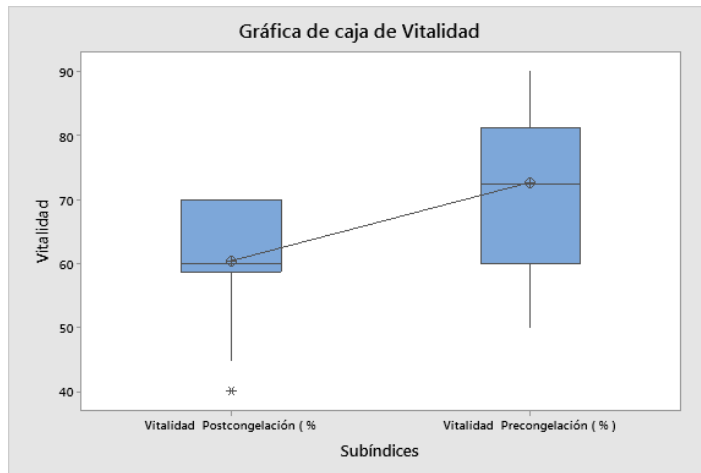
Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Vitalidad Post congelación (%)	22	60.45	8.44	1.8
Vitalidad pre congelación (%)	22	72.7	12.4	2.6

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-12.27	10.61	(-18.73 -5.81)

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$
Hipótesis alterna	$H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$
Valor T GL	Valor p
-3.83 42	0.000



Segundo eyaculado

Prueba T e IC de dos muestras: Vitalidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Post congelación (%)

μ_2 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad pre congelación (%)

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Vitalidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Vitalidad Post congelación (%)	22	64.55	9.63	2.1
Vitalidad pre congelación (%)	22	78.2	13.7	2.9

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-13.68	11.86	(-20.90, -6.47)

Prueba

Hipótesis nula $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Valor T	GL	Valor p
-3.83	42	0.000

Tercer eyaculado

Prueba T e IC de dos muestras: Vitalidad, Subíndices

Método

μ_1 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad Post congelación (%)

μ_2 : media de Vitalidad cuando Subíndices = Vitalidad pre congelación (%)

Diferencia: $\mu_1 - \mu_2$

Se presupuso igualdad de varianzas para este análisis.

Estadísticos descriptivos: Vitalidad

Subíndices	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
Vitalidad Post congelación (%)	6	65.8	15.9	6.5
Vitalidad pre congelación (%)	6	80.0	14.1	5.8

Estimación de la diferencia

Diferencia	Desv.Est. agrupada	IC de 95% para la diferencia
-14.17	15.07	(-33.55, 5.22)

Prueba

Hipótesis nula $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Valor T	GL	Valor p
-1.63	10	0.135

Anexo 21: Prueba de normalidad de Shapiro-Wilks (modificado) en relación a la concentración de toro de raza Fleckvieh

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
Concentración	50	1036.00	410.58	0.91	0.0040

Anexo 22: Prueba de Kruskal-Wallis: Concentración Millones/ml vs. Toros de raza Fleckvieh

Prueba

Hipótesis nula H_0 : Todas las medianas son iguales

Hipótesis alterna H_1 : Al menos una mediana es diferente

Variable Toros	N	Medias	D.E.	Medianas	rangos	H	p
Concentración Campeón	9	700	206.16	800	12.28	26.92	<0.0001
Concentración Messi	10	1340	411.5	1300	35.8		
Concentración Ollanta	13	800	255.77	800	17.35		
Concentración Rocki	8	900	141.42	850	22.44		
Concentración Tesoro	10	1450	324.04	1550	40.15		

Trat.	Ranks
Campeón	12.28 A
Ollanta	17.35 A
Rocki	22.44 A B
Messi	35.80 B C
Tesoro	40.15 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 23: Prueba de Kruskal-Wallis: Concentración millones/ml vs. Número de eyaculado de toros de raza Fleckvieh.

Estadísticas descriptivas

Eyaculado	N	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z
Primer eyaculado	22	1000	26.2	0.29
Segundo eyaculado	22	900	26.1	0.25
Tercer eyaculado	6	800	20.8	-0.84
General	50		25.5	

Prueba

Hipótesis nula	H ₀ : Todas las medianas son iguales		
Hipótesis alterna	H ₁ : Al menos una mediana es diferente		
Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	2	0.70	0.705
Ajustado para empates	2	0.72	0.697

Anexo 24: Prueba de Kruskal-Wallis: Concentración Millones/ml Vs. Aspecto del semen de toros de raza Fleckvieh

Estadísticas descriptivas

Aspecto	N	Mediana	Clasificación de medias	Valor Z
Denso amarillento	13	800	17.3	-2.34
Denso cremoso	27	800	24.0	-0.79
Denso lechoso	10	1550	40.1	3.55
General	50		25.5	

Prueba

Hipótesis nula	H ₀ : Todas las medianas son iguales		
Hipótesis alterna	H ₁ : Al menos una mediana es diferente		
Método	GL	Valor H	Valor p
No ajustado para empates	2	14.45	0.001
Ajustado para empates	2	14.94	0.001

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)
336.249	34.30%	32.93%

Anexo 25: Correlación: Volumen (ml), Concentración (millones/ml), Motilidad individual pre congelación (%), Vitalidad Pre congelación (%), Motilidad individual Post congelación (%), Vitalidad Post congelación (%), Circunferencia escrotal (Cm), Longitud testicular (Cm), Edad (años)

Método

Tipo de correlación Pearson
 Filas utilizadas 50

p: correlación en parejas de Pearson

Correlaciones	Volumen (ml)	Concentración millones/ml	Motilidad individual pre congelación (%)	Vitalidad pre congelación (%)	Motilidad individual post congelación (%)	Vitalidad post congelación (%)	Circunferencia escrotal (Cm)	Longitud testicular (Cm)
Concentración millones/ml	0.586							
Motilidad individual pre congelación (%)	0.519	0.646						
Vitalidad pre congelación (%)	0.409	0.63	0.744					
Motilidad individual post congelación	0.318	0.536	0.802	0.613				
Vitalidad post congelación (%)	0.272	0.535	0.613	0.736	0.653			
Circunferencia escrotal (Cm)	0.52	0.185	0.213	0.086	0.051	0.150		
Longitud testicular (Cm)	0.425	0.250	0.626	0.39	0.490	0.309	0.577	
Edad (años)	0.449	0.116	0.133	-0.034	0.006	0.105	0.968	0.504

Correlaciones en parejas de Pearson

Muestra 1	Muestra 2	Correlación	IC de 95% para ρ	Valor p
Concentración millones/ml	Volumen (ml)	0.586	(0.367, 0.743)	0.000
Motilidad pre congelación (%)	Volumen (ml)	0.519	(0.281, 0.696)	0.000
Vitalidad pre congelación (%)	Volumen (ml)	0.409	(0.147, 0.617)	0.003
Motilidad post congelación (%)	Volumen (ml)	0.318	(0.044, 0.548)	0.024
Vitalidad post congelación (%)	Volumen (ml)	0.272	(-0.007, 0.511)	0.056
Circunferencia escrotal (Cm)	Volumen (ml)	0.520	(0.283, 0.698)	0.000
Longitud testicular (Cm)	Volumen (ml)	0.425	(0.166, 0.629)	0.002
Edad años	Volumen (ml)	0.449	(0.195, 0.646)	0.001
Motilidad pre congelación (%)	Concentración Millones/ml	0.646	(0.449, 0.784)	0.000
Vitalidad pre congelación (%)	Concentración Millones/ml	0.630	(0.426, 0.773)	0.000
Motilidad post congelación (%)	Concentración Millones/ml	0.536	(0.303, 0.709)	0.000
Vitalidad post congelación (%)	Concentración Millones/ml	0.535	(0.302, 0.708)	0.000
Circunferencia escrotal (Cm)	Concentración Millones/ml	0.185	(-0.098, 0.441)	0.198
Longitud testicular (Cm)	Concentración Millones/ml	0.250	(-0.031, 0.494)	0.080
Edad años	Concentración Millones/ml	0.116	(-0.168, 0.382)	0.422
Vitalidad pre congelación (%)	Motilidad pre congelación (%)	0.744	(0.587, 0.847)	0.000
Motilidad post congelación (%)	Motilidad pre congelación (%)	0.802	(0.674, 0.883)	0.000
Vitalidad post congelación (%)	Motilidad pre congelación (%)	0.613	(0.403, 0.761)	0.000
Circunferencia escrotal (Cm)	Motilidad pre congelación (%)	0.213	(-0.070, 0.464)	0.138
Longitud testicular (Cm)	Motilidad pre congelación (%)	0.626	(0.421, 0.770)	0.000
Edad años	Motilidad pre congelación (%)	0.133	(-0.151, 0.397)	0.356
Motilidad post congelación (%)	Vitalidad pre congelación (%)	0.613	(0.403, 0.761)	0.000
Vitalidad post congelación (%)	Vitalidad pre congelación (%)	0.736	(0.575, 0.842)	0.000
Circunferencia escrotal (Cm)	Vitalidad pre congelación (%)	0.086	(-0.197, 0.356)	0.553
Longitud testicular (Cm)	Vitalidad pre congelación (%)	0.390	(0.125, 0.603)	0.005
Edad años	Vitalidad pre congelación (%)	-0.034	(-0.309, 0.247)	0.816
Vitalidad post congelación (%)	Motilidad post congelación (%)	0.653	(0.457, 0.788)	0.000
Circunferencia escrotal (Cm)	Motilidad post congelación (%)	0.051	(-0.231, 0.324)	0.727
Longitud testicular (Cm)	Motilidad post congelación (%)	0.490	(0.245, 0.676)	0.000
Edad años	Motilidad post congelación (%)	0.006	(-0.272, 0.284)	0.965
Circunferencia escrotal (Cm)	Vitalidad post congelación (%)	0.150	(-0.134, 0.411)	0.298
Longitud testicular (Cm)	Vitalidad post congelación (%)	0.309	(0.033, 0.541)	0.029
Edad años	Vitalidad post congelación (%)	0.105	(-0.179, 0.373)	0.468
Longitud testicular (Cm)	Circunferencia escrotal (Cm)	0.577	(0.356, 0.737)	0.000
Edad años	Circunferencia escrotal (Cm)	0.968	(0.944, 0.982)	0.000
Edad años	Longitud testicular (Cm)	0.504	(0.262, 0.686)	0.000