



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“EVALUACIÓN CUALI-CUANTITATIVA DE ESPERMATOZOIDES DE LA COLA
DEL EPIDÍDIMO DE CUYES (*Cavia porcellus*) CRIOLLOS Y MEJORADOS EN
DOS EDADES REPRODUCTIVAS”**

Tesis previa a la obtención del Título de
Médico Veterinario Zootecnista.

AUTORES: DANIELA ALEJANDRA TAPIA PESÁNTEZ

DIEGO JOSUÉ TELLO LARRIVA

DIRECTOR: DR. RICARDO HORACIO ALBERIO PhD.

CO-DIRECTOR: DR. DIEGO ANDRÉS GALARZA LUCERO Mg. Sc.

CUENCA-ECUADOR

2016



RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar las características cuali-cuantitativas de espermatozoides de cuyes extraídos de la cola del epidídimo según su fenotipo y edad reproductiva. Se realizó en la granja Irquis de la U. de Cuenca en 20 reproductores identificados por sus características fenotípicas y dispuestos en cuatro grupos: 5 criollos jóvenes (CJ), 5 criollos adultos (CA), 5 mejorados jóvenes (MJ), y 5 mejorados adultos (MA). Los cuyes fueron hemicastrados y de los epidídimos fueron disectados la cola sobre una caja petri. Se recuperó los espermatozoides por Swim up, diluidos en 1ml de medio (18% rafinosa y 3% leche descremada), procesados con Triladyl[®], refrigerados a 5°C/1 hora, y equilibrados por 0, 2, 24, 48, 96, 192, y 360 horas para su análisis de viabilidad espermática. Se congelaron únicamente los espermatozoides de 2 hs de equilibrio en vapores de nitrógeno. Se usó un DCA de 2x2: fenotipo y edad, y se usó un ANOVA para comprobar significancia. Se obtuvo interacción ($P < 0,05$) entre factores con eficiencia atribuida a MJ a las 0 hs: en Concentración (C) y Anormalidades de cola (AC), a las 24 hs: en motilidad individual (MIP) y 48 hs: en Vitalidad (VE). En MIP no se encontró diferencias ($P > 0,05$) en ningún tiempo de medición. En VE sólo encontró diferencias ($P < 0,05$) a las 96 hs (CJ:18,0;MJ:10,2;MA:8,6;CA:6,0%). En anormalidades totales (AT) sólo se encontró diferencias ($P < 0,05$) a las 0 hs (MJ:26,3;CJ:32,6;MA:36,2;CA:38,5%); y en AC se encontró diferencias ($P < 0,05$) a las 0 hs (MJ:4,6; CJ:9,5; CA:11,5; MA:16,4%), y a las 48 hs (CA:5,7;CJ:7,3;MJ:16,0;MA:18,1%). En Integridad de la membrana (HOS-Test) se obtuvo ($P < 0,05$) diferencias a las 2 hs (MJ:20,0; MA:13,1;CA:10,7;CJ:9,0%) y a las 96 hs (CA:25,4;CJ:15,3;MJ:9,7; MA:8,8%). A la congelabilidad no se obtuvo sobrevivencia de espermatozoides en ninguno de los tratamientos. En conclusión, la cantidad y calidad de espermatozoides epididimarios de cuyes identificados fenotípicamente varía según su edad; sin embargo, no se pudo comprobar su variación en la congelabilidad mostrándose absolutamente inviables a la crioconservación.

Palabras Claves: FENOTIPO, EDAD, CUY, ESPERMATOZOIDEOS, EPIDÍDIMO.



ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the qualitative and quantitative characteristics of sperm extracted from the caudal epididymis of creole guinea pigs and improved in two reproductive ages. Was conducted at the farm Irquis in the Cuenca's University in 20 breeding male guinea pigs identified by their phenotypic characteristics and arranged in four groups: 5 young native (NY), 5 adult native (NA), 5 youth improved (YI), and 5 adults improved (AI). The animals were hemi castrated and epididymis were dissected in their tail on a petri dish. Sperm recovered by Swim up, diluted in 1 ml medium (18% raffinose and 3% skim milk), processed by Triladyl®, cooled to 5 °C/1 hour, and equilibration time by 0, 2, 24, 48, 96, 192, and 360 hs for analysis of sperm viability. Only frozen sperm of 2 hs of equilibration time in vapors liquid nitrogen. A DCA (2x2) was used: phenotype and age, and ANOVA test was used to significance. Interaction ($P < 0.05$) between factors was obtained, obtaining higher values in Improves, at 0 hs in C and Total abnormalities tail (AaT), at 24hs at motility progressive (IMP), and at 48hs at vitality (V). In total abnormalities (AT) only found differences ($P < 0.05$) at 0 hs (MJ: 26.3; CJ: 32.6; MA: 36.2; CA: 38.5%); and AaT differences ($P < 0.05$) at 0 hs (:; 9.5; CA: 11.5; MA: CJ 4.6 MJ 16.4%) was found, and 48 hs (CA 5.7; CJ: 7.3; MJ: 16.0; MA: 18.1%). In membrane integrity (HOS-Test) was obtained ($P < 0.05$) differences at 2 hs (MJ: 20.0; MA 13.1, CA 10.7; CJ: 9.0%) and 96 hs (CA: 25.4; CJ: 15.3; MJ: 9,7; MA: 8.8%). In the analysis of freezability not sperm survival was obtained in any treatments. In conclusion, the quantity and quality epididymal sperm of guinea pigs identified according to their phenotype varies with age; but could not check their variation in freezability to be quite susceptible to cryopreservation.

Key words: PHENOTYPE, AGE, GUINEA PIG, SPERM, EPIDIDYMIS



ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	18
1.1. OBJETIVOS	20
1.2. HIPÓTESIS	20
CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	21
2.1. Generalidades	21
2.2. Descripción Zoológica	21
2.3. Clasificación del Cuy (<i>C. porcellus</i>)	22
2.3.1. Por la Conformación	22
2.3.2. Por Tipo de Pelaje	23
2.3.3. Por Color de Pelaje	24
2.3.4. Por Fenotipo	26
2.4. Anatomía y Fisiología Reproductiva	28
2.4.1. Anatomía Reproductiva del Macho	28
2.4.2 Fisiología Reproductiva del Macho	31
2.5. Morfología y Estructura del Espermatozoide de Cuy	32
2.6. Preservación de Recursos Genéticos de los Animales Domésticos 34	
2.7. Colección de Espermatozoides de Epidídimo	36
2.8. Evaluación de Semen Fresco	36
2.9. Criopreservación de semen tomado de epidídimo	39
2.9.1. Diluyentes	40
2.9.2. Refrigeración	42
2.9.3. Congelación	43
2.9.4. Evaluación del Semen Criopreservado	43
CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODO	44
3.1. Materiales	44
3.1.1. Materiales Biológicos	44
3.1.2. Materiales Físicos	44
3.1.3. Materiales Químicos	44
3.2. Método	44



3.2.1. Área de Estudio.....	44
3.2.2. Unidad de Análisis.....	44
3.2.3. Metodología.....	45
3.2.4. Especificación de las variables.....	48
3.2.5. Diseño Experimental y Pruebas Estadísticas.....	49
4. CAPITULO IV: RESULTADOS.....	50
5. CAPITULO V: DISCUSIÓN.....	63
5.1. Interacción entre factores.....	63
5.2. Análisis del factor fenotipo.....	65
5.3. Análisis de factor edad.....	66
5.4. Análisis de congelabilidad.....	66
6. CAPITULO VI: CONCLUSIONES.....	68
BIBLIOGRAFÍA.....	69
ANEXOS.....	77



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Escala Zoológica del Cuy Doméstico.....	21
Tabla 2. Tratamientos Factoriales.....	49



ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Cuy Tipo A.....	22
Fotografía 2. Cuy Tipo B.....	22
Fotografía 3. Cuy Tipo 1.....	23
Fotografía 4. Cuy Tipo 2.....	23
Fotografía 5. Cuy Tipo 3.....	23
Fotografía 6. Cuy Tipo 4.....	24
Fotografía 7. Cuyes de Colores Compuestos.....	24
Fotografía 8. Cuy de Color Overo.....	25
Fotografía 9. Cuy de Colores Fajados.....	25
Fotografía 10. Cuy de Colores Combinados.....	25
Fotografía 11. Cuy Criollo.....	26
Fotografía 12. Cuy Mejorado Línea Perú.....	27
Fotografía 13. Cuy Mejorado Línea Andina.....	27
Fotografía 14. Cuy Mejorado Línea Inti.....	28
Fotografía 15. Porción Terminal de Pene Evaginada	31



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sistema Reproductivo Masculino del Cobayo.....	28
Figura 2. Estructura del Testículo y Epidídimo	29
Figura 3. Estructura del Glande.....	30
Figura 4. Estadios de la Espermatogénesis.....	32
Figura 5. Morfología del Espermatozoide de Cobayo.....	33
Figura 6. Estructura del Espermatozoide de Cuy.....	33
Figura 7. Anormalidades de los Espermatozoides.....	38



ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Interacción entre factores (Edad*Genotipo) y valores promedio por tratamientos.....	50
Cuadro 2. Variables de calidad y cantidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) al momento de su recuperación (fresco), por factor.....	51
Cuadro 3. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) por factor a 2 hs de post-refrigeración.....	52
Cuadro 4. Interacción entre factores (Edad*Genotipo) y valores promedios de la MIP a 24 hs de post-refrigeración.....	53
Cuadro 5. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) por factor a 24 hs post-refrigeración.....	54
Cuadro 6. Interacción entre factores (Edad*Genotipo) y valores promedios de VE por tratamiento a 48 hs post-refrigeración.....	55
Cuadro 7. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) por factor a las 48 hs de refrigeración.....	56
Cuadro 8. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) por factor a 96 hs post-refrigeración.....	57
Cuadro 9. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) por factor a las 192 hs post-refrigeración.....	58



ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Interacción entre factores (Fenotipo*Edad) en Concentración Espermática y AC recién recolectados (Fresco).....	51
Gráfico 2. Interacción entre factores (Fenotipo*Edad) en MIP a 24 hs post-refrigeración.....	53
Gráfico 3. Interacción entre factores (Fenotipo*Edad) en VE a 48hs post-refrigeración.....	54
Gráfico 4. Curva de MIP en diferentes tiempos de medición en los cuatro tratamientos en estudio.....	58
Gráfico 5. Curva de VE en diferentes tiempos de medición en los cuatro tratamientos en estudio.....	59
Gráfico 6. Curva de AT en diferentes tiempos de medición en los cuatro tratamientos en estudio (Las letras demuestran significancia).....	60
Gráfico 7. Curva de AC en diferentes tiempos de medición en los cuatro tratamientos en estudio.....	61
Gráfico 8. Curva de HOS-Test en diferentes tiempos de medición en los cuatro tratamientos en estudio.....	62



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

CJ: Criollo Joven

CA: Criollo Adulto

MJ: Mejorado Joven

MA: Mejorado Adulto

CE: Concentración Espermática

MIP: Motilidad Individual Progresiva

VE: Vitalidad Espermática

AT: Anormalidades Totales

AC: Anormalidades de Cola

PM: Permeabilidad de la Membrana



Yo Daniela Alejandra Tapia Pesántez autora de la tesis **“EVALUACIÓN CUALI-CUANTITATIVA DE ESPERMATOZOIDES DE LA COLA DEL EPIDÍDIMO DE CUYES (*Cavia porcellus*) CRIOLLOS Y MEJORADOS EN DOS EDADES REPRODUCTIVAS”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico Veterinaria Zootecnista. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, 26 de Julio del 2016

Daniela Alejandra Tapia Pesántez

C.I: 0301821633



Yo Diego Josué Tello Iarriva, autor de la tesis **“EVALUACIÓN CUALI-CUANTITATIVA DE ESPERMATOZOIDES DE LA COLA DEL EPIDÍDIMO DE CUYES (*Cavia porcellus*) CRIOLLOS Y MEJORADOS EN DOS EDADES REPRODUCTIVAS”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico Veterinaria Zootecnista. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, 26 de Julio del 2016

Diego Josué Tello Iariiva

C.I: 0103304945



Yo, Daniela Alejandra Tapia Pesántez, autora de la tesis **“EVALUACIÓN CUALI-CUANTITATIVA DE ESPERMATOZOIDES DE LA COLA DEL EPIDÍDIMO DE CUYES (*Cavia porcellus*) CRIOLLOS Y MEJORADOS EN DOS EDADES REPRODUCTIVAS”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 26 de Julio del 2016

Daniela Alejandra Tapia Pesántez

C.I: 0301821633



Yo, Diego Josué Tello Larriva, autor de la tesis **“EVALUACIÓN CUALI-CUANTITATIVA DE ESPERMATOZOIDES DE LA COLA DEL EPIDÍDIMO DE CUYES (*Cavia porcellus*) CRIOLLOS Y MEJORADOS EN DOS EDADES REPRODUCTIVAS”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 26 de Julio del 2016

Diego Josué Tello Larriva

C.I: 0103304945

AGRADECIMIENTO

"Mientras el río corra, los montes hagan sombra y en el cielo haya estrellas, debe durar la memoria del beneficio recibido en la mente del hombre agradecido"

Le damos las gracias principalmente a Dios, quien nos dio la fuerza para continuar a pesar de las adversidades que se nos presentaron.

A nuestros padres y familia, que con esfuerzo y sacrificio nos impulsaron en el camino del conocimiento.

Al Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias INIAP, por ofrecernos interés y colaboración para la realización de esta investigación.

Y finalmente y no menos importante tenemos una expresión de gratitud para nuestros maestros y amigos el Dr. Ricardo Alberio, Dr. Juan Pablo Garzón, Dr. Andrés Galarza, Dr. Daniel Argudo, Ing. Patricio Bueno, Dr. Manuel Soria, Dr. Ulises Iñiguez y Econ. Carlos Torres, quienes nos supieron brindar su apoyo en las diferentes etapas del proyecto de tesis.

Daniela y Diego.

DEDICATORIA

*“La fuerza no proviene de la capacidad física; sino de,
la voluntad indomable”*

A MI MAMÁ

Quien con amor, sabiduría y sacrificio, supo motivarme moral y materialmente para culminar mis estudios universitarios.

Daniela.

A MIS PADRES

Quienes con su abnegado sacrificio, supieron guiarme por el camino de la verdad y la justicia, ayudándome moral y económicamente para finalizar mi carrera.

Diego.



CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

En el Ecuador existe una disminución de la variabilidad genética de los cuyes, debido principalmente al bajo apoyo que se ha dado a la conservación de las especies andinas y a la introducción desde Perú de variedades mejoradas desde hace 15 a 20 años (Haro, 2003). Esto ha llevado que las líneas locales, de gran diversidad genética, hayan sido reemplazadas por líneas definidas de cuyes: Perú, Inti, Andina, que son destinados para la producción y que provocan un impacto para los ecosistemas tradicionales (Chauca, 1997).

A pesar de que en el sector rural aún se observa una relativa diversidad genética de la raza de cuy criolla, la explotación intensiva, el alto consumo de carne de cuy (1,16kg por persona en Cuenca-Ecuador, según el censo de año 2001) (Espin, Sánchez, & Mazzini, 2010), las demandas selectivas del mercado y las opciones de cruzamiento han traído consigo el abandono progresivo de la especie nativa, que además tiene una tasa de conversión alimenticia más baja (7,35 vs 5,33 para nativas y mejoradas respectivamente) (Chauca, 1997). Esto ha obligado a los productores a renovar el sistema de producción con la inclusión de animales mejorados más eficientes y que satisfacen mejor la demanda. Este proceso se ha agudizado por la influencia que ejercen las asociaciones de criadores, los cuales son muy proclives a la uniformización de los fenotipos de animales (Haro, 2003).

La disminución de la variabilidad genética por procesos de selección o cruzamiento también está afectado por los escasos estudios de crioconservación de recursos zoo-genéticos de cobayo y el desconocimiento de la población sobre el valor que conlleva la preservación de las razas nativas, seguido por el desinterés de comprender la función que desempeñarán en el futuro la conservación y uso sostenible de estos recursos. Conjuntamente con la reducción de la variación genética en las especies autóctonas de animales domésticos, ocurrirá la pérdida de recursos zoo-genéticos locales que son patrimonio cultural y social de una nación; si no se toman las medidas de protección de la biodiversidad (Mujica, 2010).



La conservación de la biodiversidad zoo-genética es importante para salvaguardar el patrimonio genético formado a lo largo de los años y adaptado a los diversos ecosistemas. Lograr la conservación y el uso sostenible de la biodiversidad implica lograr beneficios para el ser humano, sin agotar el recurso y de esa manera asegurar las posibilidades de aprovechamiento para las próximas generaciones (Mujica, 2010).

La preservación del material genético puede llevarse a cabo usando diversas estrategias según la FAO (2007), una de ellas es la preservación del material zoo-genético. Lo que implica la preservación de semen, ovocitos o embriones de las poblaciones actuales. Como un primer paso en el estudio de esta problemática, en el presente trabajo se propone evaluar la producción cuali-cuantitativa de espermatozoides de cuyo obtenido por hemicastración; se determinará si ésta producción varía con el Fenotipo y con la Edad de los individuos. Ésta información servirá para que en una etapa posterior se pueda proponer la criopreservación de este material y tener en claro cuáles serán las expectativas que se podrán tener para ello según razas y edades de los individuos.

La colección de espermatozoides por hemicastración permite mantener la fertilidad en vivo de los animales (Boersma *et al.*, 2015). Una vez recolectado el epidídimo junto con los vasos deferentes se elimina el exceso de grasa y tejido, se coloca el medio crioprotector y posteriormente se realiza cortes a la cola del epidídimo con una aguja o tijera para permitir que salga el esperma de los conductillos, denominando a este proceso “*swim out*” (Sztein, 2013).

Con esta técnica de obtención de espermatozoides es posible la evaluación de Concentración Espermática, Motilidad Individual Progresiva, Vitalidad Espermática, Anormales Totales y de Cola, Hos-Test para evaluar integridad de la membrana espermática.

En base a estos antecedentes, nos hemos planteado los siguientes objetivos:

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Objetivo General

Evaluar las características cuali-cuantitativas de espermatozoides extraídos de la cola del epidídimo de cuyes criollos y mejorados en dos edades reproductivas.

1.1.2. Objetivos Específicos

- Identificar los reproductores Criollos y Mejorados de diferentes edades por medio de caracterización fenotípica.
- Evaluar las variables cuantitativas y cualitativas de espermatozoides epididimarios en fresco, refrigerado y descongelado.
- Determinar el efecto de fenotipo y edad sobre la variabilidad en la producción espermática epididimaria.

1.2. HIPÓTESIS

La cantidad y calidad de espermatozoides de cuy varía de acuerdo al fenotipo y la edad.



CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades

El cuy (*Cavia porcellus*), es un mamífero emblemático de la variedad genética de los animales domesticados de los andes, existiendo una población de más o menos 35-65 millones expandidos entre Ecuador, Perú, Colombia y Bolivia. Por su gran capacidad de adaptación se pueden encontrar en la costa o en la sierra hasta una altura de 4500 metros sobre el nivel del mar (Chauca, 1997).

Los cobayos o conejillos de indias fueron domesticados por primera vez por los indios andinos de Perú como fuente de alimento y como ofrenda de sacrificio a la Dioses incas. Hay de varios colores (blanco, negro, marrón, rojo, brindle y roan) y según las capa existe una gran variedad de conejillos de indias. Ellos puede ser mono, bi o tricolor, con pelo corto normal (Pelo corto o Inglés); el pelo más largo dispuestas en verticilos (Abyssin- ian); pelo largo y liso (Perú); o Medio largo cabello fino (Seda) (Harkness *et al.*, 2002).

Estos roedores herbívoros, desde tiempos ancestrales (250-300 años AC) y hasta el día de hoy forman parte en la alimentación de la población andina (Grégoire *et al.*, 2010), pues su carne de alto valor nutricional aporta 20,3% de proteína (Pérez, 2004). Además han sido utilizados en los pueblos indígenas como medicina tradicional y en otros países como mascota y animal de laboratorio (Xicohtencatl *et al.*, 2013).

2.2. Descripción Zoológica

Tabla 1. Escala Zoológica del Cuy Doméstico

Orden:	Rodentia
Suborden:	Hystricomorpha
Familia:	Caviidae
Género:	Cavia
Especie:	Cavia porcellus

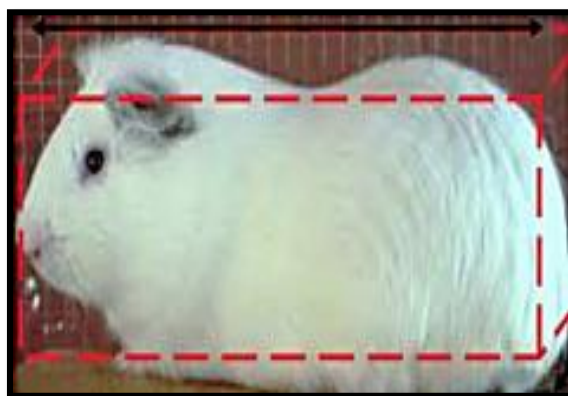
Fuente: Montes, (2015).

2.3. Clasificación del Cuy (*C. porcellus*)

2.3.1. Por la Conformación

a) Tipo A

Son cuyes de cabeza grande, hocico corto, orejas caídas y cuerpo rectangular. Se caracterizan por ser productores de carne, debido a su buena profundidad, longitud y ancho. Su temperamento es tranquilo, son de fácil manejo y su tasa de conversión de alimento es aceptable (Gregoire, 2014).

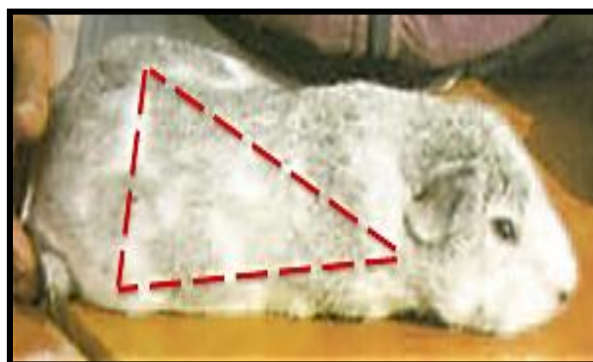


Fotografía 1. Cuy Tipo A

Fuente: Ataucusi, (2015)

b) Tipo B

Corresponden a cobayos muy angulosos, de cabeza alargada y triangular. Presentan un desarrollo muscular bajo y una amplia variabilidad en el tamaño de las orejas. Su temperamento es muy nervioso lo que complica su manejo (Chauca, 1997).



Fotografía 2. Cuy Tipo B

Fuente: Gregoire, (2014)

2.3.2. Por Tipo de Pelaje

a) Tipo 1

Incluye animales de pelo corto, liso y pegado al cuerpo. Es el tipo de cuy más prevalente entre los productores de carne (Ataucusi, 2015).



Fotografía 3. Cuy Tipo 1

Fuente: Aliaga *et al.*, (2009)

b) Tipo 2

Son animales con pelo corto, liso. Forman rosetas sobre la totalidad del cuerpo. Son menos precoces que los cuyes de Tipo I y generalmente tienen un tipo de conformación B. Presenta buenas aptitudes para la producción de carne (Chauca, 1997).



Fotografía 4. Cuy Tipo 2

Fuente: Ataucusi, (2015)

c) Tipo 3

Los conejillos de indias que pertenecen a este tipo tienen el pelo largo (10 cm o más). Son de baja producción de carne, pero son objeto de interés por su belleza (Gregoire, 2014).



Fotografía 5. Cuy Tipo 3

Fuente: Gregoire, (2014)

d) Tipo 4

Estos cuyes tienen el pelo erizado y crespo. La forma de la cabeza y el cuerpo es redondo y son tamaño medio. Poseen la grasa infiltrada en el músculo que hace que el sabor de su carne sea particular (Chauca, 1997).

**Fotografía 6. Cuy Tipo 4****Fuente:** Ataucusi, (2015)**2.3.3. Por Color de Pelaje****a) Colores Simples**

Cuyes de un solo color de manto como el blanco, bayo (amarillo), alazán (rojizo) marrón y negro.

b) Colores Compuestos

Tienen dos o más colores de pelo que forman tonalidades. Entre estos está el moro (blanco-negro), lobo (bayo-negro), ruano (alazán-negro) (Montes, 2015).

**Fotografía 7. Cuyes de Colores Compuestos****Fuente:** Montes, (2015)

c) Overos

Son los de colores moteados por lo que puede haber overo bayo, overo alazán, overo moro, overo negro (Grégoire *et al.*, 2010).



Fotografía 8. Cuy de Color Overo

Fuente: Higaonna, (2010)

d) Fajados

Los colores del pelaje se encuentran divididos en secciones de distinto color (Ataucusi, 2015).



Fotografía 9. Cuy de Colores Fajados

Fuente: Grégoire *et al.*, (2010)

e) Combinados

Presentan los colores distribuidos en forma irregular (Chauca, 1997).



Fotografía 10. Cuy de Colores combinados

Fuente: Ataucusi, (2015)

2.3.4. Por Fenotipo

a) Criollo

Es el denominado cuy nativo existente en los países andinos. Se caracteriza por ser un animal rústico y pequeño con poca exigencia en la alimentación. Estos cobayos se pueden desarrollar muy bien a pesar de las condiciones adversas del clima (Aliaga *et al.*, 2009).

Los cuyes criollos predominan en las áreas rurales, y se desarrollan en un sistema de crianza familiar. Son animales de bajo rendimiento productivo y de poca precocidad. Según la conformación se dice que son animales Tipo B.

El tamaño de la camada oscila de 1,7-3,0; tienen un peso al nacimiento de promedio de 2,25 gramos y alcanzan 458,9 gramos a las 13 semanas (Chauca, 1997).

Características Fenotípicas: Son de cuerpo anguloso y de cabeza triangular o alargada; tienen un hocico en punta. Su temperamento es nervioso. Tienen un color de pelo variado pueden ser claros simples como el blanco y el alazán u oscuros simples como el negro. Los de pelaje compuesto pueden ser blanco con negro, alazán con negro. Además existen los overos que son los de colores moteados y los fajados que tienen colores en franjas (Guerra, 2009).



Fotografía 11. Cuy Criollo

Fuente: Aliaga *et al.*, (2009)

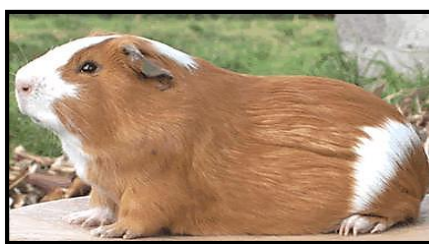
b) Mejorado

Es el cuy resultado de procesos de mejoramiento genético, este fenotipo se caracteriza por ser precoz y tener una buena conversión alimenticia.

Es el típico cuy productor de carne, ya que posee una buena longitud, profundidad y mayor desarrollo muscular. Según la conformación se dice que son animales Tipo A. Son animales que tienen un promedio de 2,3-3,2 crías, tienen un peso promedio al nacimiento de 148,4 gramos y alcanzan 1091,3 gramos a las 13 semanas (Chauca, 1997).

Dentro de los cuyes mejorados existen varias líneas como la Línea Perú que poseen un rápido crecimiento; la Línea andina caracterizados por el alto número de crías y la Línea Inti que es la línea intermedia entre la rapidez de crecimiento de las crías y la prolificidad de la madres (Pérez, 2004).

Características Fenotípicas: Tienen una cabeza grande, un hocico corto, orejas caídas y un cuerpo rectangular. Son de temperamento tranquilo. Tienen un color de pelaje preferentemente blanco con rojo, muy liso y pegado al cuerpo; pero también existen los de color blanco puro y los bayos puros o combinados con blanco. El color de sus ojos es negro (Gregoire, 2014).



Fotografía 12. Cuy Línea Perú



Fotografía 13. Cuy Línea Andina



Fotografía 14. Cuy Línea Inti

Fuente: Higaonna, (2010)

2.4. Anatomía y Fisiología Reproductiva

2.4.1. Anatomía Reproductiva del Macho

El sistema reproductor masculino del cuy se compone de testículos, epidídimo, conductos deferentes, glándulas vesiculares, próstata, glándulas coagulantes, las glándulas bulbo uretrales, uretra y pene. (Aliaga *et al.*, 2009).

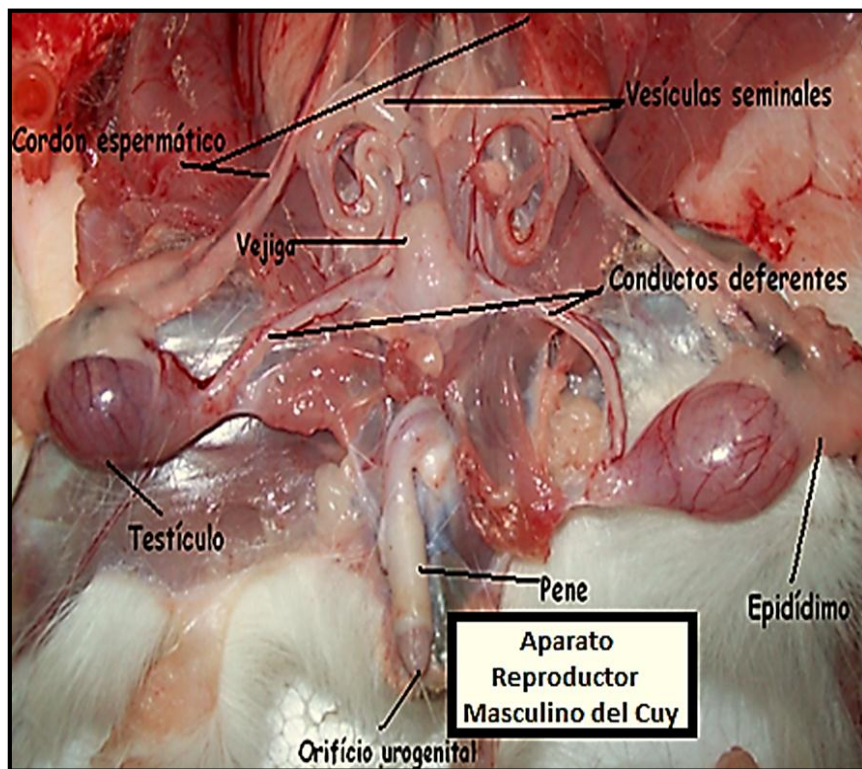


Figura 1. Sistema Reproductor Masculino del Cobayo

Fuente: Aliaga *et al.*, (2009)

Los testículos son órganos ovoideos de 22mm de largo por 18mm de ancho. Tienen localización intraabdominal cerca de la vejiga y carecen de escroto permaneciendo en bolsas inguinales (Harkness *et al.*, 2002). Durante el empadre cuando el macho se excita los testículos descienden a la región inguinal; pero más tarde parte del músculo cremaster permite su regreso a la región abdominal (Quillahuaman, 2015). Los testículos presentan tres compartimentos el primero o extratubular (Túnica albugínea) contiene las células de Leydig productoras de testosterona, el segundo compartimento o peritubular está constituido por células mioideas, fibroblastos y fibras de colágeno que en conjunto con el compartimento extratubular conforman la barrera hematotesticular, por último está el compartimento intratubular (Túbulos

seminíferos) que contiene las células de Sertoli, las cuáles brindan nutrimentos y soporte estructural a las células durante el proceso de espermatogénesis (Aliaga *et al.*, 2009).

Luego se encuentra la red de testas o mediastino del que salen los conductos eferentes que forman el conducto deferente, el cual avanza hasta el epidídimo.

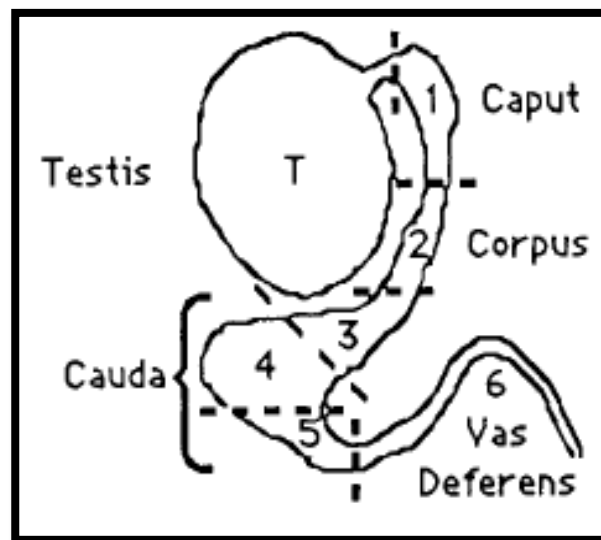


Figura 2. Estructura del Epidídimo de Cobayo

Fuente: Anakwe *et al.*, (1991)

El epidídimo es un conducto formado por cabeza, cuerpo y cola; cuya función es el transporte, maduración y concentración de espermatozoides (Schimming *et al.*, 2012). De manera específica, en la cabeza ocurre la reabsorción de fluidos y solutos. Los espermatozoides en esta primera región son infértiles (Ortiz, 2000). En el cuerpo del epidídimo ocurre la maduración espermática y en la cola se da el almacenamiento de los espermatozoides fértiles (Fernández *et al.*, 2006). La capacidad de almacenamiento del epidídimo es de 15-20 % de espermatozoides en la cabeza y cuerpo, mientras que el 80-85 % en la cola (Vicente & Viudes de Castro, 2000).

A continuación del epidídimo se encuentra el conducto deferente, el cual conduce los espermatozoides hasta los conductos excretores (Gonzalez, 2004).

Quillahuaman, (2015) menciona que los cobayos poseen vesículas seminales que proporcionan la parte líquida del semen, estas son alargadas con 12 cm de longitud y 0.6 cm de diámetro. También tienen glándulas bulbouretrales, son de forma

redondeada con 8mm de largo y 5mm de ancho. Éstas segregan una sustancia mucilaginosa que lava la uretra de residuos de orina.

La próstata en el cuy es de forma lobular y de ubicación caudal, está dividida en lóbulos y formada por conductos contorneados (Matamoros, 1981). La función de la próstata es contribuir con líquidos e iones inorgánicos al semen.

Entre las glándulas accesorias también se encuentran las glándulas coagulantes, las mismas que producen una secreción que permite la coagulación de las sustancias secretadas por las vesículas seminales, dando como resultado la formación del tapón vaginal luego de la eyaculación, el que bloquea el reflujo de semen. Por encima del ano poseen un acúmulo de glándulas sebáceas que usan para atraer a la hembra y marcar territorio (Gonzalo, 2012).

Para Aliaga y *col* (2009) la uretra del *C. porcellus* tiene dos funciones elementales la primera es eliminar la orina del aparato excretor y la segunda excretar el espermatozoides del sistema reproductor.

El pene es el órgano copulador con 45 mm de longitud y 5 mm de diámetro, se caracteriza por poseer un hueso y glande. El glande con forma de cono truncado presenta un orificio denominado orificio uretral (Quillahuaman, 2015).

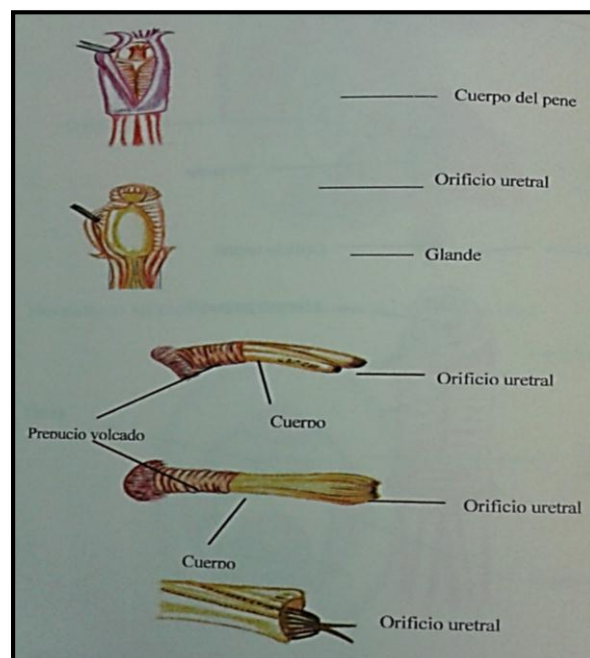


Figura 3. Estructura del Glande

Fuente: Aliaga et al., (2009)

El glande está rodeado por formaciones espinosas localizadas al fondo del sáculo, cuya función es la fijación del pene además de proveer efectos sensoriales estimulantes. Cuando hay la erección, éstas formaciones espinosas se evaginan. Por debajo del glande hay dos prolongaciones en forma de garfios **Fotografía 15**, son de consistencia cartilaginosa y queratinizada, éstos se proyectan hacia arriba y seguramente contribuyen para el orgasmo de la hembra (Aliaga et al., 2009).



Fotografía 15. Porción Terminal del Pene Evaginada

Fuente: Los Autores

2.4.2 Fisiología Reproductiva del Macho

El cuy es una especie de ciclo reproductivo corto, cuyo empadre debe iniciarse entre los 3-4 meses, edad con la que el reproductor ya ha desarrollado no sólo en tamaño; sino que también ha alcanzado la madurez sexual. El peso con el que llega a esta etapa es superior a 1,1kg, lo que le permite dominar el grupo y mantener la relación de empadre (Chauca, 1997).

Gonzalez, (2004) menciona que, en otro roedor como es el conejo el crecimiento de los testículos es lento hasta los 45 días, pero luego que alcanza los 800-1000 gramos los testículos se desarrollan en una proporción superior a la del cuerpo. La actividad de los túbulos seminíferos se inicia entre los 40-50 días, mientras que a los 60 días aparecen células que dan lugar a los espermatozoides. A las seis semanas se inicia el desarrollo de las glándulas anexas, a la vez que se da el inicio de la producción de testosterona, dándose con esto las primeras manifestaciones de actividad sexual.

En cuanto a la producción espermática se dice que en el conejo la duración de la espermatogénesis abarca más o menos los 42 días, con una producción diaria testicular de 200-500 millones, variando esto con el individuo y factores externos (Vicente & Viudes de Castro, 2000).

La espermatogénesis no es más que divisiones mitóticas y meióticas de las células espermáticas precursoras (Barrios, 2002) y comprende tres fases; la primera es la fase de multiplicación o estadio de las espermatogonias que provienen de las células germinales; las espermatogonias A son las más primitivas y poseen un núcleo elíptico, mientras que las espermatogonias B tienen un núcleo esférico. La segunda fase de maduración o meiosis corresponde al estadio de mayor duración y es donde los espermatogonias dan lugar a espermatocitos primarios y secundarios, ocurriendo una transformación de células diploides a células haploides y el intercambio de cromátides entre cromosomas homólogos, que dan origen a la variabilidad de la especie. La última fase es la espermiogénesis cuyo proceso abarca la liberación de los espermatozoides de las células de Sertoli a la luz de los túbulos seminíferos (Aliaga *et al.*, 2009).

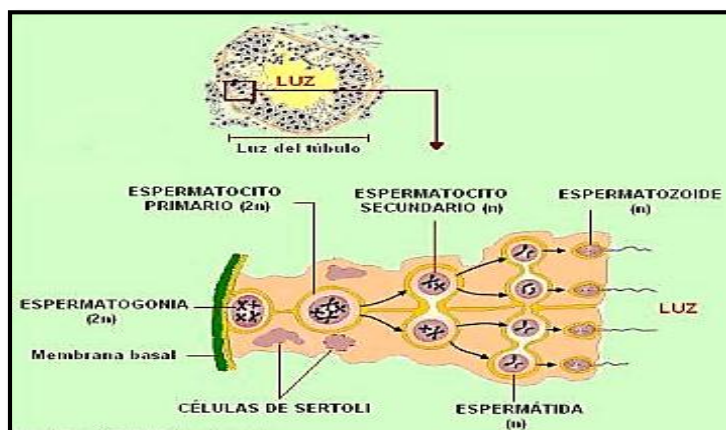


Figura 4. Estadios de la Espermatogénesis

Fuente Aliaga *et al.*, (2009)

2.5. Morfología y Estructura del Espermatozoide de Cuy

Los espermatozoides son muy diversos en tamaño y forma, cuya evolución está impulsado por dos fuerzas principales: la competencia de espermatozoides y la biología reproductiva femenina (Varea *et al.*, 2013)

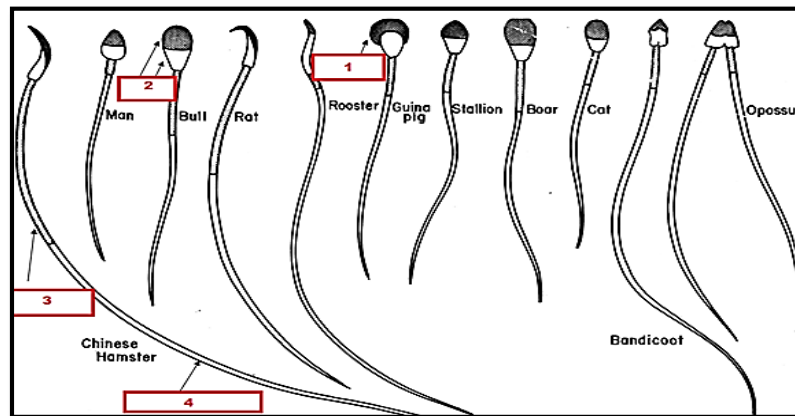


Figura 5. Morfología del Espermatozoide de Cobayo (Guinea Pig)

Fuente Gold Myles et al., (1981)

En el caso de los mamíferos como el cobayo sus espermatozoides están estructuralmente conformados por dos partes principales, la cabeza y la cola (Tulsiani & Abou-Haila, 2012). La cola está subdividida en cuatro regiones; el cuello, pieza media, pieza principal y pieza final. Mientras que los principales componentes de la cabeza son el acrosoma y el núcleo (Fawcett, 1965).

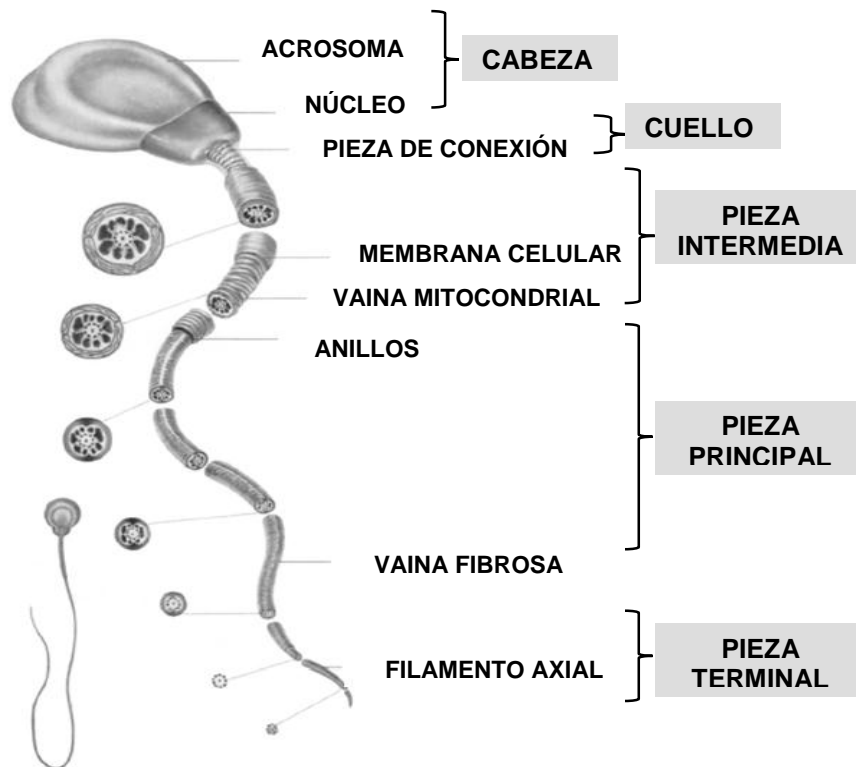


Figura 6. Estructura del Espermatozoide de Cuy

Fuente Fawcett, (1965)



La cabeza del espermatozoide de cobayo es oval y mide alrededor de 8 micras, mientras que el flagelo o cola mide 108,3 micras. La forma de la cabeza se determina en gran parte por la forma del núcleo, pero en el conejillo de indias el gran tamaño del acrosoma es el que lo caracteriza. La función del acrosoma no es muy clara pero se le ha correlacionado con el aumento de la capacidad fertilizante de los espermatozoides, mientras que la propiedad del núcleo está relacionada con ADN (Aliaga et al., 2009).

El cuello es la región estrecha entre la cabeza y el comienzo de la vaina mitocondrial. El componente principal del cuello es la pieza de conexión cuya función es fijar la cola a la cabeza (Fawcett, 1965).

La pieza intermedia está relacionada con la vaina mitocondrial, se dice que existe alrededor de 80-85 mitocondrias por espermatozoide. La pieza principal se caracteriza por una vaina compuesta de elementos fibrosos, es así que también es denominada, la hélice de la cola. La última estructura de la cola es la pieza final, ésta es muy parecida a un cilio y está compuesta de varios filamentos pequeños que dan la impresión de uno solo (Afzelius, 1959).

2.6. Preservación de Recursos Genéticos de los Animales Domésticos

La diversidad genética en cada raza y a su vez en cada especie viene desarrollándose a través de millones de años de evolución, resultado de la interacción con el ambiente, por selección del humano o la acción de ambos factores (FAO, 2016).

Molina, (2009) menciona que aproximadamente existen 1,6 millones de especies en planeta, de los cuales únicamente 50.000 pertenecen a mamíferos y aves, existiendo dentro de ese reducido número solo 40 especies de animales domésticos de utilidad para la alimentación y agricultura.

Los recursos zoogenéticos o variabilidad de genes entre animales, constituyen la base para el desarrollo en la ganadería de los países (Aguero, 2009), por lo que su conservación está bajo el control y responsabilidad del ser humano.



Como afirman IUCN, UNEP & WWF (1980) la conservación de la Diversidad de los Animales Domésticos (DAD) abarca el uso sostenible, la preservación, el mantenimiento, la restauración y mejoramiento del ambiente natural.

Actualmente existe un gran número de técnicas para la preservación de la diversidad genética animal, pudiéndose clasificar en *in situ* y *ex situ*. *In situ* se define como la conservación de los animales en su mismo ambiente, aplicando únicamente medidas coadyuvantes (Rodero & Molina, 2015), mientras que *ex situ* es la conservación de poblaciones aplicando medidas artificiales manteniendo el recurso genético fuera del ambiente natural, ésta técnica abarca la criopreservación de germoplasma (semen, óvulos, embriones, células somáticas) (Delgado, 2000).

La colección de semen para su posterior criopreservación es una de las formas más conocidas para la conservación EX SITU de la DAD (Rischkowsky & Dafydd, 2007) y está respaldado por 65 años de investigación desde el descubrimiento del glicerol como crioprotector (Bautista et al., 2015).

Varias son las formas de colectar semen en las diferentes especies, (León *et al.*, 1991) en una investigación en toros mencionan la vagina artificial y electroeyaculador como técnicas para la obtención de semen; (Duchi et al., 2000) hablan de la colección de semen de gallo con un masaje en la cloaca; mientras que (Seed et al., 1996) detallan la extracción de espermatozoides de la cola del epidídimo en roedores.

Boersma et al., (2015) mencionan tres métodos para la recogida de esperma en ratones; electroeyaculación, inyección de drogas y el lavado del útero de hembras pero éstos únicamente adecuados para situaciones experimentales, ya que no han encontrado su camino en la práctica habitual, pues la electroeyaculación se ha aplicado con éxito en granja, zoológicos y en animales domésticos más grandes; pero en animales pequeños como roedores en algunos casos ha conllevado a disfunción eréctil, lesiones o incluso la muerte.



2.7. Colección de Espermatozoides de Epidídimo

Se han buscado desde hace más de 20 años medios para mantener la diversidad biológica y una de estas técnicas es la recuperación y criopreservación de espermatozoides tomados del epidídimo (Leibo & Songsasen, 2002).

Ésta técnica se usa en casos donde coleccionar semen de animales se complica (Fernández *et al.*, 2006).

La colección de semen de epidídimo básicamente es la extirpación quirúrgica de un epidídimo, pues el otro es dejado para mantener la fertilidad en vivo (Boersma *et al.*, 2015). Una vez recolectados el epidídimo con los vasos deferentes se elimina el exceso de grasa y tejido, se coloca el medio crioprotector y posteriormente se realiza cortes a la cola del epidídimo con una aguja para permitir que salga el espermatozoides de los conductillos, denominando a este proceso “*swim out*” (Sztejn, 2013).

A pesar de que ésta técnica para recoger líquido espermático es muy útil, hay que reconocer que los espermatozoides de epidídimo no entran en contacto con elementos protectores del plasma por lo que disminuye la resistencia a procesos de congelación (Ortiz, 2000).

Franco, (2007) aclara que los espermatozoides extraídos del epidídimo son capaces de fertilizar óvulos, sin embargo las tasas de fertilización *in vitro* son significativamente bajas.

2.8. Evaluación de Semen Fresco

La valoración macroscópica implica evaluar el volumen, pH y color, mientras que la microscópica permite determinar la concentración, motilidad, morfología, vitalidad, e integridad de las membranas (Lucio *et al.*, 2009).

Durrant, (1984) en un estudio realizado en cobayos utilizando electroeyaculador determinó que el volumen del eyaculado está entre 0.6 a 0.8cc, con un color blanquecino y una acidez de 7.



Para la determinación de la concentración espermática se utiliza las cámaras hemocitométricas o espectrofotómetros (Ortiz, 2000) y se prepara una dilución 1:20, 1:10 o 1:50 con cada muestra homogenizando bien el semen con el diluyente. Luego se realiza el recuento y se determina la concentración en millones/ml dividiendo el promedio del recuento para el factor 1+9, 1+19 o 1+49 (OMS, 2013). Utilizando una de estas técnicas Caycedo, (2000) determinó una concentración de 0.25×10^3 espermatozoides/cm³ en cobayos. Otro estudio realizado por Scott & Dziuk, (1964) mencionan que existe un promedio de espermatozoides de 5-233 millones por eyaculado obtenido con electroeyaculación, mientras que para Freund, (1969) quien realizó un experimento en 870 cuyes observó una concentración de $13-376 \times 10^6$ espermatozoides por eyaculado igualmente obtenido por estimulación eléctrica.

Boersma et al., (2015) realizaron estudios en ratones y obtuvieron un concentrado espermático promedio de $7.0 \pm 5.9 \times 10^6$ ml colectado por microcirugía epididimal.

En tanto a motilidad, las células espermáticas del cuy tienen un movimiento curvilínea y se caracterizan por una progresión hacia adelante irregular (Wagner & Manning, 1976). La motilidad espermática es un indicador de vitalidad y ésta a su vez es un reflejo de integridad de las membranas y funcionamiento del metabolismo celular (Ortiz, 2000). Según Yanagimachi, (1994) la motilidad del esperma no es esencial para la fusión espermatozoide-ovocito, pero es definitivamente necesaria para la penetración del esperma con éxito a través de la zona pelúcida. La evaluación de la motilidad espermática se divide en motilidad masal y motilidad individual progresiva. La motilidad masal se determina por la observación microscópica de los movimientos en ondas de los espermatozoides de un eyaculado antes de su dilución, utilizando una escala de 0 (sin movimiento) al 5 (vigoroso movimiento) (Paez, 2012). La motilidad individual se evalúa por medio de observaciones microscópicas de los espermatozoides en una dilución isoosmótica (OMS, 2013). Caycedo, (2000) menciona una motilidad individual de 90% en espermatozoides de cobayo.

Las evaluaciones microscópicas de motilidad son en su mayor parte subjetivas por lo que pueden estar sujetas a variaciones según el observador (Rubio & Quintero, 2000).

La vitalidad o viabilidad espermática indica la proporción de espermatozoides totales vivos de acuerdo al criterio de inclusión del colorante. Para ésta técnica se utiliza eosina sola o combinada con nigrosina y se cuentan cien espermatozoides con el microscopio, diferenciando los vivos (no coloreados) de los muertos (coloreados) (Lucio y *et al.*, 2009).

Uno de los principales componentes de la evaluación es el análisis morfológico, en donde se debe reconocer que los espermatozoides del *C. porcellus* presentan una forma ovalada y ensanchada en la parte superior. Pero cualquier otra forma o alteración en la cabeza, pieza intermedia o cola debe ser considerado como anomalía **Figura 7**. Un aspecto peculiar que se observa en los espermatozoides de *C. porcellus* es que suelen agruparse en paquetes de 5 a 7, acoplados cabeza con cabeza (Caycedo, 2000). El porcentaje de normales es de 95% (Freund, 1969). La evaluación de la morfología se ejecuta con la utilización de las tinciones como la eosina-nigrosina o la tinta china (Paez, 2012).

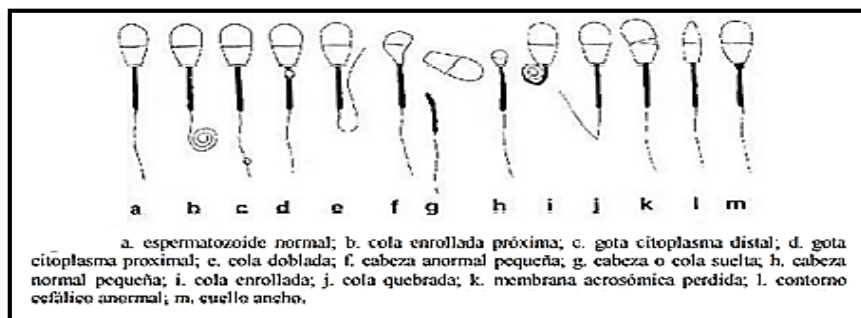


Figura 7. Anormalidades de los Espermatozoides

Fuente (Paez, 2012)

Evaluar integridad y funcionalidad espermática hace énfasis a la valoración de la membrana plasmática y acrosomal, ya que participan en el transporte de moléculas y adaptación del metabolismo al medio circundante. Para calificar la permeabilidad de las membranas se aplican pruebas como; el test de resistencia osmótica (ORT),



el test de resistencia hiperosmótica (HRT) o el test de endósmosis o hiposmótico (HOST) (Rubio & Quintero, 2000).

Según la OMS, (2013) HOS es un test simple y brinda información sobre la integridad y función de la membrana de la cola de los espermatozoides. Está basado en el principio de la semipermeabilidad de la membrana plasmática, en donde el influjo de agua o “hinchazón” se produce al exponer a las células espermáticas a un medio hipoosmótico.

Los parámetros tradicionales no son lo suficientemente sensibles para evaluar la capacidad de los espermatozoides para realizar con eficacia la reproducción en el tracto reproductivo femenino. Sin embargo, cuando son combinados con la evaluación de la fertilidad espermática utilizando óvulos homólogos se ha mejorado la evaluación. Pero esta sigue siendo incompleta ya que, la evaluación integral del semen también involucra su capacidad para llegar al sitio de la fertilización (traslado o transporte), su capacitación y la reacción del acrosoma, la penetración a la zona pelúcida, la fusión con el ooplasma y descondensación de la cromatina (Durrant, 1984).

2.9. Criopreservación de semen tomado de epidídimo

Criopreservar semen es una técnica compleja que tiene éxito en un número limitado de especies. La bioquímica del semen y la fisiología de los espermatozoides varía entre especies y por ello los protocolos deben ser diseñados de acuerdo a la especie (Durrant, 1984).

Cuando se desea congelar y descongelar espermatozoides hay que considerar las diferencias que existen entre gametos del eyaculado y los que son extraídos del epidídimo, ya que las diferencias morfológicas y funcionales pueden influir en la estabilidad de la membrana cuando se enfrenta al choque térmico y a la presión osmótica (Franco, 2007).

(Hewitt et al., 2001) mencionan que las técnicas aplicadas para criopreservar espermatozoides eyaculados no son muy beneficiosas para ser usadas con los



espermatozoides extraídos del epidídimo (baja tensión de oxígeno, pH bajo y altas concentraciones de células) a menos que se añadiera en la solución de congelamiento componentes similares a los que se encuentran dentro del epidídimo.

La crioconservación produce una serie de alteraciones espermáticas, las más obvias con la pérdida de la movilidad espermática (Ortiz, 2000); pero también causa cambios en la morfología de los espermatozoides, incluyendo daños en el acrosoma, las mitocondrias y la cola. Por lo tanto, la proporción de espermatozoides completamente funcionales, capaz de retener membranas intactas, la cola y la actividad mitocondrial después de congelación-descongelación es baja (H. Gonzalez & Cornejo, 2009). De esta manera se reduce el número de células viables y también se observa el fenómeno de la capacitación espermática prematura (Sandoval, 2005) acortando su vida media. La criopreservación, al modificar la membrana del espermatozoide, la hace más reactiva a su entorno después de la descongelación, de tal manera que los espermatozoides criopreservados presentan un estado parcialmente capacitado (Watson, 1995).

La capacitación de espermatozoides de mamíferos está asociada con la reorganización de la membrana plasmática de la cabeza del espermatozoide propia de la redistribución de los fosfolípidos y la remoción del colesterol. La criocapacitación, además, puede inducir cambios subletales en la modificación de la membrana espermática, lo que los hace más sensibles al entorno después de la congelación (Connell *et al.*, 2002).

2.9.1. Diluyentes

Un diluyente es una sustancia hidrosoluble y de baja toxicidad, cuya función es la protección de la integridad y función de la membrana del espermatozoide (Camacho, 2011). Está compuesto por nutrientes, un amortiguador, agentes antimicrobianos y en ocasiones glicerol, éste último tiene la función de anticongelante evitando así la formación de cristales de hielo y a su vez la muerte celular (Caycedo, 2000).



Los azúcares como la glucosa, fructuosa, manosa, arabinosa y rafinosa ofrecen el aporte energético a los espermatozoides y algunos actúan como crioprotectores pues mantienen o incrementan la presión osmótica de manera extracelular en los espermatozoides (Aguilar *et al.*, 2013).

El buffer más conocido y que proporciona una buena amortiguación con amplio rango de estabilización de pH es el tris, éste combinado con yema de huevo y glicerol sirve para el almacenamiento de semen a temperatura ambiente, refrigerado y congelado. Otro buffer es el citrato que por sus propiedades quelantes mejora la solubilidad de la yema de huevo (Camacho, 2011).

Entre los compuestos biológicos utilizados para la formulación de diluyentes se encuentran la yema de huevo y la leche descremada. La yema de huevo está compuesta de fosfolípidos y lipoproteínas de baja densidad que se agregan al diluyente para proporcionar protección al semen contra las toxinas y las descargas de frío ya que estabiliza la membrana plasmática (Shannon & Vishwanath, 1995). (Ortiz, 2000) también menciona que la yema de huevo ayuda a mantener la motilidad espermática hasta temperaturas cercanas a los 8°C. Por otro lado la leche descremada proporciona protección térmica, pero contiene lactenina un sustancia nitrogenada y tóxica para los espermatozoides que se inactiva con el calor (Vishwanath & Shannon, 2000).

El semen es un medio ideal para la proliferación de *Escherichia coli*, *Streptococcus spp*, *Staphylococcus spp*, *Corynebacterium spp*, etc; es así que la adición de agentes antimicrobianos es necesario para reducir su proliferación. Los más utilizados son la penicilina G 1000-1500 UI/ml, estreptomina 1000-1500 UI/ml, polimixina B 200-1000 UI/ml, etc (Trujillo & Rivera, 2002).

Uno de los principales factores que afectan a la crioconservación es el medio crioprotector (Ponce *et al.*, 1998). Los crioprotectores están encargados de proteger las estructuras celulares frente a las bajas temperaturas y se clasifican según su capacidad para penetrar la membrana en *penetrantes* (glicerol, DMSO, etilenglicol) y *no penetrantes* (determinados azúcares, yema de huevo) (Andrade, 2005).



Los *penetrantes* se introducen en la célula de manera uniforme ocasionando la deshidratación celular por sustitución de H₂O, evitando de esa manera el incremento de la concentración de solutos. Por otro lado los *no penetrantes* recubren la membrana plasmática y la protegen de los efectos nocivos de las congelaciones rápidas (Ortiz, 2000).

El glicerol es el crioprotector más utilizado pues tiene la capacidad de atrapar el agua (Aguilar *et al.*, 2013). La concentración de glicerol en el semen varía según la especie de 6-12% y debe ser incorporado en forma gradual para proteger el semen (Caycedo, 2000).

A pesar de que el glicerol es muy utilizado en un gran número de animales (Sztein, 2013) menciona que la propiedad permear las membranas celulares del glicerol, produce un efecto perjudicial en el espermatozoide del ratón alterando la estructura biológica de la membrana celular.

La rafinosa es uno de los azúcares trisacáridos con función crioprotectora no permeable, ésta molécula debido a su tamaño no puede traspasar la membrana celular; pero crea una presión osmótica externa que protege de la deshidratación al espermatozoide (Sztein, 2013). (Critser & Mobraaten, 2000) mencionan que un estudio realizado investigadores japoneses en 1990 utilizaron rafinosa con la leche desnatada como crioprotector.

La colocación de agentes crioprotectores en la dilución para proteger las membranas celulares de los golpes de frío es fundamental; pero esta inclusión debe ser en concentraciones suficientemente bajas para prevenir el shock tóxico (Neville *et al.*, 1971).

2.9.2. Refrigeración

Consiste en la conservación del material seminal a temperaturas de 15 o de 4°C. Utiliza diluyentes como el tris-glicina y el citrato-yema de huevo en proporción de una parte de semen con una parte de diluyente. Una vez diluido el semen, la temperatura es descendida, mayoritariamente a 4°C para su refrigeración. Según (Caycedo, 2000) la vitalidad del esperma diluido en tris-glicina y citrato-yema de



huevo es de 7-8 días; mientras que (Vivanco *et al.*, 1994) afirman que con tris glicerinado se pueden mantener viables a los espermatozoides por 15 días a 4°C.

Según Muiño, (2005) la velocidad de enfriamiento es un factor importante en el proceso de conservación de esperma ya que si es muy lenta o muy rápida puede causar daños irreversibles a los espermatozoides. Una velocidad de enfriamiento óptima debe ser lo suficientemente lento para evitar la formación de hielo intracelular, y lo suficientemente rápido para evitar la deshidratación celular grave y crio-lesión. Para (Varisli *et al.*, 2013) la velocidad de enfriamiento óptimo es diferente entre las especies, entre 76 y 140 °C/min en el toro, 30 °C/min en jabalíes y 27 a 130 °C/min en el ratón.

2.9.3. Congelación

Al disminuir la temperatura por debajo de los 20°C los espermatozoides comienzan a presentar cambios biofísicos, especialmente en la membrana plasmática; pero a los 0 °C y -60 °C el espermatozoide sufre efectos de descompensación iónica y de líquidos que causan un choque térmico (Palacios, 1994). Según (Medina *et al.*, 2005) la congelación es un proceso similar a una deshidratación, en donde se produce una disminución de la presión intracelular y un incremento de la concentración de soluto.

De igual manera que la refrigeración en la congelación es necesario diluir el semen con tris-glicina (Triladyl) o citrato-yema, existiendo con tris-glicina una mortalidad de 3%. Después el material genético debe introducirse en pajillas, colocarlo en refrigeración por 5 horas y luego sumergirlas en nitrógeno líquido. Para descongelar el semen se utiliza agua a 38-40°C durante 30 segundos (Caycedo, 2000).

2.9.4. Evaluación del Semen Criopreservado

Después de la congelación, es fundamental realizar determinaciones en la morfología y fisiología espermática para la evaluación de daños entre los diversos protocolos de crioconservación (Durrant, 1984).



CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODO

3.1. Materiales

3.1.1. Materiales Biológicos

Veinte cuyes machos para la extracción de veinte epidídimos.

3.1.2. Materiales Físicos

Equipo de disección, bisturí, vicryl, gasas, jeringas y agujas de insulina, máquina rasuradora, guantes, cubre bocas, mandil, vaso de precipitación, placas Petri de cuatro pocillos, platina térmica, porta y cubreobjetos, microscopio, pipetas pasteur de 10, 20, 50 y 200 μ l, puntas de pipeta, tubos centrífuga, tubos Eppendorf, gradilla para tubos, cámara de Neubauer, centrífuga, estufa, refrigeradora, pajuelas.

3.1.3. Materiales Químicos

Zoletil, Yodo, Cloruro de Sodio 0,9%, agua bidestilada, Rafinosa, Triladyl, tinción eosina-nigrosina, solución hipoosmótica, alcohol polivinílico.

3.2. Método

3.2.1. Área de Estudio

Ésta investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología de la Hacienda Experimental “Irquis” de la Universidad de Cuenca situada en la parroquia Victoria del Portete, cantón Cuenca, provincia del Azuay, en el km 23 vía a Girón.

La Granja IRQUIS se encuentra a 2663 msnm; tiene un clima templado frío con una temperatura promedio de 8°C (Universidad de Cuenca, 2015). Con una pluviosidad de 800mm a 2.000mm y humedad relativa del 80%.

3.2.2. Unidad de Análisis

Se utilizaron 20 epidídimos colectados por hemicastración de 10 cuyes Criollos y 10 cuyes Mejorados de dos edades reproductivas: 5 Criollos y 5 Mejorados de 4-6 meses (Jóvenes); 5 Criollos y 5 Mejorados de 12-15 meses (Adultos). Para obtener la unidad de análisis se incidió la cola del epidídimo y se obtuvo los



espermatozoides por “Swim out”, posteriormente se analizó la cantidad y la calidad espermática, ésta última en distintos momentos de refrigeración y crio preservados. Previo al monitoreo de los animales se buscó estandarizar sus condiciones como el manejo, distribuyéndolos en grupos de 5 animales por poza de acuerdo a Fenotipo y Edad de la siguiente manera: CJ – CA – MJ – MA. En la alimentación se estableció una dieta general basada en forraje y concentrado el cual era suministrado de forma ad libitum. El manejo sanitario que se implementó fue limpieza de las pozas y galpón cada 8 días, se realizó un control de endo y ectoparásitos al ingreso de los animales y se los observó por un lapso de 22 días hasta su acoplamiento y de esa manera poder descartar cualquier tipo de enfermedad que pudo evolucionar en el transcurso del tiempo de adaptación.

3.2.3. Metodología

a. Selección de los animales

Se buscaron cuyes del Fenotipo Criollo en zonas rurales de los cantones Sigüig, Gualaceo y Azogues, específicamente cuyes rústicos, que de acuerdo al criterio de Mantilla (2012) debían ser de poca precocidad y sin mayor exigencia en la calidad de alimento; mientras que los cuyes Mejorados se obtuvieron de núcleos de producción intensivos de la parroquia Tarqui y del cantón Cuenca, estos se caracterizaron por ser más precoces y su alimentación era basada en dietas forrajeras y concentrado. Para la selección fenotípica se utilizó una tabla de selección (**Anexo 1**).

La edad de los cuyes Criollos se estimó conforme fechas de apareamientos y nacimientos aproximados, en cambio en los cuyes Mejorados al ser sistemas de producción familiares comerciales la edad se estimó desde el registro de la fecha aproximada del destete.

b. Colección de Espermatozoides Para la obtención de espermatozoides de epidídimo, se realizó las intervenciones quirúrgicas en grupos de 4 animales (CJ, CA, MJ, MA), con una diferencia de 48 horas entre cada grupo.

El protocolo quirúrgico fue el siguiente:



- **Anestesia:** se anestesió por vía parenteral (IM) a cada animal utilizando 9mg/kg de Zoletil® IM, solución que está compuesta de Tiletamina 25mg y Zolazepam 25mg, una sinergia entre un anestésico disociativo con eficiente analgesia y una benzodiazepina que confiere relajación muscular.
- **Preparación Quirúrgica:** se rasuró la zona inguinal, desinfectó la zona de incisión y se embrocó con yodo y alcohol.
- **Cirugía:** se fijó el testículo con la mano izquierda del cirujano y con la mano derecha se realizó una incisión cráneo-caudal de 1,5 cm con bisturí en la zona inguinal lateral al pene. Para exteriorizar el testículo, con la ayuda de pinzas Kelly se diseccionó piel y se liberó al testículo de la túnica albugínea. Se hizo hemostasia en el paquete vasculo-nervioso testicular y se ligó con vicryl 2.0 para evitar hemorragia. Finalmente se suturó la piel con vicryl (Fossum, 2009).
- **Extracción de Espermatozoides del Epidídimo:** el testículo se colocó en un vaso de precipitación contenido de solución fisiológica a 37°C. Sobre una placa térmica a 37°C y con ayuda de tijeras y pinzas de disección se aisló el epidídimo del testículo y del tejido conectivo. Una vez separado el epidídimo se seccionó la cola del mismo y se colocó en una caja Petri de cuatro pocillos. A la cola de epidídimo se le hizo cortes y se le añadió 1ml de diluyente que contenía 18% de rafinosa y 3% de leche descremada (Sztein, 2013). Posteriormente se lo llevó a la incubadora de CO₂ (5%), a 38,5 °C y 90% de humedad durante 30 minutos, para recuperar los espermatozoides del epidídimo por un proceso denominado “swim out” (Boersma *et al.*, 2015).

c. Evaluación y procesamiento de Espermatozoides

Se tomó 10µl del contenido de cada pozo de la caja Petri para evaluar motilidad individual progresiva de cada epidídimo. Luego se extrajo otros 10µl para hacer una dilución 1:20 y calcular la concentración de espermatozoides/ml. Posteriormente se extrajo el contenido sobrante de cada pozo Petri y se colocó en tubos rotulados, los mismos que se centrifugaron a baja velocidad (600 gravedades durante 10 minutos), proceso que permitió separar a los espermatozoides del diluyente con rafinosa. Se extrajo y descartó el sobrenadante, mientras que las gametas que quedaron al fondo del tubo se le diluyó en Triladyl®, compuesto a base de Tris-yema



de huevo y glicerol, útil para criopreservación. La dilución en Triladyl® fue en base a la concentración obtenido previamente (Camacho, 2011).

Las variables de calidad espermática se evaluaron de la siguiente manera:

- **Concentración Espermática (CE) (Ez/ml):** se determinó usando el hemocitómetro (cámara de Neubauer) luego de la dilución 1:20 de los espermatozoides en agua corriente. El cuadro central de hemocitómetro contiene 25 cuadrados grandes, cada uno de los cuales tiene 25 cuadros más pequeños. Es así que la concentración se midió contando los espermatozoides que están dentro 25 cuadrados y el resultado fue dado en millones/ml (Ortiz, 2000).
- **Motilidad Individual Progresiva (MIP):** se colocó una alícuota espermática en un porta objetos previamente calentado, se recubrió con un porta objetos y se valoró en forma subjetiva en % con la ayuda del microscopio (10X) (OMS, 2013).
- **Vitalidad Espermática (VE):** se evaluó mediante frotis teñido con eosina-nigrosina (Barrios, 2002). El frotis fue preparado con 10 µl de tinción y la misma cantidad de esperma. Se cuentan 100 espermatozoides con el microscopio óptico 10X, diferenciando los espermatozoides vivos (no coloreados) de los muertos (coloreados) (OMS, 2013).
- **Anormalidades Totales (AT) y Anormalidad de Colas (AC):** mediante la utilización de la tinción eosina-nigrosina se calculó el Porcentaje de Espermatozoides Anormales. De la misma forma que la vitalidad se contó 100 espermatozoides de los cuales, aquellos que tenían cola enrollada, gota citoplasmática, cola doblada, cabeza pequeña, cola o cabeza suelta, cuello ancho se los contabilizó como anormales (Paez, 2012).
- **Permeabilidad o Integridad de la Membrana Plasmática (HOST-Test):** la membrana fue evaluada según la técnica mencionada por (Rubio & Quintero, 2000). Utilizando una solución hipoosmótica se contabilizaron 100 células espermáticas en varios campos de la placa, siendo considerados los espermatozoides que conservan la integridad funcional aquellos que presentaron edema o enrollamiento en la cola (Ribeiro et al., 2014).



d. Equilibramiento de espermatozoides

Los espermatozoides diluidos se sometieron a un equilibramiento que consistió en descender la temperatura 0,2 °C/minuto hasta llegar a 5°C (refrigeración). Posteriormente, se sometieron las muestras espermáticas diluidas a varios tiempos de equilibrio: 0, 2, 24, 48, 96, 192 y 360 horas para evaluar el comportamiento en el factor tiempo; al final de cada equilibramiento se reestableció la temperatura a 37°C para su análisis de calidad anteriormente descritas (Armas *et al.*, 2011).

e. Criopreservación de Espermatozoides

Las muestras espermáticas se ajustaron a dosis de 10×10^6 esp/ pajuela de 0,25 ml y se selló con alcohol polivinílico, y se crioconservó únicamente las muestras con 2 hs de equilibramiento en vapores de nitrógeno a una altura de 4cm por un tiempo de 10 minutos, después de eso se sumergió en el nitrógeno, y se alcanzó una temperatura de -196°C.

f. Evaluación de Espermatozoides Refrigerados

Las evaluaciones fueron a las 2H, 24H, 48H, 96H, 192H y 360H, en donde se observó motilidad individual progresiva, vitalidad, anormalidades, y permeabilidad de la membrana.

g. Evaluación de Espermatozoides Congelados

Las pajuelas fueron descongelados en baño maría a 37°C durante 60 segundos (velocidad de descongelación 226°C/minuto) (Ortiz, 2000). Se evaluó calidad espermática: MIP, VE y HOS-Test.

3.2.4. Especificación de las variables

- *Independientes*: Fenotipo (Criollo y Mejorado), Edad (Joven y Adulto).
- *Dependientes*: Concentración Espermática (Espermatozoides/ml), Motilidad Individual Progresiva - % (MIP), Vitalidad Espermática - % (VE), Anormalidades Totales - % (AT), Anormalidades de Cola – % (AC), Permeabilidad de la Membrana - % (Hos-Test).



3.2.5. Diseño Experimental y Pruebas Estadísticas

Se manejó un modelo univariante bifactorial de 2x2 en un Diseño Completamente al Azar, considerando los factores Edad y Fenotipo, en donde la unidad experimental corresponde a los cuyes. Se evaluó el modelo completo considerando las interacciones existentes entre los factores. La aleatorización de las unidades experimentales a los tratamientos factoriales se justificaron en función del manejo homogéneo y controlado de los demás factores que indujeron a un controlado error experimental en la investigación.

Tabla 2. Tratamientos Factoriales

EDAD/TIPO GENÉTICO	CRIOLLOS	MEJORADOS
JÓVENES (4-6 meses)	CJ	MJ
ADULTOS (12-15)	CA	MA

- Número de tratamientos: 4
- Número de repeticiones: 5
- Número de animales por unidad experimental: 1
- Número total de cuyes por tratamiento factorial: 5
- Número total de cuyes en el experimento: 20

Se consideraron los valores promedios y el error estándar de cada variable espermática para cada nivel de factor y posteriormente para cada tratamiento factorial. Los valores obtenidos fueron sistematizados en Excel y analizados en el programa estadístico SPSS y se sometieron a la prueba de Shapiro–Wilk y Levene ($P < 0,05$) para analizar la normalidad de datos y la homogeneidad de las varianzas. Al cumplir la normalidad de datos se usó un ANOVA al 5% para cada fuente de variación. En caso de incumplimiento se realizó la prueba no paramétrica, U de Mann Whitney al 5%. Para el modelo factorial 2x2 se realizaron pruebas de significancia según el criterio de la prueba Bonferroni. Además, se complementó el análisis considerando cuatro tratamientos: CJ, CA, MJ, y MA; y se evaluó las variables de calidad espermática equilibrados a 5°C en 7 momentos diferentes (0, 2, 24, 48, 96, 192, 360 hs), para evaluar el comportamiento en factor tiempo y en cada uno se comprobó diferencias significativas ($P < 0,05$) mediante un ANOVA.

4. CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1. Evaluación de calidad espermática en espermatozoides recién recuperados (fresco).

Los valores obtenidos cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas para las variables CE, MIP, VE, AT, AC y HOS-Test (**Anexo 3**).

En el análisis de los datos por los factores en estudio (Edad y Fenotipo se observó la presencia de interacción ($P < 0,05$), entre ambos factores para las variables Concentración y AC (**Gráfico 1**). (**Anexo 4 y 8**).

Este análisis demostró que la concentración del cuy Mejorado Joven (MJ) es la mejor, pero ésta disminuye en los Mejorados Adultos, lo cual es a la inversa de lo que ocurre en los cuyes Criollos donde los mejores resultados de concentración se observan en el Criollo Adulto con respecto al Criollo Joven.

Al analizar las AC, también se obtuvo porcentajes más bajos con MJ con respecto a MA ($P < 0,05$), en cambio, no hubo diferencias entre los Criollos Jóvenes y Adultos. Por lo tanto, el mejor comportamiento en Concentración Espermática y AC se observó en los cuyes Mejorados Jóvenes (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Interacción entre factores (Edad * Fenotipo) y valores promedios por tratamientos en espermatozoides recién recuperados (fresco).

Variables espermáticas de espermatozoides epididimarios	Edad	Fenotipo	
		C	M
		$\bar{X} \pm EE$	$\bar{X} \pm EE$
Concentración ($\times 10^6$ esp/ml)	J	24,4 \pm 8,1 ^b	78,9 \pm 14,2 ^a
	A	63,7 \pm 16,1 ^{ab}	38,7 \pm 7,5 ^b
AC (%)	J	9,5 \pm 1,52 ^b	4,6 \pm 0,5 ^a
	A	11,5 \pm 2,4 ^b	16,4 \pm 1,5 ^c

J= Jóvenes A= Adultos C= Criollo M= Mejorado
 Letras diferentes para cada fila y columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$), según Bonferroni

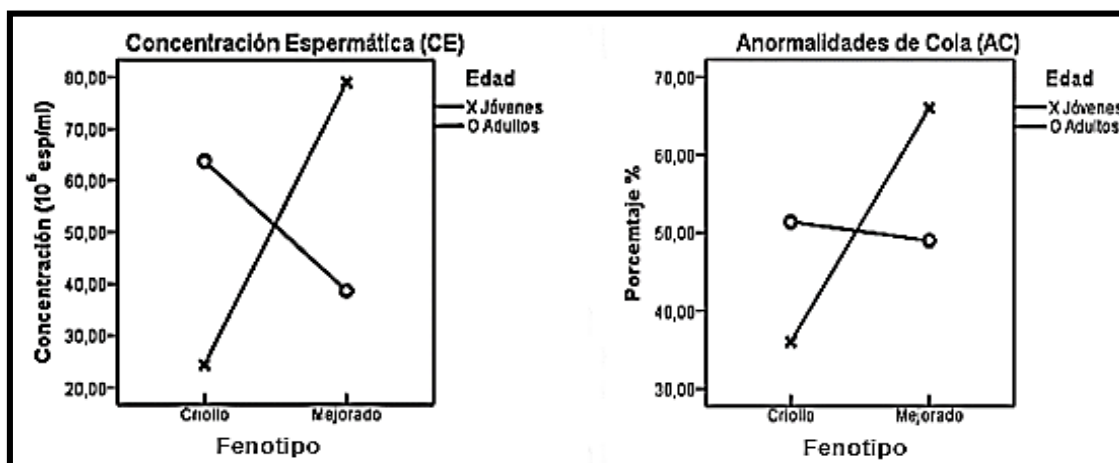


Gráfico 1. Interacción entre factores (Fenotipo * Edad) en Concentración Espermática y AC recién recolectados (Fresco)

Posteriormente, se analizaron los demás factores que no presentaron interacción por separado (MIP, VE, AT y HOS-Test).

En el factor Edad, se comprobaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$) solamente en Anomalías Totales (AT) las que fueron más bajas en animales Jóvenes que en Adultos en ambos Fenotipos. En el factor Fenotipo no existieron diferencias ($P > 0,05$) en ninguna de las variables entre animales Criollos y Mejorados (**Cuadro 2**).

Cuadro 2. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) al momento de su recuperación (fresco), por factor.

Variables de calidad en espermatozoides epididimarios	Factores			
	Edad		Fenotipo	
		$\bar{X} \pm EE$		$\bar{X} \pm EE$
MIP (%)	J	51,0±6,57	C	43,7±7,30
	A	50,2±5,88	M	57,5±3,75
VE (%)	J	46,4±4,63	C	48,7±4,78
	A	43,9±3,23	M	41,5±2,57
AT (%)	J	29,5±1,81 ^a	C	35,5±1,89
	A	37,3±1,56 ^b	M	31,3±2,14
HOS (%)	J	17,6±2,59	C	16,7±2,03
	A	17,1±2,34	M	18,0±2,82

J= Jóvenes A= Adultos C=Criollo M=Mejorado
 Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)



4.2. Evaluación de calidad espermática a 2 horas post-refrigeración

Los valores promedios obtenidos cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas para las variables MIP, VE, AT, AT y HOS-Test (**Anexo 9**).

En el análisis de los datos por los factores en estudio (Edad y Fenotipo) no existió interacción ($P > 0,05$), entre ambos factores para ninguna variable. Por lo tanto, se analizó cada factor por separado en todas las variables.

En el factor Edad no hubo diferencias estadísticas ($P > 0,05$) para ninguna variable; en el factor Fenotipo sólo se comprobó diferencias estadísticas ($P < 0,05$) para HOS-Test con valores porcentuales más altos para cuyes Mejorados (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) por factor a 2 hs de post-refrigeración.

Variables de calidad en espermatozoides epididimarios	Factores			
	Edad		Fenotipo	
		$\bar{X} \pm EE$ (%)		$\bar{X} \pm EE$ (%)
MIP	J	38,5±5,6	C	32,2±6,5
	A	39,7±6,1	M	46,0±4,1
VE	J	36,6±2,9	C	38,9±3,9
	A	38,2±2,9	M	35,9±1,6
AT	J	32,8±1,7	C	36,9±2,1
	A	38,0±1,9	M	33,9±1,9
AC	J	10,1±1,5	C	9,4±2,14
	A	11,9±2,5	M	12,6±1,8
HOS	J	14,5±2,9	C	9,9±1,3^a
	A	11,9±1,0	M	16,5±2,4^b

J= Jóvenes A= Adultos C=Criollo M=Mejorado
Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

4.3. Evaluación de calidad espermática a 24 horas post-refrigeración

Los valores promedios obtenidos cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas para las variables MIP, AT, AT y HOS-Test, excepto de la variable VE (**Anexo 15**).

Se observó la presencia de interacción ($P < 0,05$), entre ambos factores únicamente para la variable MIP (**Gráfico 2**), observándose que en los Criollos jóvenes fue

superior que en los adultos ocurriendo la inversa en los mejorados donde fueron los adultos lo que mostraron una mayor MIP (**Cuadro 4**).

Cuadro 4. Interacción entre factores (Edad * Fenotipo) y valores promedios de la MIP a 24 hs de post-refrigeración

Variables espermáticas de espermatozoides epididimarios	Fenotipo		
	Edad	C	M
		$\bar{X} \pm EE$	$\bar{X} \pm EE$
MIP (%)	J	20,6±10,2 ^a	10,0±2,7 ^b
	A	7,8±2,2 ^b	29,0±5,1 ^a

J= Jóvenes A= Adultos C= Criollo M= Mejorado
 Letras diferentes para cada fila y columna indican diferencias significativas (P<0,05), según Bonferroni

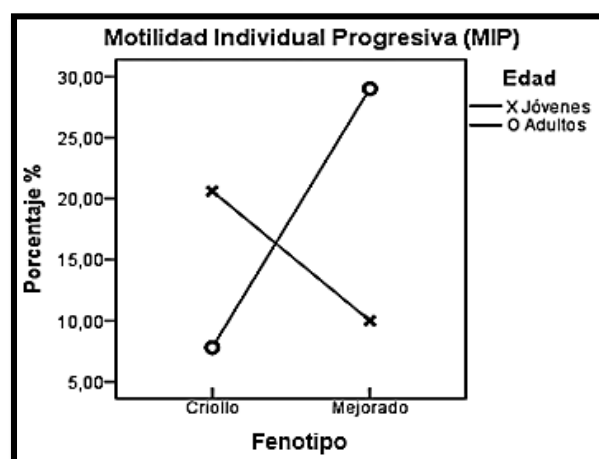


Gráfico 2. Interacción entre factores (Fenotipo * Edad) en MIP a 24 hs post-refrigeración

Posteriormente, se analizaron por separado los demás factores que no presentaron interacción (VE, AT, AC y HOS-Test).

Para los factores Edad y Fenotipo, se realizó un ADEVA para las variables AT, AC y HOS-Test (**Anexos 18, 19 y 20**) y el estadístico "U de Mann Whitney" (**Anexo 17**) para la VE (por no cumplir los supuestos de normalidad de datos y homogeneidad de las varianzas). Además no se encontró diferencias estadísticas significativas (P>0,05) para ningún factor ni variable analizada (**Anexo 21**).

4.4. Evaluación de calidad espermática a 48 horas post-refrigeración

Los valores promedios obtenidos cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas para las variables MIP, VE, AT, AT y HOS-Test (Anexo 22).

Se observó la presencia de interacción ($P < 0,05$), entre ambos factores únicamente para VE (Gráfico 3), observándose que en los Criollos Jóvenes muestran mayor porcentaje de espermatozoides vivos que los Criollos Adultos ($P < 0,05$), pero no difiere del Mejorado en ambas edades. Además se comprobó que el Criollo Adulto presenta un porcentaje muy inferior que difiere del Criollo Joven y del Mejorado en ambas edades ($P < 0,05$) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Interacción entre factores (Edad * Fenotipo) y valores promedios de VE por tratamientos a 48 hs post- refrigeración

Variables espermáticas de espermatozoides epididimarios	Edad	Fenotipo	
		C	M
		$\bar{X} \pm EE$ (%)	$\bar{X} \pm EE$ (%)
VE	J	23,3 \pm 6,9 ^a	15,0 \pm 3,8 ^a
	A	6,1 \pm 1,0 ^b	19,7 \pm 1,1 ^a

J= Jóvenes A= Adultos C= Criollo M= Mejorado
 Letras diferentes para cada fila y números para cada columna indican diferencias significativas ($P < 0,05$), según Bonferroni

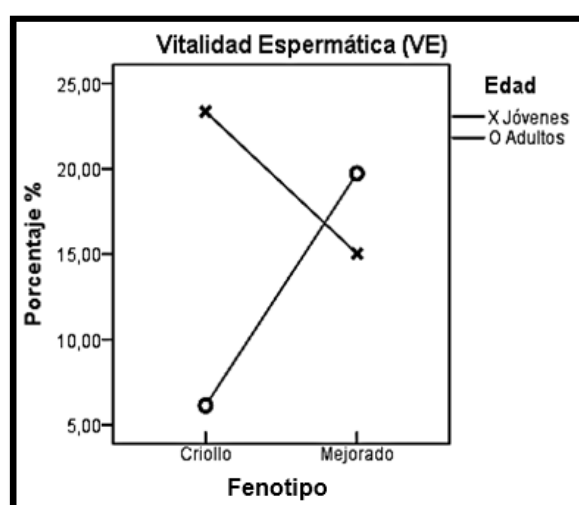


Gráfico 3. Interacción entre factores (Fenotipo * Edad) en VE a 48 hs post-refrigeración

Posteriormente, se analizaron los demás factores que no presentaron interacción por separado (MIP, AT, AC y HOS-Test)

En el factor Edad, se comprobaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$) solamente en HOS-Test con porcentajes más altos en cuyes jóvenes en ambos fenotipos.

En el factor Fenotipo, se comprobaron diferencias estadísticas ($P < 0,05$) solamente en AC con porcentajes más bajos en cuyes criollos en ambas edades (**Cuadro 6**).

Cuadro 6. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) por factor, a las 48 hs de refrigeración

Variables de calidad en espermatozoides epididimarios	Factores			
	Edad		Fenotipo	
		$\bar{X} \pm EE$		$\bar{X} \pm EE$
MIP (%)	J	9,1 \pm 3,32	C	7,3 \pm 3,27
	A	12,8 \pm 4,27	M	14,6 \pm 4,05
AT (%)	J	40,8 \pm 1,26	C	42,1 \pm 1,49
	A	42,3 \pm 1,32	M	41,0 \pm 1,07
AC (%)	J	11,6 \pm 1,92	C	6,5\pm1,29^a
	A	11,9 \pm 2,34	M	17,0\pm1,15^b
HOS Test (%)	J	16,1\pm1,62^a	C	13,9 \pm 1,65
	A	11,3\pm1,35^b	M	13,5 \pm 1,74

J= Jóvenes A= Adultos C=Criollo M=Mejorado
 Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

4.5. Evaluación de calidad espermática a las 96 horas post-refrigeración

Los valores promedios obtenidos cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas para las variables MIP, VE, AT, AT y HOS-Test (**Anexo 28**).

En el análisis de los datos por los factores en estudio (Edad y Fenotipo) no existió interacción ($P > 0,05$), entre ambos factores para ninguna variable. Por lo tanto, se analizó cada factor por separado en todas las variables.

En el factor Edad no hubo diferencias estadísticas ($P > 0,05$) para ninguna variable; en el factor Fenotipo sólo se comprobó diferencias estadísticas ($P < 0,05$) únicamente para HOS-Test con valores porcentuales más altos para cuyes Criollos en ambas edades (**Cuadro 7**).

Cuadro 7. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) por factor a 96 hs post-refrigeración

Variables de calidad en espermatozoides epididimarios	Factores				
		Edad		Fenotipo	
			$\bar{X} \pm EE$		$\bar{X} \pm EE$
MIP (%)	J	6,2±3,33	C	5,7±3,35	
	A	2,8±0,90	M	3,3±0,99	
VE (%)	J	13,3±3,57	C	3,3±0,99	
	A	8,1±1,08	M	17,4±2,04	
AT (%)	J	43,4±1,59	C	44,5±1,88	
	A	43,7±1,41	M	42,5±0,89	
AC (%)	J	11,1±1,65	C	11,8±1,76	
	A	14,2±0,86	M	13,5±0,88	
HOS (%)	J	12,5±2,46	C	25,4±2,88^a	
	A	17,1±3,26	M	8,8±2,28^b	

J= Jóvenes A= Adultos C=Criollo M=Mejorado
 Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

4.6. Evaluación de calidad espermática a 192 horas post-refrigeración

Los valores promedios obtenidos cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas para las variables MIP, VE, AT, AT y HOS-Test (**Anexo 34**).

En el análisis de los datos por los factores en estudio (Edad y Fenotipo) no existió interacción ($P > 0,05$), entre ambos factores para ninguna variable. Por lo tanto, se analizó cada factor por separado en todas las variables.

En el factor Edad se comprobó diferencias estadísticas ($P < 0,05$) únicamente para la variable VE, con mejores porcentajes de espermatozoides vivos para cuye Jóvenes en ambos fenotipos; sin embargo, en el factor Fenotipo no se encontró diferencias estadísticas ($P > 0,05$) en ninguna variable espermática (**Cuadro 8**).

Cuadro 8. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) por factor a 196 hs post- refrigeración

Variables de calidad en espermatozoides epididimarios	Factores				
		Edad		Fenotipo	
			$\bar{X} \pm EE$		$\bar{X} \pm EE$
MIP (%)	J	2,8±1,05	C	1,9±1,04	
	A	1,5±0,67	M	2,4±0,75	
VE (%)	J	8,1±1,44 ^a	C	6,5±1,36	
	A	4,1±0,42 ^b	M	5,7±1,11	
AT (%)	J	44,9±1,45	C	46,3±1,54	
	A	45,0±1,21	M	43,6±0,88	
AC (%)	J	13,6±1,05	C	13,4±1,15	
	A	13,9±0,87	M	14,1±0,72	
HOS (%)	J	7,9±1,77	C	11,8±2,48	
	A	12,1±2,42	M	8,3±1,77	

J= Jóvenes A= Adultos C=Criollo M=Mejorado
 Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

4.7. Evaluación de calidad espermática a las 360 horas post-refrigeración

Los valores promedios obtenidos cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de las varianzas para las variables MIP, VE, AT, AT y HOS-Test (Anexo 40).

En el análisis de los datos por los factores en estudio (Edad y Fenotipo) no existió interacción ($P > 0,05$), entre ambos factores para ninguna variable. Por lo tanto, se analizó cada factor por separado en todas las variables

En el factor Edad no se comprobó diferencias estadísticas ($P > 0,05$); sin embargo, en el factor Fenotipo se encontró diferencias estadísticas ($P < 0,05$) para MIP con porcentajes más altos para cuyes Mejorados en ambas edades (Cuadro 9).

Cuadro 9. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{X} \pm EE$) por factor a las 360 hs post-refrigeración

Variables de calidad en espermatozoides epididimarios	Factores				
		Edad		Fenotipo	
			$\bar{X} \pm EE$		$\bar{X} \pm EE$
MIP (%)	J	1,0 \pm 0,67	C	0,0 \pm 0,00 ^a	
	A	0,8 \pm 0,55	M	1,8 \pm 0,76 ^b	
VE (%)	J	3,3 \pm 0,70	C	2,2 \pm 0,51	
	A	2,4 \pm 0,45	M	3,4 \pm 0,63	
AT (%)	J	46,3 \pm 1,44	C	48,5 \pm 1,46	
	A	47,2 \pm 1,34	M	45,0 \pm 1,05	
AC (%)	J	12,1 \pm 1,13	C	10,8 \pm 1,84	
	A	11,0 \pm 1,66	M	12,2 \pm 1,51	
HOS (%)	J	9,1 \pm 1,63	C	9,7 \pm 1,70	
	A	9,5 \pm 1,83	M	8,9 \pm 1,75	

J= Jóvenes A= Adultos C=Criollo M=Mejorado
 Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

4.8. Análisis de las variables de calidad espermática en tiempo

4.8.1. MIP

Al incluir el factor tiempo desde las cero horas hasta las 360 horas de equilibrio a 5°C, se analizó por tratamientos, y se comprobó mediante un ANOVA (**Anexo 46**) que en ninguno de los tiempos de medición existió diferencias estadísticas ($p > 0,05$), comportándose los cuatro tratamientos con una MIP similar en los siete momentos medidos (**Gráfico 4**).

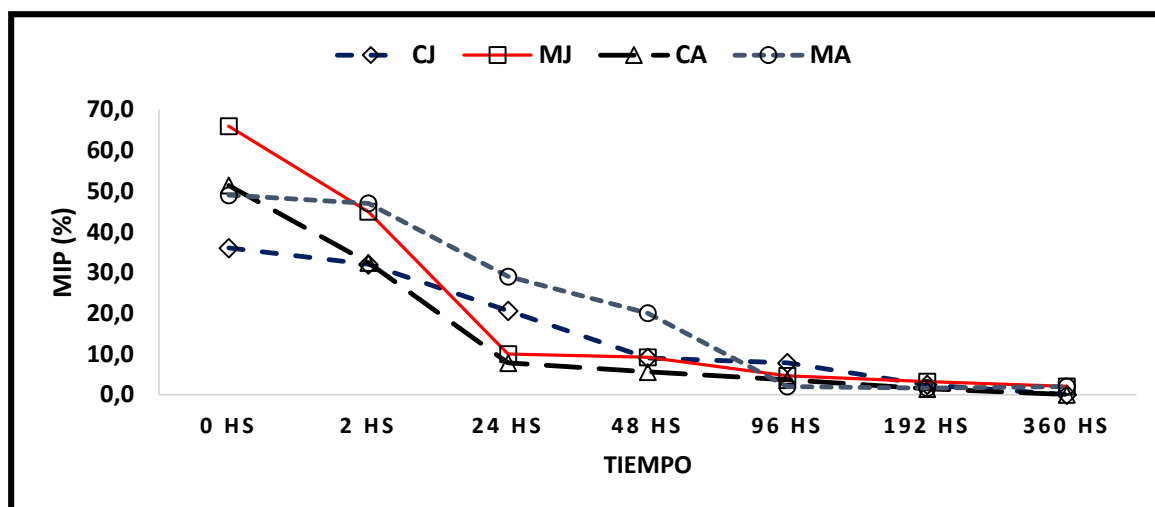


Gráfico 4. Curva de MIP en diferentes tiempos de medición en los cuatro tratamientos en estudio

4.8.2. VE

En la variable VE analizada por el factor tiempo en sus siete mediciones, se analizó por tratamientos, y se comprobó mediante un ANOVA (**Anexo 47**) que existe únicamente diferencias estadísticas ($P < 0,05$), a las 96 horas entre CJ y CA, con un $23,3 \pm 6,9$ vs. $6,1 \pm 1,0$ %, respectivamente (**Grafico 5**).

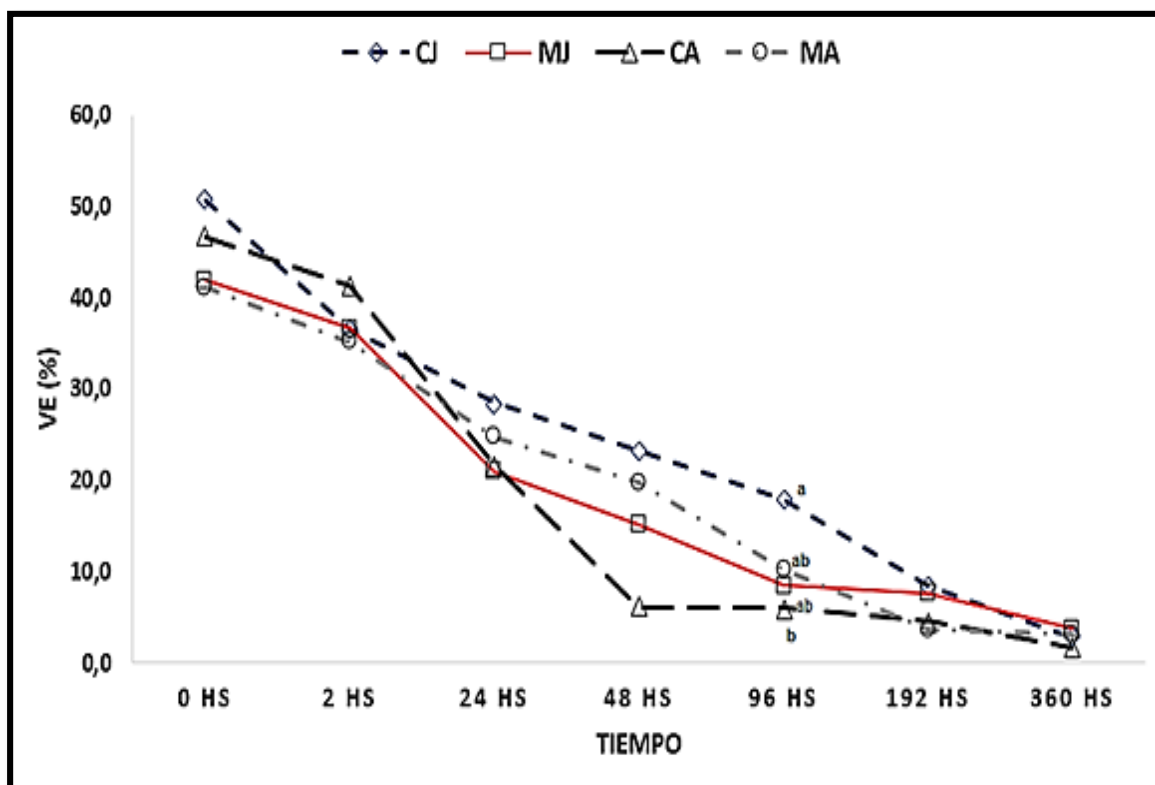


Gráfico 5. Curva de VE en diferentes tiempos de medición en los cuatro tratamientos en estudio

4.8.3. AT

En AT analizada por el factor tiempo en sus siete mediciones, se analizó por tratamientos, y se comprobó mediante un ANOVA (**Anexo 48**) que existe únicamente diferencias estadísticas ($P < 0,05$), a las 0 horas (semen fresco), entre MJ y CA (respectivamente, $26,3 \pm 2,8$ vs. $38,5 \pm 3,1$ %); y MJ y MA (respectivamente $26,3 \pm 2,8$ vs. $36,2 \pm 0,8$ %) (**Grafico 6**).

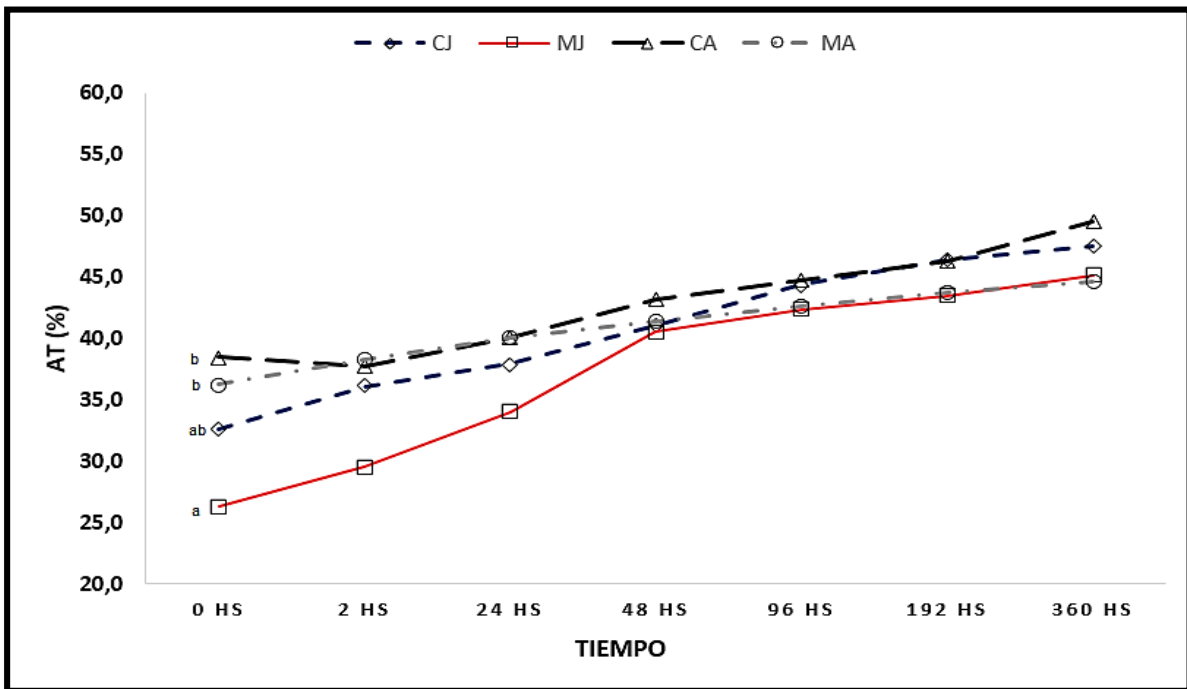


Grafico 6. Curva de AT en diferentes tiempos de medición en los cuatro tratamientos en estudio (Las letras demuestran significancia)

4.8.4. AC

En AC analizada por el factor tiempo en sus siete mediciones, se analizó por tratamientos, y se comprobó mediante un ANOVA (**Anexo 49**) que existe diferencias estadísticas ($P < 0,05$), a las 0 horas (semen fresco), entre MJ y MA (respectivamente, $4,6 \pm 0,5$ vs. $16,4 \pm 1,5$ %); MJ y CA (respectivamente $4,6 \pm 0,5$ vs. $11,5 \pm 2,4$ %); y CJ y MA (respectivamente $9,5 \pm 1,5$ vs. $16,4 \pm 1,5$ %). Además se encontró diferencias a las 48 horas entre CA y MJ (respectivamente $5,7 \pm 2,0$ vs. $16,0 \pm 2,0$ %); CJ y MJ (respectivamente $7,3 \pm 1,8$ vs. $16,0 \pm 2,0$ %); y CJ y MA (respectivamente $7,3 \pm 1,8$ vs. $18,1 \pm 1,1$ %) (**Gráfico 7**).

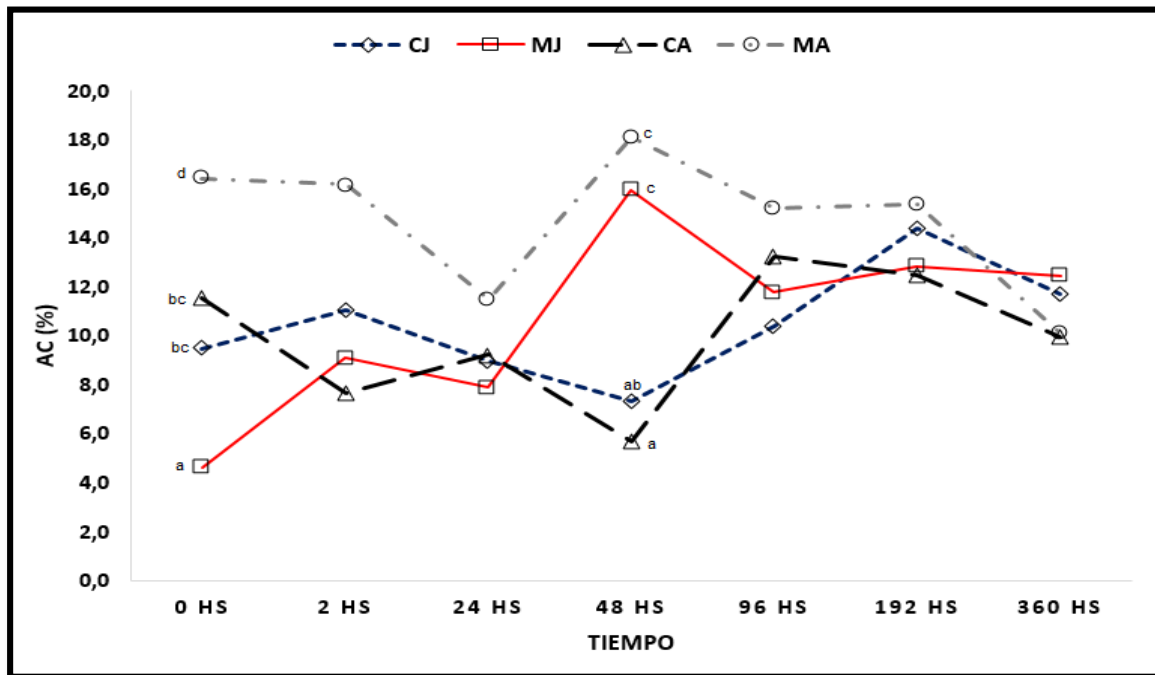


Grafico 7. Curva de AC en diferentes tiempos de medición en los cuatro tratamientos en estudio (letras demuestran significación en tratamiento y tiempo ($p < 0,05$))

4.8.5. HOS-Test

En HOS-Test analizada por el factor tiempo en sus siete mediciones, se analizó por tratamientos, y se comprobó mediante un ANOVA (**Anexo 50**) que existe diferencias estadísticas ($P < 0,05$), a las 2 horas (semen fresco), entre MJ y CJ (respectivamente, $20,0 \pm 4,2$ vs. $9,0 \pm 2,1$ %); y a las 96 horas entre CA y MJ (respectivamente $25,4 \pm 2,9$ vs. $9,7 \pm 3,7$ %); y entre CA y MA (respectivamente $25,4 \pm 2,9$ vs. $8,8 \pm 2,3$ %) (**Gráfico 8**).

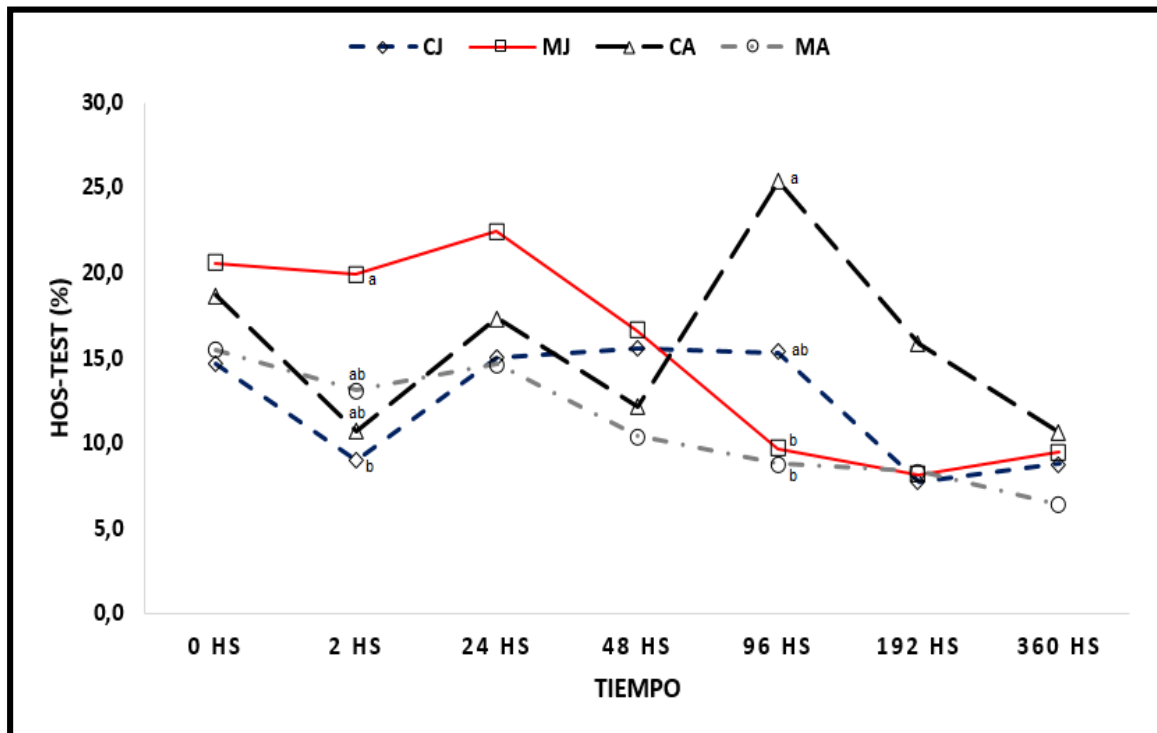


Grafico 8. Curva de HOS-Test en diferentes tiempos de medición en los cuatro tratamientos en estudio (letras diferentes en cada tratamiento y en cada tiempo muestran significación ($p < 0,05$), según el estadístico de Bonferroni)

4.9. Evaluación de calidad espermática post-descongelación

Al analizar la calidad espermática post-descongelación, en ninguna variable se obtuvo respuesta, es así que, en MIP, VE y HOS-Test, se obtuvieron valores porcentuales de 0%, y por esta razón no se analizó el valor de espermatozoides anormales, concluyendo que no fue posible obtener espermatozoides viables posteriores a la descongelación.



5. CAPITULO V: DISCUSIÓN

En el presente estudio se identificó los reproductores Criollos y Mejorados de dos edades reproductivas por medio de caracterización fenotípica, y posteriormente se evaluó la Concentración Espermática, Vitalidad Espermática, Anormalidades Totales, Anormalidades de Cola y Permeabilidad de la Membrana (Hos-Test) de espermatozoides epididimarios en fresco, refrigerado y congelado. El conjunto de resultados obtenidos, además de determinar si la producción cuantitativa y cualitativa de espermatozoides de cuy varía con el Fenotipo y con la Edad de los individuos brinda un estudio preliminar para la criopreservación de este material.

5.1. Interacción entre factores

Cuando se evaluó calidad y cantidad espermática a las 0 horas (espermatozoides recién recolectados), se encontró interacción ($P < 0,05$) entre Fenotipo y Edad para la variables CE y AC.

En CE el valor más alto lo presentó el MJ con $78,9 \pm 14,2 \times 10^6$ esp/ml, valor que disminuye con el aumento de la edad, pues el MA presentó $38,7 \pm 7,5 \times 10^6$ esp/ml, mientras que en cuyes criollos el comportamiento de la CE es inverso, ya que se observó en CA $63,7 \pm 16,1 \times 10^6$ esp/ml y en CJ apenas $24,4 \pm 8,1 \times 10^6$ esp/ml.

Estos resultados corroboran lo indicado por Chauca, (1997) quien dice que los cuyes mejorados son más precoces que los criollos, porque han pasado procesos de selección y mejoramiento genético. Caso que no ocurre en los criollos pues como se observó en el presente estudio a mayor edad presentan mejores resultados de acuerdo a CE.

En AC el grupo que presentó mejores resultados fue el MJ con $4,6 \pm 0,5\%$ mientras que el MA mostró mayor número de AC con $16,4 \pm 1,5\%$, la misma tendencia se observó en los criollos en donde con el incremento de la edad se produjo el aumento del número de anormalidades de cola.

Sin embargo estos últimos datos no concuerdan con los obtenidos por Soderquist et al., (1996), quienes realizaron un estudio en 52 toros de raza lechera de entre 14 meses y 6 años de edad, donde estudiaron la influencia de la temporada, la edad, la raza y otros factores sobre la incidencia de anomalías espermáticas en



semen fresco, del cual se observó en AC la ausencia de interacción entre los factores edad y raza, indicando así que la edad y la raza no influye en la incidencia de AC de los espermatozoides.

En el análisis de los espermatozoides a las 2 horas de refrigeración no se observó interacción entre los factores en ninguna de las variables, lo que indica que no hay diferencias entre criollos, mejorados, adultos y jóvenes; sin embargo a las 24 horas de refrigeración se presentó dependencia entre los factores (Fenotipo y Edad) para la variable de MIP, en donde el MA mostró el porcentaje superior $29,0 \pm 5,1$ % y el CA adulto el porcentaje inferior $7,8 \pm 2,2$ %. Sin embargo estadísticamente ($P < 0,05$) el MA que fue el mejor, no es diferente al CJ y de la misma manera el CA que fue el peor no difiere del MJ. Esto indica que para el caso de cuyes mejorados a medida que incrementa la edad hay una mejor MIP, pero en cuyes criollos sucede lo contrario porque los mejores valores de MIP se dan a temprana edad.

En un estudio realizado en conejos por Domingues, (2015) se estudió la influencia de la edad del macho sobre parámetros seminales, y se determinó que los machos adultos de 15-18 meses presentan mejor MIP con 80-90%.

En otra investigación Tamayo, (2009) evaluó la producción seminal en 16 sementales bovinos menciona que, la calidad seminal es dependiente de la edad y de la raza del animal, resaltando que toros adultos tiene mejor cuadro espermático cuando se los compara con los jóvenes.

No se ignora que la exposición de espermatozoides a bajas temperaturas reduce notablemente la MIP, como lo indican Yu & Leibo, (2002) quienes observaron que la motilidad de espermatozoides epididimarios caninos almacenados a 4°C disminuyen significativamente ($P < 0,05$) de 50% a 30% dentro de las primeras 5 horas de almacenado, de la misma manera Kikuchi y et al., (1998) indicaron que la motilidad espermática en porcinos almacenados a 4°C por 1 o 2 días baja significativamente ($P < 0,05$) de 62 a 52%.

Armas et al., (2011) quienes realizaron una investigación en 20 perros adultos de raza pura y mestiza, en donde se evaluó el efecto del tiempo entre orquiectomía y la recuperación de espermatozoides epididimarios sobre los parámetros de calidad espermática antes y después de la criopreservación, se observó que la MIP



disminuye de $55,5 \pm 19,07$ % en las 0 horas a $42,0 \pm 17,51$ % en las 24 horas. A las 48 horas de refrigeración se observó la interacción entre factores únicamente para VE, encabezado los mejores resultados el CJ con $23,3 \pm 6,9$ %, mientras que CA presentó la más baja VE $6,1 \pm 1,0$ %.

Esto indica que los espermatozoides de cuyes jóvenes podrían sobrevivir por más tiempo que los de cuyes adultos; sin embargo Fuentes, (1988) menciona que en cerdos el 50% de machos jóvenes elegidos como reproductores son eliminados, debido a baja concepción y baja calidad seminal.

Posteriormente cuando se analizó los datos por factores de estudio a las 96, 192, 196 y 360 horas de refrigeración no se encontró interacción ($P < 0,05$) para ninguna variable, lo que indica que ya no existe dependencia de Fenotipo y Edad pasadas las 48 horas, pues ya vendría a influir el tiempo de refrigeración.

5.2. Análisis del factor fenotipo

Cuando los factores de estudio (Fenotipo y Edad) no presentaron interacción se los evaluó por separado.

A las 0 horas no hubo diferencia significativa para ningún de las variables; sin embargo a las 2 horas se observó ($P < 0,05$) en la PM evaluada por Hos-Test, en donde el mejorado $16,5 \pm 2,4$ % tiene valores superiores vs $9,9 \pm 1,3$ del Criollo. De igual manera a las 96 horas se presentó diferencia significativa en Host-Test; pero con los porcentajes más altos en cuyes criollos $25,4 \pm 2,88$ % y los más bajos en mejorados $8,8 \pm 2,28$ %.

En un estudio realizado por Tittarelli et al., (2010) encontraron porcentajes de 84.0%, 82.1% y 73.8% a las 24, 48 y 72 horas respectivamente, encontrando diferencias significativas ($P < 0,05$) después de 72 horas de almacenamiento.

A las 48 horas de refrigeración se comprobó ($P < 0,05$) solamente en AC con porcentaje más bajo en criollos $6,5 \pm 1,29$ % y más alto en mejorados $17,0 \pm 1,15$ %. Sin embargo en un estudio realizado por Serrano et al., (1996) en muestras seminales de verracos no se encontró diferencias ($P < 0,05$) entre razas Landrace y Yorkshire $15,24$ % vs $15,65$ %.



5.3. Análisis de factor edad

En la evaluación de espermatozoides frescos (0 horas), se observó diferencia significativa ($P < 0,05$) en edad únicamente para AT, en donde el mayor número de anomalías la presentaron los adultos $37,3 \pm 1,56\%$ vs el $29,5 \pm 1,81\%$ de los jóvenes.

Resultados similares obtuvo (Armas y et al., 2011) en caninos adultos, donde demostró que la presencia de espermatozoides normales disminuye a medida que aumentaba el tiempo (89,38% en fresco y 64,14% a las 72 horas). A las 48 horas de refrigeración se comprobó ($P < 0,05$) únicamente en Hos-Test con valores más altos en jóvenes $16,1 \pm 1,62\%$ y más bajos en adultos $11,3 \pm 1,35\%$.

Yu & Leibo, (2002) en su investigación realizada en 32 perros orquiectomizados indicaron que no hubo diferencia significativa en la integridad de membrana dentro de las 48 horas de refrigeración pues mantuvieron intacta la membrana dentro del 70-80% durante todo ese tiempo.

A las 196 horas se encontró diferencia significativa ($P < 0,05$) solo en VE para la que los jóvenes tenían el $8,1 \pm 1,44\%$ el cual superaba al $4,1 \pm 0,42\%$ de los adultos.

5.4. Análisis de congelabilidad

En cuanto a congelación no se obtuvo valores positivos pues en todas las variables los valores fueron el 0%. Estos datos no fueron tan diferentes a los obtenidos por (Ribeiro y col., 2014) cuando utilizaron 20 epidídimos de toro, pues a pesar de que ello si obtuvieron espermatozoides vivos en congelación ($29,5 \pm 14,9\%$), existió diferencia significativa ($P < 0,05$) cuando se los comparó con espermatozoides frescos (74,5%).

En un estudio realizado por (Cruz Casallas, Medina Robles, & Velasco Santamaría, 2006) en donde evaluaron diferentes crioprotectores para la criopreservación de espermatozoides de yamú, indicaron que el semen congelado presenta porcentajes inferiores ($50 \pm 1,4\%$) vs el semen fresco ($64,7 \pm 1,7\%$), destacando que el aumento de la concentración del crioprotector influye negativamente sobre la calidad seminal post-descongelación.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

A pesar de que en ratones se menciona que ha existido 37% de fertilización in vitro con semen congelado (Critser & Mobraaten, 2000) se debe tomar en cuenta que los espermatozoides de epidídimo de cobayo no entran en contacto con elementos protectores del plasma por lo que disminuye la resistencia a procesos de congelación (Ortiz, 2000).



6. CAPITULO VI: CONCLUSIONES

A través de esta investigación se ha logrado identificar los cuyes reproductores en dos fenotipos: criollos y mejorados, en dos edades productivas: jóvenes y adultos, a través de una caracterización fenotípica aplicada en campo.

Consecuentemente y por medio de los resultados obtenidos, así como los análisis realizados en los espermatozoides epididimarios de cuyes de diferente fenotipo y edad, podemos concluir que la cantidad y calidad de espermatozoides varía de acuerdo a cuyes reproductores criollos y mejorados, así como en los cuyes jóvenes y adultos.

De esta manera podemos decir que los cuyes que presentaron una mejor calidad espermática en su análisis en fresco fueron los mejorados jóvenes y criollos adultos. Sin embargo, al analizar por factores en tiempos de refrigeración (horas), la calidad espermática con valores porcentuales más altos y eficientes fue el criollo en el factor fenotipo y el joven en el factor edad. No obstante, a las 24 hs de refrigeración en ambos factores presentaron iguales características de calidad espermática.

Finalmente, al evaluar la calidad espermática post-descongelación, concluimos que las gametas de cuyes son susceptibles al proceso de crioconservación, por lo tanto, obtuvimos en todos los casos o tratamientos muerte celular, lo que demuestra que se deberá estudiar un crioprotector eficaz para reducir el estrés oxidativo y producción de radicales libres que mitiguen la degeneración de la membrana espermática y obtener supervivencia.

**BIBLIOGRAFÍA**

- Afzelius, B. (1959). Electron Microscopy of the Sperm Tail. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*, 5, 269–278. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2224653/pdf/269.pdf>
- Aguero, T. (2009). La importancia de los recursos genéticos vegetales y animales en el desafío de convertir a Chile en una potencia alimentaria y forestal. Retrieved from http://www.planttreaty.org/sites/default/files/teare_desafios.pdf
- Aguilar, G., Amaro, K., & Hernández, G. (2013). *Evaluación de dos diluyentes para la conservación de semen ovino: yema de huevo, lecitina de soya*. Universidad Autónoma Metropolitana. Retrieved from http://www.academia.edu/4366411/EVALUACION_DE_DOS_DILUYENTES_PARA_LA_CONSERVACION_DE_SEMEN_OVINO_YEMA_DE_HUEVO_VS_LECITINA_DE_SOYA
- Aliaga, L., Moncayo, R., Rico, E., & Caycedo, A. (2009). *Producción de Cuyes* (Primera). Lima. Retrieved from https://books.google.com.ec/books/about/Produccion_de_cuyes.html?id=PHVjAAAAMAAJ&redir_esc=y
- Anakwe, O. O., Sharma, S., Hoff, H. B., Hardy, D. M., & Gerton, G. L. (1991). Maturation of guinea pig sperm in the epididymis involves the modification of proacrosin oligosaccharide side chains. *Mol Reprod Dev*, 29(3), 294–301. Retrieved from 1931047
- Andrade, A. (2005). *Influencia en la calidad espermática de la adición de distintas concentraciones de crioprotectores para la conservación del semen canino*. Universidad Complutense de Madrid. Retrieved from <http://www.ucm.es/BUCM/tesis/vet/ucm-t28575.pdf>
- Armas, S., Fernández, V., Vásquez, M., & Santiani, A. (2011). Determinación del tiempo máximo para recuperar y criopreservar espermatozoides obtenidos de la cola del epidídimo en caninos post orquiectomía. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 22(3), 199–205.
- Ataucusi, S. (2015). *Manual Técnico de la Crianza de Cuyes en la Sierra del Perú*. Biblioteca Nacional del Perú (Primera). Lima: Corporación S.A.C. Retrieved from http://www.caritas.org.pe/documentos/MANUAL_CUY_PDF.pdf
- Barrios, D. (2002). Evaluación De La Calidad Y Capacidad Fecundante De Espermatozoides De La Cola Del Epidídimo De Toros Post-Mortem. *Ciencias Veterinarias*, 1–14.
- Bautista, G., De la Torre, J., Fernández, Á., Guiris, D., Lau, A., & León, H. (2015). *Reproducción Animal* (Primera). Chiapas: UNACH. Retrieved from http://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neum



onia+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLIsASJsYGgAQ&ved=0CCUQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false\nhttp://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neumonia+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLIsASJsYG

- Boersma, A., Olszanska, O., Walter, I., & Rüllicke, T. (2015). Microsurgical and Percutaneous Epididymal Sperm Aspiration for Sperm Collection from Live Mice. *The American Association for Laboratory Animal Science*, 54(5), 471–477.
- Camacho, O. (2011). *Criocapacitacion De Espermatozoides Caprinos, Procesados Con Dos Diluyentes*. Retrieved from http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/28472/1/OSCAR_CAMACHO_GARCIA.pdf
- Caycedo, A. (2000). *Experiencias Investigativas en la Producción de Cuyes* (Primera). Pasto: Universidad De Nariño.
- Chauca, L. (1997). *Producción de cuyes (Cavia porcellus)* (Primera). Roma: FAO. Retrieved from http://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neumonia+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLIsASJsYGgAQ&ved=0CCUQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false\nhttp://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neumonia+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLIsASJsYG
- Connell, M. O., McClure, N., & Lewis, S. E. M. (2002). The effects of cryopreservation on sperm morphology , motility and mitochondrial function. *Reproduction*, 17(3), 704–709.
- Critser, J. K., & Mobraaten, L. E. (2000). Cryopreservation of murine spermatozoa. *ILAR Journal / National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources*, 41(4), 197–206. <http://doi.org/10.1093/ilar.41.4.197>
- Cruz Casallas, P. E., Medina Robles, V. M., & Velasco Santamaría, Y. (2006). Evaluación de diferentes crioprotectores para la crioconservación de espermatozoides de yamú (*Brycon amazonicus*). *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 19(2), 152–159. Retrieved from <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3240058&info=resumen&idoma=SPA>
- Delgado, J. V. (2000). Conservación de la Biodiversidad de los Animales Domésticos Locales para el Desarrollo Rural Sostenible. *Zootecnia*, 49, 317–326.
- Domingues, V. (2015). Influencia de la edad sobre los parámetros seminales. *agriNews*. Retrieved from <http://agrinews.es/2015/11/09/influencia-de-la-edad-sobre-los-parametros-seminales/>



- Duchi, N. D., Veracruz, L. A., & Remacha, a P. (2000). Criopreservación De Semen De Gallo : Una Alternativa Para La Recuperación Y Conservación De La Gallina De Raza Murciana . *Agroecologia*, (1979).
- Durrant, B. S. (1984). Semen Collection , Evaluation , and Cryopreservation in Exotic Animal Species : Maximizing Reproductive Potential. *ILAR NEWS*.
- Espin, L., Sánchez, J., & Mazzini, M. (2010). *Proyecto de Inversión para la Producción y Comercialización del Cuy (Cavia Porcelluas) como una Alternativa para el Consumo Local y Desarrollo de su Potencial Exportación*. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Retrieved from <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/3780/1/6307.pdf>
- FAO. (2007). *Los Recursos Zoogenéticos una Red de Seguridad para el Futuro*. Retrieved from www.fao.org/nr/cgrfa
- FAO. (2016). Conservación de los Recursos Genéticos de los Animales Domésticos. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/v8300s/v8300s0d.htm>
- Fawcett, D. W. (1965). The anatomy of the mammalian spermatozoon with particular reference to the Guinea pig. *Zeitschrift Fur Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie*, 67(3), 279–296. <http://doi.org/10.1007/BF00339376>
- Fernández, M. ., Estesó, M. ., Montoro, V., Soler, A. ., & Garde, J. . (2006). Cryopreservation of Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) epididymal spermatozoa: Effects of egg yolk, glycerol and cooling rate. *Theriogenology*, 66(8), 1931–1942. <http://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.05.012>
- Fossum, T. W. (2009). *Cirurgia de Pequenos Animais. Cirurgia de Pequenos Animais* (Tercera). Barcelona: Elsevier. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Franco, J. C. (2007). Criopreservación de Semen tomado del Epidídimo. *Engormix*. Retrieved from <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/genetica/articulos/criopreservacion-semen-tomado-epididimo-t1876/p0.htm>
- Freund, M. (1969). Interrelationships Among the Characteristics of Guinea-Pig Semen Collected by Electro-Ejaculation. *Reprod. Fert.*, 393–403.
- Fuentes, A. (1988). La infertilidad en el verraco y sus probables causas. *FONIAP*. Retrieved from http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd29/texto/infertilidad.htm



- Gold Myles, D., Primakoff, P., & Bellvé, A. (1981). Surface domains of the guinea pig sperm defined with monoclonal antibodies. *Cell*, 23(2), 433–439. [http://doi.org/10.1016/0092-8674\(81\)90138-0](http://doi.org/10.1016/0092-8674(81)90138-0)
- Gonzalez, H., & Cornejo, D. (2009). Bases Celulares y Moleculares de la Capacitación Espermática. *Scientia*.
- Gonzalez, R. (2004). Cunicultura. Retrieved from <http://www.uabcs.mx/maestros/descartados/mto05/reproduccion.htm>
- Gonzalo, A. (2012). *Fisiología reproductiva de los cobayos*. Buenos Aires. Retrieved from <http://dpd.fvet.uba.ar/cartelera/00007212.pdf>
- Gregoire, A. (2014). *Cryoconservation des ressources genetiques chez le cochon d'Inde (Cavia porcellus): production et congelation des embryons*. Universite de Lyon.
- Grégoire, A., Joly, T., Fuertes, E. H., & Silva, R. M. (2010). Crioconservación de los recursos genéticos del cuy (*Cavia porcellus*): producción y congelación de embriones. *BIFEA*, 39(1).
- Guerra, C. (2009). Manual técnico de crianza de cuyes, 25. Retrieved from <http://www.cedepas.org.pe/sites/default/files/Manual técnico de crianza de cuyes.pdf>
- Harkness, J. E., Murray, K. a, & Wagner, J. E. (2002). *Biology and Diseases of Guinea Pigs. Laboratory Animal Medicine* (Second Edi). Elsevier Inc. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-263951-7.50009-0>
- Haro, R. (2003). Ministerio de agricultura y ganaderia.
- Hewitt, D. A., Leahy, R., Sheldon, I. M., & England, G. C. W. (2001). Cryopreservation of epididymal dog sperm. *Animal Reproduction Science*, 67(1-2), 101–111. [http://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00090-2](http://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00090-2)
- Higaonna, R. (2010). *Tecnificación de la Crianza de Cuyes para el Mercado Nacional*. Lima. Retrieved from http://minagri.gob.pe/portal/download/pdf/direccionesyoficinas/oficina_apoyo_enlace/crianza_de_cuyes_inia.pdf
- IUCN (Conservation of Nature and Natural Resources), UNEP (United Nations Environment Programme, Fund), & WWF (the World Wildlife Fund). (1980). *World Conservation Strategy. World Conservation Union, United Nations Environment Programme, Word Wide Fund for Nature, Gland*. Retrieved from <https://portals.iucn.org/library/efiles/documents/WCS-004.pdf>
- Kikuchi, K., Nagai, T., Kashiwazaki, N., Ikeda, H., Noguchi, J., Shimada, A., ... Kaneko, H. (1998). Cryopreservation and ensuing in vitro fertilization ability of



- boar spermatozoa from epididymides stored at 4°C. *Theriogenology*, 50(4), 615–623. [http://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00166-6](http://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00166-6)
- Leibo, S. P., & Songsasen, N. (2002). Cryopreservation of gametes and embryos of non-domestic species. *Theriogenology*, 57(1), 303–326. [http://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00673-2](http://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00673-2)
- León, H., Porras, a. a., Galina, C. S., & Navarro-Fierro, R. (1991). Effect of the collection method on semen characteristics of Zebu and European type cattle in the tropics. *Theriogenology*, 36(3), 349–355. [http://doi.org/10.1016/0093-691X\(91\)90463-N](http://doi.org/10.1016/0093-691X(91)90463-N)
- Lucio, R., Tlachi, J., Lopez, A., Zempoalteca, R., & Velázquez-Moctezuma, J. (2009). Análisis de los parámetros del eyaculado en la rata Wistar de laboratorio: descripción de la técnica Analysis of the parameters of the ejaculate in the laboratory Wistar rat: technical description. *Vet Mex*, 40(4), 405–416.
- Mantilla, J. (2012). *Diferenciación Reproductiva, Productiva Y Molecular De Cuyes Nativos De La Región Cajamarca*. Universidad Nacional de Cajamarca.
- Matamoros, Y. (1981). Anatomía e histología del sistema reproductor del tepezcuinte (*Cuniculus paca*). *Revista de Biología Tropical*, 29, 155–164. Retrieved from <http://www.ots.ac.cr/rbt/attachments/volumes/vol29-1/16-Matamoros-Tepezcuintle.pdf>
- Medina, V., Velasco, Y., & Cruz, P. (2005). Aspectos generales de la crioconservación espermática en peces teleósteos. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 18, 34–48. Retrieved from [file:///C:/Users/Cris/Desktop/REFER?NCIAS/Robles, Santamar?a, Casallas - Aspectos generales de la crioconservaci?n esperm?tica en peces tele?steos - 2005.pdf](file:///C:/Users/Cris/Desktop/REFER?NCIAS/Robles,Santamar?a,Casallas-Aspectos%20generales%20de%20la%20crioconservaci?n%20esperm?tica%20en%20peces%20tele?steos-2005.pdf)
- Molina, A. (2009). Biodiversidad y Conservación de raza autóctonas de Animales Domésticos. *Ambienta*, 9. Retrieved from http://www.revistaambienta.es/WebAmbienta/marm/Dinamicas/secciones/articulos/Molina_Alcala.htm
- Montes, T. (2015). Asistencia Técnica dirigida en Criodocuments.tips/documents/aparato-reproductor-de-cuyes-de-hembra-y-macho.htmlInza Tecnificada de Cuyes. *OAEPS*, 1, 1–36. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Muiño, R. (2005). *Evaluación de la Motilidad y Viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas CASA y citometría de flujo: Identificación de subpoblaciones espermáticas*. Santiago de Compostela, Santiago de Compostela. Retrieved from http://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neum



onia+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLIsASJsYGgAQ&ved=0CCUQ6AEwAA#v=onepage&q&f=falsehttp://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neumonia+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLIsASJsYG

- Mujica, F. (2010). Diversidad y Conservación de los Recursos Zoogenéticos del País (Vol. 37, pp. 134–175).
- Neville, W. J., Macpherson, J. W., & Reinhart, B. (1971). The contraceptive action of glycerol in chickens. *Poultry Science*, 50, 1411–1415.
<http://doi.org/10.3382/ps.0501411>
- OMS. (2013). *Manual de Laboratorio de la OMS para el semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical*. *Journal of Chemical Information and Modeling* (Tercera, Vol. 53). Buenos Aires: Panamericana.
<http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Ortiz, N. (2000). *Estudio de las características espermáticas y de la criopreservación en espermatozoides epididimarios de ciervo ibérico obtenidos postmortem*. Universidad de Castilla. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=S1YjmV1nkmEC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Paez, E. M. (2012). *Modulo Reproduccion Animal Avanzada*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Tunja. Retrieved from http://datateca.unad.edu.co/contenidos/201502/201502_MODULO.pdf
- Palacios, A. (1994). Aspectos fisiológicos acerca del congelamiento de semen. *Vet. Méx.*, 25(3), 207–210. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/vetmex/vm-1994/vm943b.pdf>
- Pérez, M. (2004). *Manual de Crianza de Animales*. Retrieved from http://www.muniite.gob.pe/webproyectos_GDS/proyecto_nutricion/media/boletin/FileBole-15-491d059b3f.pdf
- Quillahuaman, V. (2015). *Aparato Reproductor en los Cuyes*. José María Mariategui. Retrieved from <http://documents.tips/documents/aparato-reproductor-de-cuyes-de-hembra-y-macho.html>
- Ribeiro, A., Munita, L., Yumi, M., Mello, M., & Ferreira, F. (2014). Criopreservación de espermatozoides bovinos extraídos de la cola del epidídimo utilizando los métodos convencional y automatizado. *Scielo*, 46, 1455–1463. Retrieved from http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-97072008000200002&script=sci_arttext
- Rischkowsky, B., & Dafydd, P. (2007). *The state of the world's Animal Genetic Resources for food and agriculture*. Roma: FAO. Retrieved from http://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neum



onia+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLIsASJsYGgAQ&ved=0CCUQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false\nhttp://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neumonia+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLIsASJsYG

- Rodero, E., & Molina, A. (2015). *La Conservación de la Diversidad de Razas Autóctonas. Junta de Andalucía* (Vol. 3).
<http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Rubio, J., & Quintero, A. (2000). Uso de las pruebas de resistencia osmótica para valorar, 617'627. Retrieved from
http://www.avpa.ula.ve/libro_desarrollosost/pdf/capitulo_50.pdf
- Sandoval, R. (2005). *Criopreservación de semen ovino empleando diferentes dilutores y combinaciones de agentes crioprotectores permeantes y no permeantes*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Schimming, B., Domeniconi, R., Panhoza, M., Tse, H., & Orsi, A. (2012). Morfología do epidídimo de cobaio (*Cavia porcellus*) em diferentes fases do desenvolvimento pós-natal. *Braz. J. Vet. Anim.*, 307–317. Retrieved from
<http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/viewFile/51718/55779>
- Scott, J., & Dziuk, P. (1964). Evaluation of the Electroejaculation Technique and the Spermatozoa thus Obtained from Rats, Mice and Guinea Pigs, 655–664.
- Seed, J., Chapin, R. E., Clegg, E. D., Dostal, L. a., Foote, R. H., Hurtt, M. E., ... Wise, L. D. (1996). Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: A consensus report. *Reproductive Toxicology*, 10(3), 237–244. [http://doi.org/10.1016/0890-6238\(96\)00028-7](http://doi.org/10.1016/0890-6238(96)00028-7)
- Serrano, G., Fuentes, A., de Sosa, G., Valle, A., & Regueiro, C. (1996). Estudio de las anomalías espermáticas del verraco en relación con raza, tipo y época en Venezuela. *Zootecnica Tropical*, 14, 17–34. Retrieved from
http://www.sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/ZootecnicaTropical/zt1401/texto/anomalias.htm
- Shannon, P., & Vishwanath, R. (1995). The effect of optimal and suboptimal concentrations of sperm on the fertility of fresh and frozen bovine semen and a theoretical model to explain the fertility differences. *Animal Reproduction Science*, 39(1), 1–10. [http://doi.org/10.1016/0378-4320\(95\)01376-B](http://doi.org/10.1016/0378-4320(95)01376-B)
- Soderquist, L., Janson, L., Haard, M., & Einarsson, S. (1996). Influence of season, age, breed and some other factors on the variation in sperm morphological abnormalities in Swedish dairy A.I. bulls. *Animal Reproduction Science*, 44(2), 91–98. [http://doi.org/10.1016/0378-4320\(96\)01498-4](http://doi.org/10.1016/0378-4320(96)01498-4)



- Sztein, J. (2013). Criopreservación de esperma. Retrieved from <http://www.bioterios.com/2013/post.php?s=2013-05-01-criopreservacin-de-esperma>
- Tamayo, M. (2009). Variación de la calidad del semen desde el centro de inseminación artificial hasta los términos de la granja e inseminador. Retrieved from http://www.suganado.com/noticias_detalle.php?Id_Noticia=478
- Tittarelli, C., Stornelli, M. C., Gimenez, C., Savignone, C., de la Sota, R., & Stornelli, M. A. (2010). Epididymal spermatozoa recovery like a toll for genetic material conservation. *Sciences-New York, I*. Retrieved from http://uccuyosl.edu.ar/veterinaria_cuyana/veterinaria_cuyana_2_1+2.pdf
- Trujillo, L. E., & Rivera, M. (2002). Estudio Comparativo De Dos Tratamientos Bacteriológica Y Espermática Del Semen Bovino, *55*(1), 1457–1472.
- Tulsiani, D. R. P., & Abou-Haila, A. (2012). Biological Processes that Prepare Mammalian Spermatozoa to Interact with an Egg and Fertilize It. *Scientifica*, *2012*, 1–12. <http://doi.org/10.6064/2012/607427>
- Varea, M., Bastir, M., & Roldan, E. (2013). Geometric Morphometrics of Rodent Sperm Head Shape. *PLOS*. Retrieved from <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0031409>
- Varisli, O., Scott, H., Agca, C., & Agca, Y. (2013). The effects of cooling rates and type of freezing extenders on cryosurvival of rat sperm q. *Cryobiology*, *67*(2), 109–116. <http://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2013.05.009>
- Vicente, J. S., & Viudes de Castro, M. (2000). Manejo reproductivo en el conejo. Retrieved from <http://home.utad.pt/apez/APEZNorte/2000/Cunicultura/S4.htm>
- Vishwanath, R., & Shannon, P. (2000). Storage of bovine semen in liquid and frozen state. *Animal Reproduction Science*, *62*(1-3), 23–53. [http://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00153-6](http://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00153-6)
- Vivanco, W., Angeles, V., Muscari, J., & Chavez, J. (1994). Colección, Evaluación y Conservación del Semen del Cuy Doméstico. *INIA*.
- Wagner, J., & Manning, P. (1976). *The Biology of the Guinea Pig* (Primera). London: Academic Press. Retrieved from http://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neumon+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLIsASJsYGgAQ&ved=0CCUQ6AEwAA#v=onepage&q&f=falsehttp://books.google.com.ec/books?id=e033m2_cqDwC&pg=PA249&dq=neumon+pdf&hl=es&sa=X&ei=jBGWU7SIHcLIsASJsYGgAQ&ved=0CCUQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false
- Watson, P. F. (1995). Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function.



Reproduction, Fertility, and Development, 7(4), 871–891.
<http://doi.org/10.1071/RD9950871>

- Xicohtencatl, P., Barrera, S., Orozco, T., Sigfredo, T., & Roberto, M. (2013). Analysis of the parameters of the ejaculate in the laboratory Wistar rat: technical description. *Abanico Veterinario*, 3(2), 36–43.
- Yanagimachi, R. (1994). Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity. *Zygote*, 2(4), 371–372. <http://doi.org/10.1017/S0967199400002240>
- Yu, I., & Leibo, S. P. (2002). Recovery of motile, membrane-intact spermatozoa from canine epididymides stored for 8 days at 4°C. *Theriogenology*, 57(3), 1179–1190. [http://doi.org/10.1016/S0093-691X\(01\)00711-7](http://doi.org/10.1016/S0093-691X(01)00711-7)

ANEXOS



Anexo 1. Caracterización Fenotípica para Selección de Cuyes Criollos y Mejorados

No.	CRIOLLO	MEJORADO
EDAD: Joven (4-6meses) -----		
Adulto (12-15m) -----		
CABEZA	Triang-Alarg	Cónica
ROSETA	SI	NO
OJOS	Rojos	Negros
BOCA	Prolongada	Poco Prolongada
OREJAS	Pequeñas, erectas y oscuras	Grandes y caídas
CUERPO	Poco Profun.	Profundo
DESARR.MUSC.	Escaso	Excelente
DEDOS ANT.	4-6	4
DEDOS POST.	3-5	3
PELO	Crespo, Liso	Liso
COLOR	Claro-Oscuro	Blanco-rojo, alazán, bayo
FENOTIPO		

(Aliaga y col., 2009) y (Chauca, 1997).

Anexo 2. Operacionalización de las Variables

VARIABLES	INDICADORES	MEDIDAS	FUENTE DE INFORMACIÓN	ANÁLISIS DE INFORMACIÓN
X1 Fenotipo	Criollo	Características fenotípicas	Observación	Comparación y análisis según cada tipo con SPSS
	Mejorado			
X2 Edad	Joven	Meses	Propietario	Comparación y análisis según cada edad con SPSS
	Adulto			
Y1 CE Concent.	Número de Espermatozoides	x106 ezp/ml	Cámara de Neubauer	Análisis de concentraciones de ezp/ml de cada eyaculado con SPSS
Y2 MIP	Movimiento de un ezp.	%	Microscopio	Comparación y análisis con el total de eyaculados con SPSS
Y3 VE	Vivos	%	Colorante + Microscopio	Comparación y análisis con el total de eyaculados con SPSS
	Muertos			
Y4 AT	0-100	%	Colorante + Microscopio	Comparación y análisis con el total de eyaculados con SPSS
Y5 AC	0-100	%	Colorante + Microscopio	Comparación y análisis con el total de eyaculados con SPSS
Y6 PM (Hos-Test)	0-100	%	Solución. Hipoosmótica + Microscopio	Comparación y análisis con el total de eyaculados con SPSS



Anexo 3. Estadísticos de Shapiro-Wilk y Levene para verificación de normalidad y homogeneidad de datos respectivamente para las variables espermáticas epididimarias al momento de su recuperación (0 horas)

	Fenotipo	Prueba de Normalidad			de Edad	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.		Estadístico	gl	Sig.
CE	Criollo	0,864	10	0,085	Jóvenes	0,893	10	0,185
	Mejorado	0,947	10	0,634	Adultos	0,858	10	0,072
MIP	Criollo	0,883	10	0,139	Jóvenes	0,829	10	0,033
	Mejorado	0,834	10	0,037	Adultos	0,904	10	0,242
VE	Criollo	0,921	10	0,362	Jóvenes	0,820	10	0,025
	Mejorado	0,917	10	0,330	Adultos	0,909	10	0,277
AT	Criollo	0,893	10	0,182	Jóvenes	0,930	10	0,452
	Mejorado	0,844	10	0,049	Adultos	0,903	10	0,233
AC	Criollo	0,967	10	0,857	Jóvenes	0,872	10	0,106
	Mejorado	0,865	10	0,087	Adultos	0,910	10	0,278
HOS	Criollo	0,856	10	0,068	Jóvenes	0,700	10	0,001
	Mejorado	0,864	10	0,084	Adultos	0,922	10	0,377

Prueba de Homogeneidad de Levene									
	Fenotipo (criollo* mejorado)					Edad (jóvenes * adultos)			
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	
CE_F	0,062	1	18	0,806	1,738	1	18	0,204	
MIP_F	6,868	1	18	0,017	0,026	1	18	0,875	
VE_F	1,747	1	18	0,203	0,000	1	18	0,988	
AT_F	0,611	1	18	0,445	0,477	1	18	0,499	



AC_F	5,471	1	18	0,031	0,506	1	18	0,486
HOS_F	0,384	1	18	0,543	0,177	1	18	0,679

Prueba la hipótesis nula que la varianza de error de la variable dependiente es igual entre grupos.

a. Diseño : Interceptación + EDAD * GENOTIPO + EDAD + FENOTIPO

Anexo 4. ANOVA de Concentración a las 0 horas

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: CE_F					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	8991,68 ^a	3	2997,23	4,13	0,02
Interceptación	52880,3	1	52880,33	72,84	0,00
EDAD * FENOTIPO	7904,3	1	7904,29	10,89	0,00
EDAD	1,1	1	1,06	0,00	0,97
GENOTIPO	1086,3	1	1086,34	1,50	0,24
Error	11615,8	16	725,99		
Total	73487,9	20			
Total corregido	20607,5	19			

a. R al cuadrado = ,436 (R al cuadrado ajustada = ,331)

Anexo 5. ANOVA de MIP a las 0 horas

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: MIP_F					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	2267,600 ^a	3	755,867	2,552	0,092



Interceptación	51207,200	1	51207,200	172,880	0,000
EDAD * FENOTIPO	1312,200	1	1312,200	4,430	0,050
EDAD	3,200	1	3,200	0,011	0,919
FENOTIPO	952,200	1	952,200	3,215	0,092
Error	4739,200	16	296,200		
Total	58214,000	20			
Total corregido	7006,800	19			

a. R al cuadrado = ,324 (R al cuadrado ajustada = ,197)

Anexo 6. ANOVA de VE a las 0 horas

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: VE_F					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	299,504 ^a	3	99,835	,613	0,616
Interceptación	40714,483	1	40714,483	250,010	0,000
EDAD * FENOTIPO	13,090	1	13,090	,080	0,780
EDAD	30,802	1	30,802	,189	0,669
FENOTIPO	255,613	1	255,613	1,570	0,228
Error	2605,621	16	162,851		
Total	43619,608	20			
Total corregido	2905,124	19			

a. R al cuadrado = ,103 (R al cuadrado ajustada = -,065)

**Anexo 7. ANOVA de AT a las 0 horas**

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente:	AT_F				
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	423,027 ^a	3	141,009	5,609	0,008
Interceptación	22311,868	1	22311,868	887,518	0,000
EDAD * FENOTIPO	20,382	1	20,382	,811	0,381
EDAD	311,182	1	311,182	12,378	0,003
FENOTIPO	91,464	1	91,464	3,638	0,075
Error	402,234	16	25,140		
Total	23137,129	20			
Total corregido	825,261	19			

a. R al cuadrado = ,513 (R al cuadrado ajustada = ,421)

Anexo 8. ANOVA de AC a las 0 horas

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente:	AC_F				
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	358,614 ^a	3	119,538	9,278	0,001
Interceptación	2216,776	1	2216,776	172,065	0,000
EDAD * FENOTIPO	118,487	1	118,487	9,197	0,008
EDAD	240,125	1	240,125	18,638	0,001
FENOTIPO	,002	1	,002	,000	0,989
Error	206,134	16	12,883		



Total	2781,524	20
Total corregido	564,748	19

a. R al cuadrado = ,635 (R al cuadrado ajustada = ,567)

Anexo 9. Estadísticos de Shapiro-Wilk y Levene para verificación de normalidad y homogeneidad de datos respectivamente para las variables espermáticas epididimarias a las 2 horas post-refrigeración

Edad	Prueba de Normalidad			de Fenotipo	Shapiro-Wilk			
	Estadístico	gl	Sig.		Estadístico	gl	Sig.	
MIP_2h	Jóvenes	0,943	10	0,584	Criollo	0,961	10	0,792
	Adultos	0,951	10	0,682	Mejorado	0,827	10	0,030
VE_2h	Jóvenes	0,947	10	0,635	Criollo	0,972	10	0,910
	Adultos	0,823	10	0,027	Mejorado	0,918	10	0,337
AT_2h	Jóvenes	0,927	10	0,420	Criollo	0,963	10	0,824
	Adultos	0,973	10	0,915	Mejorado	0,886	10	0,152
AC_2h	Jóvenes	0,969	10	0,877	Criollo	0,851	10	0,059
	Adultos	0,928	10	0,429	Mejorado	0,964	10	0,829
HOS_2h	Jóvenes	0,956	10	0,738	Criollo	0,975	10	0,932
	Adultos	0,947	10	0,629	Mejorado	0,956	10	0,739

Prueba de Homogeneidad de Levene								
Variable espermática	Fenotipo (criollo * mejorado)				Edad (jóvenes * adultos)			
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
MIP_2h	2,335	1	18	0,144	0,001	1	18	0,977



VE_2h	2,932	1	18	0,104	0,014	1	18	0,907
AT_2h	0,001	1	18	0,976	0,010	1	18	0,922
AC_2h	0,946	1	18	0,344	3,559	1	18	0,075
HOS_2h	2,579	1	18	0,126	8,559	1	18	0,009

Prueba la hipótesis nula que la varianza de error de la variable dependiente es igual entre grupos.

a. Diseño : Interceptación + EDAD * FENOTIPO + EDAD + FENOTIPO

Anexo 10. ANOVA de MIP a las 2 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos						
Variable dependiente: MIP_2h						
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	
Modelo corregido	962,600 ^a	3	320,867	,973	,430	
Interceptación	30576,200	1	30576,200	92,739	,000	
FENOTIPO * EDAD	3,200	1	3,200	,010	0,923	
FENOTIPO	952,200	1	952,200	2,888	0,109	
EDAD	7,200	1	7,200	,022	0,884	
Error	5275,200	16	329,700			
Total	36814,000	20				
Total corregido	6237,800	19				

a. R al cuadrado = ,154 (R al cuadrado ajustada = -,004)

**Anexo 11. ANOVA de VE a las 2 horas post-refrigeración**

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: VE_2h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	108,267 ^a	3	36,089	,385	,765
Interceptación	27990,910	1	27990,910	298,800	,000
FENOTIPO * EDAD	49,707	1	49,707	,531	,477
FENOTIPO	45,030	1	45,030	,481	,498
EDAD	13,530	1	13,530	,144	,709
Error	1498,842	16	93,678		
Total	29598,019	20			
Total corregido	1607,109	19			

a. R al cuadrado = ,067 (R al cuadrado ajustada = -,108)

Anexo 12. ANOVA de AT a las 2 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: AT_2h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	240,882 ^a	3	80,294	2,572	,090
Interceptación	25062,492	1	25062,492	802,955	,000
FENOTIPO * EDAD	62,835	1	62,835	2,013	0,175
FENOTIPO	44,970	1	44,970	1,441	0,247
EDAD	133,076	1	133,076	4,264	0,050
Error	499,405	16	31,213		



Total	25802,779	20
Total corregido	740,287	19
a. R al cuadrado = ,325 (R al cuadrado ajustada = ,199)		

Anexo 13. ANOVA de AC a las 2 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: AC_2h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	207,351 ^a	3	69,117	1,967	,160
Interceptación	2420,880	1	2420,880	68,910	,000
FENOTIPO * EDAD	136,346	1	136,346	3,881	0,051
FENOTIPO	54,186	1	54,186	1,542	0,232
EDAD	16,818	1	16,818	,479	0,499
Error	562,095	16	35,131		
Total	3190,325	20			
Total corregido	769,445	19			
a. R al cuadrado = ,269 (R al cuadrado ajustada = ,133)					

Anexo 14. ANOVA de HOS-Test a las 2 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: HOS_2h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	347,654 ^a	3	115,885	3,519	,039
Interceptación	3483,216	1	3483,216	105,779	,000



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FENOTIPO * EDAD	89,888	1	89,888	2,730	0,118
FENOTIPO	223,914	1	223,914	6,800	0,019
EDAD	33,852	1	33,852	1,028	0,326
Error	526,868	16	32,929		
Total	4357,738	20			
Total corregido	874,522	19			

a. R al cuadrado = ,398 (R al cuadrado ajustada = ,285)

Anexo 15. Estadísticos de Shapiro-Wilk y Levene para verificación de normalidad y homogeneidad de datos respectivamente para las variables espermáticas epididimarias a las 24 horas post-refrigeración

	Fenotipo	Prueba de Normalidad			de Edad	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.		Estadístico	gl	Sig.
MIP_24h	Criollo	0,751	10	0,004	Jóvenes	0,805	10	0,017
	Mejorado	0,914	10	0,311	Adultos	0,884	10	0,147
VE_24h	Criollo	0,913	10	0,300	Jóvenes	0,867	10	0,092
	Mejorado	0,692	10	0,001	Adultos	0,933	10	0,478
AT_24h	Criollo	0,931	10	0,453	Jóvenes	0,842	10	0,047
	Mejorado	0,859	10	0,075	Adultos	0,942	10	0,579
AC_24h	Criollo	0,962	10	0,804	Jóvenes	0,875	10	0,114
	Mejorado	0,874	10	0,111	Adultos	0,891	10	0,174
HOS_24h	Criollo	0,766	10	0,006	Jóvenes	0,930	10	0,452
	Mejorado	0,912	10	0,295	Adultos	0,785	10	0,009

Prueba de homogeneidad de Levene

Variable de calidad	Fenotipo	Edad
---------------------	----------	------



UNIVERSIDAD DE CUENCA

espermática	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
MIP_24h	0,081	1	18	0,779	0,011	1	18	0,918
VE_24h	5,516	1	18	0,030	0,874	1	18	0,362
AT_24h	0,071	1	18	0,793	0,177	1	18	0,679
AC_24h	1,583	1	18	0,224	0,318	1	18	0,580
HOS_24h	0,419	1	18	0,526	0,012	1	18	0,915

Anexo 16. ANOVA de MIP a las 24 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente:	MIP_24h				
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	1452,550 ^a	3	484,183	2,732	,078
Interceptación	5678,450	1	5678,450	32,036	,000
FENOTIPO * EDAD	1264,050	1	1264,050	7,131	,017
FENOTIPO	140,450	1	140,450	,792	,387
EDAD	48,050	1	48,050	,271	,610
Error	2836,000	16	177,250		
Total	9967,000	20			
Total corregido	4288,550	19			

a. R al cuadrado = ,339 (R al cuadrado ajustada = ,215)



Anexo 17. U de Mann Whitney para VE a las 24 horas post-refrigeración

Estadísticos de Prueba Vitalidad Espermática (VE)_ 24h ^a		
	Fenotipo	Edad
U de Mann-Whitney	35,500	39,000
W de Wilcoxon	90,500	94,000
Z	-1,097	-,832
Sig. asintótica (bilateral)	,273	,406
Significación exacta [2*(sig. unilateral)]	0,280^b	0,436^b

a. Variable de agrupación: Genotipo y Edad

b. No corregido para empates.

Anexo 18. ANOVA de AT a las 24 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente:	AT_24h				
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	123,516 ^a	3	41,172	1,340	,297
Interceptación	28894,442	1	28894,442	940,212	,000
FENOTIPO * EDAD	18,915	1	18,915	,615	,444
FENOTIPO	19,110	1	19,110	,622	,442
EDAD	85,491	1	85,491	2,782	,115
Error	491,709	16	30,732		
Total	29509,668	20			
Total corregido	615,226	19			

a. R al cuadrado = ,201 (R al cuadrado ajustada = ,051)

**Anexo 19. ANOVA de AC a las 24 horas post-refrigeración**

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente:		AC_24h			
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	33,715 ^a	3	11,238	,717	,556
Interceptación	1767,764	1	1767,764	112,822	,000
FENOTIPO * EDAD	13,399	1	13,399	,855	,369
FENOTIPO	1,903	1	1,903	,121	,732
EDAD	18,413	1	18,413	1,175	,294
Error	250,699	16	15,669		
Total	2052,178	20			
Total corregido	284,414	19			

a. R al cuadrado = ,119 (R al cuadrado ajustada = -,047)

Anexo 20. ANOVA de HOS a las 24 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente:		HOS_24h			
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	195,344 ^a	3	65,115	1,006	,416
Interceptación	6018,021	1	6018,021	93,015	,000
FENOTIPO * EDAD	129,999	1	129,999	2,009	,176
FENOTIPO	28,108	1	28,108	,434	,519
EDAD	37,237	1	37,237	,576	,459
Error	1035,187	16	64,699		

Total	7248,553	20
Total corregido	1230,532	19

a. R al cuadrado = ,159 (R al cuadrado ajustada = ,001)

Anexo 21. Variables de calidad en espermatozoides epididimarios ($\bar{x} \pm ee$) por factor, a 24 hs post-refrigeración

Variables de calidad en espermatozoides epididimarios	factores			
	Edad		Fenotipo	
		$\bar{x} \pm ee$ (%)		$\bar{x} \pm ee$ (%)
AT	j	35,9±1,51	c	39,0±1,96
	a	40,1±1,90	m	37,0±1,67
AC	j	8,4±1,24	c	9,1±1,00
	a	10,4±1,19	m	9,7±1,47
HOS	j	18,7±2,31	c	16,2±3,04
	a	16,0±2,81	m	18,5±2,03

j= jóvenes
a= adultos
c=criollo
m=mejorado
letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Anexo 22. Estadísticos de Shapiro-Wilk y Levene para verificación de normalidad y homogeneidad de datos respectivamente para las variables espermáticas epididimarias a las 48 horas post-refrigeración

Variable de calidad	Fenotipo	Prueba de Normalidad			Edad	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.		Estadístico	gl	Sig.
MIP_48h	Criollo	0,658	10	0,000	Jóvenes	0,810	10	0,019
	Mejorado	0,815	10	0,022	Adultos	0,750	10	0,004
VE_48h	Criollo	0,867	10	0,091	Jóvenes	0,942	10	0,574
	Mejorado	0,822	10	0,027	Adultos	0,880	10	0,129
AT_48h	Criollo	0,929	10	0,441	Jóvenes	0,956	10	0,741
	Mejorado	0,890	10	0,168	Adultos	0,893	10	0,184



AC_48h	Criollo	0,796	10	0,013	Jóvenes	0,916	10	0,329
	Mejorado	0,888	10	0,163	Adultos	0,857	10	0,071
HOS_48h	Criollo	0,855	10	0,067	Jóvenes	0,904	10	0,242
	Mejorado	0,915	10	0,319	Adultos	0,955	10	0,732

Prueba de homogeneidad de varianzas									
Variable de calidad	Fenotipo				Edad				
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	
MIP_48h	0,590	1	18	0,453	0,525	1	18	0,478	
VE_48h	7,363	1	18	0,014	0,569	1	18	0,460	
AT_48h	1,453	1	18	0,244	0,011	1	18	0,918	
AC_48h	0,008	1	18	0,930	1,490	1	18	0,238	
HOS_48h	0,000	1	18	0,992	1,488	1	18	0,238	

Anexo 23. ANOVA de MIP a las 48 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos						
Variable dependiente: MIP_48h						
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.	
Modelo corregido	586,950 ^a	3	195,650	1,479	,258	
Interceptación	2398,050	1	2398,050	18,133	,001	
FENOTIPO * EDAD	252,050	1	252,050	1,906	,186	
FENOTIPO	266,450	1	266,450	2,015	,175	
EDAD	68,450	1	68,450	,518	,482	



Error	2116,000	16	132,250
Total	5101,000	20	
Total corregido	2702,950	19	

a. R al cuadrado = ,217 (R al cuadrado ajustada = ,070)

Anexo 24. ANOVA para VE a las 48 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: VE_48h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	830,457 ^a	3	276,819	3,412	,043
Interceptación	5158,472	1	5158,472	63,577	,000
FENOTIPO * EDAD	599,513	1	599,513	7,389	,015
FENOTIPO	35,007	1	35,007	,431	,521
EDAD	195,938	1	195,938	2,415	,140
Error	1298,208	16	81,138		
Total	7287,137	20			
Total corregido	2128,665	19			

a. R al cuadrado = ,390 (R al cuadrado ajustada = ,276)

Anexo 25. ANOVA de AT a las 48 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos	
Variable dependiente: AT_48h	



Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	19,108 ^a	3	6,369	,350	,790
Interceptación	34494,818	1	34494,818	1896,937	,000
FENOTIPO * EDAD	1,910	1	1,910	,105	,750
FENOTIPO	6,452	1	6,452	,355	,560
EDAD	10,746	1	10,746	,591	,453
Error	290,952	16	18,184		
Total	34804,878	20			
Total corregido	310,060	19			

a. R al cuadrado = ,062 (R al cuadrado ajustada = -,114)

Anexo 26. ANOVA de AC a las 48 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente:	AC_48h				
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	573,809 ^a	3	191,270	12,294	,000
Interceptación	2768,305	1	2768,305	177,939	,000
FENOTIPO * EDAD	17,823	1	17,823	1,146	,300
FENOTIPO	555,669	1	555,669	35,717	,000
EDAD	,318	1	,318	,020	,888
Error	248,921	16	15,558		
Total	3591,035	20			
Total corregido	822,730	19			

a. R al cuadrado = ,697 (R al cuadrado ajustada = ,641)

Anexo 27. ANOVA de HOST a las 48 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: HOS_48h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	126,942 ^a	3	42,314	1,732	,201
Interceptación	3745,858	1	3745,858	153,335	,000
FENOTIPO * EDAD	9,508	1	9,508	,389	,542
FENOTIPO	,741	1	,741	,030	,864
EDAD	116,693	1	116,693	4,777	,044
Error	390,867	16	24,429		
Total	4263,667	20			
Total corregido	517,809	19			

a. R al cuadrado = ,245 (R al cuadrado ajustada = ,104)

Anexo 28. Estadísticos de Shapiro-Wilk y Levene para verificación de normalidad y homogeneidad de datos respectivamente para las variables espermáticas epididimarias a las 96 horas post-refrigeración

Pruebas de normalidad								
Variables de calidad	Fenotipo	Shapiro-Wilk			Edad	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.		Estadístico	gl	Sig.
MIP_96h	Criollo	0,566	10	0,000	Jóvenes	0,609	10	0,000
	Mejorado	0,851	10	0,060	Adultos	0,861	10	0,078
VE_96h	Criollo	0,837	10	0,041	Jóvenes	0,889	10	0,167



	Mejorado	0,917	10	0,332	Adultos	0,926	10	0,410
AT_96h	Criollo	0,940	10	0,551	Jóvenes	0,955	10	0,725
	Mejorado	0,965	10	0,840	Adultos	0,896	10	0,198
AC_96h	Criollo	0,970	10	0,894	Jóvenes	0,930	10	0,445
	Mejorado	0,913	10	0,304	Adultos	0,951	10	0,686
HOS_96h	Criollo	0,943	10	0,584	Jóvenes	0,878	10	0,122
	Mejorado	0,928	10	0,433	Adultos	0,951	10	0,683

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas									
Variables de calidad	Fenotipo					Edad			
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	
MIP_96h	1,884	1	18	0,187	2,195	1	18	0,156	
VE_96h	8,191	1	18	0,010	6,053	1	18	0,024	
AT_96h	7,080	1	18	0,016	0,017	1	18	0,896	
AC_96h	3,082	1	18	0,096	1,933	1	18	0,181	
HOS_96h	0,115	1	18	0,739	0,735	1	18	0,403	

Anexo 29. ANOVA de MIP a las 96 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente:	MIP_96h				
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.



Modelo corregido	89,800 ^a	3	29,933	,462	,713
Interceptación	405,000	1	405,000	6,248	,024
FENOTIPO * EDAD	3,200	1	3,200	,049	,827
EDAD	57,800	1	57,800	,892	,359
FENOTIPO	28,800	1	28,800	,444	,515
Error	1037,200	16	64,825		
Total	1532,000	20			
Total corregido	1127,000	19			

a. R al cuadrado = ,080 (R al cuadrado ajustada = -,093)

Anexo 30. ANOVA para VE a las 96 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente:	VE_96h				
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	401,401 ^a	3	133,800	2,175	,131
Interceptación	2297,296	1	2297,296	37,337	,000
FENOTIPO * EDAD	233,723	1	233,723	3,799	,069
EDAD	133,800	1	133,800	2,175	,160
FENOTIPO	33,878	1	33,878	,551	,469
Error	984,448	16	61,528		
Total	3683,145	20			
Total corregido	1385,849	19			

a. R al cuadrado = ,290 (R al cuadrado ajustada = ,156)

**Anexo 31. ANOVA de AT a las 96 horas post-refrigeración**

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: AT_96h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	20,916 ^a	3	6,972	,288	,834
Interceptación	37856,311	1	37856,311	1561,247	,000
FENOTIPO * EDAD	5,000E-06	1	5,000E-06	,000	1,000
EDAD	,453	1	,453	,019	,893
FENOTIPO	20,463	1	20,463	,844	,372
Error	387,960	16	24,247		
Total	38265,186	20			
Total corregido	408,875	19			

a. R al cuadrado = ,051 (R al cuadrado ajustada = -,127)

Anexo 32. ANOVA de AC a las 96 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: AC_96h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	63,286 ^a	3	21,095	1,131	,366
Interceptación	3209,311	1	3209,311	172,039	,000
FENOTIPO * EDAD	,453	1	,453	,024	,878
EDAD	49,204	1	49,204	2,638	,124



FENOTIPO	13,629	1	13,629	,731	,405
Error	298,473	16	18,655		
Total	3571,070	20			
Total corregido	361,759	19			

a. R al cuadrado = ,175 (R al cuadrado ajustada = ,020)

Anexo 33. ANOVA de HOST a las 96 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: HOS_96h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	869,758 ^a	3	289,919	6,310	,005
Interceptación	4373,107	1	4373,107	95,179	,000
FENOTIPO * EDAD	148,840	1	148,840	3,239	,091
EDAD	104,425	1	104,425	2,273	,151
FENOTIPO	616,494	1	616,494	13,418	,002
Error	735,137	16	45,946		
Total	5978,003	20			
Total corregido	1604,895	19			

a. R al cuadrado = ,542 (R al cuadrado ajustada = ,456)

Anexo 34. Estadísticos de Shapiro-Wilk y Levene para verificación de normalidad y homogeneidad de datos respectivamente para las variables espermáticas epididimarias a las 192 horas post-refrigeración

Pruebas de normalidad			
Fenotipo	Shapiro-Wilk	Edad	Shapiro-Wilk



Variables de calidad		Estadístico			Sig.		Estadístico		
		Estadístico	gl	Sig.			Estadístico	gl	Sig.
MIP_192h	Criollo	0,670	10	0,000	Jóvenes	0,841	10	0,045	
	Mejorado	0,856	10	0,068	Adultos	0,721	10	0,002	
VE_192h	Criollo	0,943	10	0,591	Jóvenes	0,882	10	0,137	
	Mejorado	0,925	10	0,400	Adultos	0,955	10	0,730	
AT_192h	Criollo	0,862	10	0,081	Jóvenes	0,885	10	0,147	
	Mejorado	0,925	10	0,404	Adultos	0,844	10	0,049	
AC_192h	Criollo	0,973	10	0,916	Jóvenes	0,961	10	0,794	
	Mejorado	0,891	10	0,173	Adultos	0,974	10	0,926	
HOS_192h	Criollo	0,907	10	0,261	Jóvenes	0,922	10	0,375	
	Mejorado	0,949	10	0,655	Adultos	0,932	10	0,472	

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Prueba de homogeneidad de varianzas								
Variables de calidad	Fenotipo				Edad			
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.
MIP_192h	0,128	1	18	0,725	1,233	1	18	0,281
VE_192h	0,206	1	18	0,655	9,166	1	18	0,007
AT_192h	3,471	1	18	0,079	0,004	1	18	0,950
AC_192h	2,592	1	18	0,125	0,114	1	18	0,739
HOS_192h	1,254	1	18	0,278	0,441	1	18	0,515

**Anexo 35. ANOVA de MIP a las 192 horas post-refrigeración**

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: MIP_192h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	10,150 ^a	3	3,383	,391	,761
Interceptación	92,450	1	92,450	10,688	,005
FENOTIPO * EDAD	,450	1	,450	,052	,822
FENOTIPO	1,250	1	1,250	,145	,709
EDAD	8,450	1	8,450	,977	,338
Error	138,400	16	8,650		
Total	241,000	20			
Total corregido	148,550	19			

a. R al cuadrado = ,068 (R al cuadrado ajustada = -,106)

Anexo 36. ANOVA para VE a las 192 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: VE_192h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	80,194 ^a	3	26,731	2,143	,135
Interceptación	742,859	1	742,859	59,560	,000
FENOTIPO * EDAD	,005	1	,005	,000	,984
FENOTIPO	3,003	1	3,003	,241	,630
EDAD	77,185	1	77,185	6,188	,024
Error	199,560	16	12,472		



Total	1022,612	20
Total corregido	279,753	19

a. R al cuadrado = ,287 (R al cuadrado ajustada = ,153)

Anexo 37. ANOVA de AT a las 192 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente:	AT_192h				
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	38,811 ^a	3	12,937	,732	,548
Interceptación	40411,848	1	40411,848	2287,101	,000
FENOTIPO * EDAD	,318	1	,318	,018	,895
FENOTIPO	38,475	1	38,475	2,178	,159
EDAD	,018	1	,018	,001	,975
Error	282,711	16	17,669		
Total	40733,370	20			
Total corregido	321,522	19			

a. R al cuadrado = ,121 (R al cuadrado ajustada = -,044)

Anexo 38. ANOVA de AC a las 192 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente:	AC_192h				
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	27,119 ^a	3	9,040	1,030	,406
Interceptación	3796,390	1	3796,390	432,641	,000



UNIVERSIDAD DE CUENCA

FENOTIPO * EDAD	24,443	1	24,443	2,786	,115
FENOTIPO	2,211	1	2,211	,252	,623
EDAD	,465	1	,465	,053	,821
Error	140,399	16	8,775		
Total	3963,908	20			
Total corregido	167,518	19			

a. R al cuadrado = ,162 (R al cuadrado ajustada = ,005)

Anexo 39. ANOVA de HOS a las 192 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: HOS_192h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	226,160 ^a	3	75,387	1,795	,189
Interceptación	2008,008	1	2008,008	47,808	,000
FENOTIPO * EDAD	77,460	1	77,460	1,844	,193
FENOTIPO	62,587	1	62,587	1,490	,240
EDAD	86,112	1	86,112	2,050	,171
Error	672,025	16	42,002		
Total	2906,194	20			
Total corregido	898,186	19			

a. R al cuadrado = ,252 (R al cuadrado ajustada = ,112)



Anexo 40. Estadísticos de Shapiro-Wilk y Levene para verificación de normalidad y homogeneidad de datos respectivamente para las variables espermáticas epididimarias a las 360 horas post-refrigeración

Variables de calidad	Fenotipo	Prueba de Normalidad			Edad	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	Sig.		Estadístico	gl	Sig.
MIP_360h	Mejorado	0,687	10	0,001	Jóvenes	0,509	10	0,000
					Adultos	0,539	10	0,000
VE_360h	Criollo	0,955	10	0,732	Jóvenes	0,947	10	0,633
	Mejorado	0,966	10	0,849	Adultos	0,987	10	0,991
AT_360h	Criollo	0,875	10	0,113	Jóvenes	0,937	10	0,525
	Mejorado	0,951	10	0,682	Adultos	0,920	10	0,360
AC_360h	Criollo	0,923	10	0,379	Jóvenes	0,939	10	0,543
	Mejorado	0,963	10	0,816	Adultos	0,976	10	0,940
HOS_360h	Criollo	0,911	10	0,287	Jóvenes	0,951	10	0,685
	Mejorado	0,938	10	0,527	Adultos	0,978	10	0,951

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. MIP_360h es constante cuando Genotipo = Criollo. Se ha omitido.

b. Corrección de significación de Lilliefors

Variables de calidad	Prueba de homogeneidad de Levene								
	Fenotipo					Edad			
	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	Estadístico de Levene	df1	df2	Sig.	
MIP_360h	84,932	1	18	0,000	0,360	1	18	0,556	
VE_360h	0,069	1	18	0,796	0,924	1	18	0,349	
AT_360h	1,667	1	18	0,213	0,026	1	18	0,873	



AC_360h	0,000	1	18	0,994	2,998	1	18	0,100
HOS_360h	0,002	1	18	0,968	0,001	1	18	0,972

Anexo 41. ANOVA de MIP a las 360 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: MIP_360h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	16,600 ^a	3	5,533	1,729	,201
Interceptación	16,200	1	16,200	5,063	,039
FENOTIPO * EDAD	,200	1	,200	,063	,806
FENOTIPO	16,200	1	16,200	5,063	,039
EDAD	,200	1	,200	,063	,806
Error	51,200	16	3,200		
Total	84,000	20			
Total corregido	67,800	19			

a. R al cuadrado = ,245 (R al cuadrado ajustada = ,103)

Anexo 42. ANOVA para VE a las 360 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: VE_360h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	11,698 ^a	3	3,899	1,143	,362



Interceptación	157,866	1	157,866	46,291	,000
FENOTIPO * EDAD	,198	1	,198	,058	,813
FENOTIPO	7,333	1	7,333	2,150	,162
EDAD	4,168	1	4,168	1,222	,285
Error	54,564	16	3,410		
Total	224,129	20			
Total corregido	66,263	19			

a. R al cuadrado = ,177 (R al cuadrado ajustada = ,022)

Anexo 43. ANOVA de AT a las 360 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: AT_360h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	70,663 ^a	3	23,554	1,338	,297
Interceptación	43693,487	1	43693,487	2481,908	,000
FENOTIPO * EDAD	5,951	1	5,951	,338	,569
FENOTIPO	60,796	1	60,796	3,453	,082
EDAD	3,916	1	3,916	,222	,644
Error	281,677	16	17,605		
Total	44045,827	20			
Total corregido	352,340	19			

a. R al cuadrado = ,201 (R al cuadrado ajustada = ,051)

**Anexo 44. ANOVA de AC a las 360 horas post-refrigeración**

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: AC_360h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	17,895 ^a	3	5,965	,272	,845
Interceptación	2660,894	1	2660,894	121,233	,000
FENOTIPO * EDAD	2,054	1	2,054	,094	,764
FENOTIPO	9,758	1	9,758	,445	,514
EDAD	6,083	1	6,083	,277	,606
Error	351,178	16	21,949		
Total	3029,967	20			
Total corregido	369,073	19			

a. R al cuadrado = ,048 (R al cuadrado ajustada = -,130)

Anexo 45. ANOVA de HOS a las 360 horas post-refrigeración

Pruebas de efectos inter-sujetos					
Variable dependiente: HOS_360h					
Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	14,541 ^a	3	4,847	,148	,930
Interceptación	1736,130	1	1736,130	52,845	,000
FENOTIPO * EDAD	10,893	1	10,893	,332	,573
FENOTIPO	2,949	1	2,949	,090	,768



EDAD	,699	1	,699	,021	,886
Error	525,649	16	32,853		
Total	2276,320	20			
Total corregido	540,190	19			

a. R al cuadrado = ,027 (R al cuadrado ajustada = -,156)

Anexo 46. ANOVA para MIP en tiempo

		ANOVA ^a				
	MIP	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
0 hs	Entre grupos	2267,600	3	755,867	2,552	,092
	Dentro de grupos	4739,200	16	296,200		
	Total	7006,800	19			
2 hs	Entre grupos	962,600	3	320,867	,973	,430
	Dentro de grupos	5275,200	16	329,700		
	Total	6237,800	19			
24 hs	Entre grupos	1452,550	3	484,183	2,732	,078
	Dentro de grupos	2836,000	16	177,250		
	Total	4288,550	19			
48 hs	Entre grupos	586,950	3	195,650	1,479	,258
	Dentro de grupos	2116,000	16	132,250		
	Total	2702,950	19			
96 hs	Entre grupos	89,800	3	29,933	,462	,713
	Dentro de grupos	1037,200	16	64,825		
	Total	1127,000	19			



192 hs	Entre grupos	10,150	3	3,383	,391	,761
	Dentro de grupos	138,400	16	8,650		
	Total	148,550	19			
360 hs	Entre grupos	18,947	3	6,316	1,974	,161
	Dentro de grupos	48,000	15	3,200		
	Total	66,947	18			

Anexo 47. ANOVA para VE en tiempo

		ANOVA ^a				
	VE	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
0 hs	Entre grupos	299,504	3	99,835	,613	,616
	Dentro de grupos	2605,621	16	162,851		
	Total	2905,124	19			
2 hs	Entre grupos	108,267	3	36,089	,385	,765
	Dentro de grupos	1498,842	16	93,678		
	Total	1607,109	19			
24 hs	Entre grupos	179,567	3	59,856	,445	,724
	Dentro de grupos	2152,106	16	134,507		
	Total	2331,673	19			
48 hs	Entre grupos	830,457	3	276,819	3,412	,043
	Dentro de grupos	1298,208	16	81,138		
	Total	2128,665	19			
96 hs	Entre grupos	401,401	3	133,800	2,175	,131
	Dentro de grupos	984,448	16	61,528		
	Total					



	Total	1385,849	19			
192 hs	Entre grupos	80,194	3	26,731	2,143	,135
	Dentro de grupos	199,560	16	12,472		
	Total	279,753	19			
360 hs	Entre grupos	11,859	3	3,953	1,090	,383
	Dentro de grupos	54,386	15	3,626		
	Total	66,245	18			

Anexo 48. ANOVA para AT en tiempo

		ANOVA ^a				
	AT	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
0 hs	Entre grupos	423,027	3	141,009	5,609	,008
	Dentro de grupos	402,234	16	25,140		
	Total	825,261	19			
2 hs	Entre grupos	240,882	3	80,294	2,572	,090
	Dentro de grupos	499,405	16	31,213		
	Total	740,287	19			
24 hs	Entre grupos	123,516	3	41,172	1,340	,297
	Dentro de grupos	491,709	16	30,732		
	Total	615,226	19			
48 hs	Entre grupos	19,108	3	6,369	,350	,790
	Dentro de grupos	290,952	16	18,184		
	Total	310,060	19			
96 hs	Entre grupos	20,916	3	6,972	,288	,834
	Dentro de grupos					



	Dentro de grupos	387,960	16	24,247		
	Total	408,875	19			
192 hs	Entre grupos	38,811	3	12,937	,732	,548
	Dentro de grupos	282,711	16	17,669		
	Total	321,522	19			
360 hs	Entre grupos	72,050	3	24,017	1,287	,315
	Dentro de grupos	279,859	15	18,657		
	Total	351,908	18			

Anexo 49. ANOVA para AC en tiempo

		ANOVA ^a				
	AC	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
0 hs	Entre grupos	358,614	3	119,538	9,278	,001
	Dentro de grupos	206,134	16	12,883		
	Total	564,748	19			
2 hs	Entre grupos	207,351	3	69,117	1,967	,160
	Dentro de grupos	562,095	16	35,131		
	Total	769,445	19			
24 hs	Entre grupos	33,715	3	11,238	,717	,556
	Dentro de grupos	250,699	16	15,669		
	Total	284,414	19			
48 hs	Entre grupos	573,809	3	191,270	12,294	,000
	Dentro de grupos	248,921	16	15,558		
	Total	822,730	19			



96 hs	Entre grupos	63,286	3	21,095	1,131	,366
	Dentro de grupos	298,473	16	18,655		
	Total	361,759	19			
192 hs	Entre grupos	27,119	3	9,040	1,030	,406
	Dentro de grupos	140,399	16	8,775		
	Total	167,518	19			
360 hs	Entre grupos	21,342	3	7,114	,379	,769
	Dentro de grupos	281,277	15	18,752		
	Total	302,620	18			

Anexo 50. ANOVA para HOS en tiempo

		ANOVA ^a				
HOS-Test		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
0 hs	Entre grupos	114,083	3	38,028	,619	,613
	Dentro de grupos	982,898	16	61,431		
	Total	1096,981	19			
2 hs	Entre grupos	347,654	3	115,885	3,519	,039
	Dentro de grupos	526,868	16	32,929		
	Total	874,522	19			
24 hs	Entre grupos	195,344	3	65,115	1,006	,416
	Dentro de grupos	1035,187	16	64,699		
	Total	1230,532	19			
48 hs	Entre grupos	126,942	3	42,314	1,732	,201
	Dentro de grupos	390,867	16	24,429		
	Total	517,809	19			



UNIVERSIDAD DE CUENCA

96 hs	Entre grupos	869,758	3	289,919	6,310	,005
	Dentro de grupos	735,137	16	45,946		
	Total	1604,895	19			
192 hs	Entre grupos	226,160	3	75,387	1,795	,189
	Dentro de grupos	672,025	16	42,002		
	Total	898,186	19			
360 hs	Entre grupos	42,504	3	14,168	,479	,702
	Dentro de grupos	443,677	15	29,578		
	Total	486,181	18			

Anexo 51. Hoja de Campo para evaluación cuali-cuantitativa de espermatozoides epididimarios recién recuperados

EVALUACION DE ESPERMATOZOIDEOS EPIDIDIMARIOS RECIEN RECUPERADOS: EN FRESCO								
No.	ANIMAL	FECHA	CE	MIP	VE	AT	AC	HOS
1	1CJ							
2	2CJ							
3	3CJ							
4	4CJ							
5	5CJ							
6	1CA							
7	2CA							
8	3CA							
9	4CA							
10	5CA							
11	1MJ							
12	2MJ							
13	3MJ							
14	4MJ							
15	5MJ							
16	1MA							
17	2MA							
18	3MA							
19	4MA							
20	5MA							

**Anexo 52. Hoja de Campo para evaluación cualitativa de espermatozoides epididimarios refrigerados**

EVALUACION DE ESPERMATOZOIDEOS EPIDIDIMARIOS: EN REFRIGERACIÓN.....HORAS							
No.	ANIMAL	FECHA	MIP	VE	AT	AC	HOS
1	1CJ						
2	2CJ						
3	3CJ						
4	4CJ						
5	5CJ						
6	1CA						
7	2CA						
8	3CA						
9	4CA						
10	5CA						
11	1MJ						
12	2MJ						
13	3MJ						
14	4MJ						
15	5MJ						
16	1MA						
17	2MA						
18	3MA						
19	4MA						
20	5MA						

**Anexo 53. Hoja de Campo para evaluación cualitativa de espermatozoides epididimarios congelados**

EVALUACION DE ESPERMATOZOIDES EPIDIDIMARIOS: EN CONGELACIÓN							
No.	ANIMAL	FECHA	MIP	VE	AT	AC	HOS
1	1CJ						
2	2CJ						
3	3CJ						
4	4CJ						
5	5CJ						
6	1CA						
7	2CA						
8	3CA						
9	4CA						
10	5CA						
11	1MJ						
12	2MJ						
13	3MJ						
14	4MJ						
15	5MJ						
16	1MA						
17	2MA						
18	3MA						
19	4MA						
20	5MA						

Anexo 54. Fotos de la Investigación



Selección y Anestesia

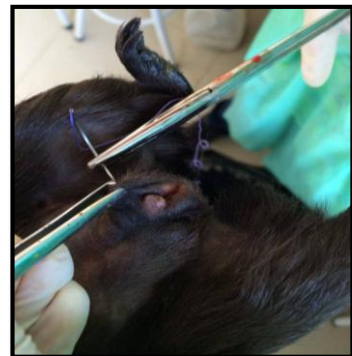


Tricotomía

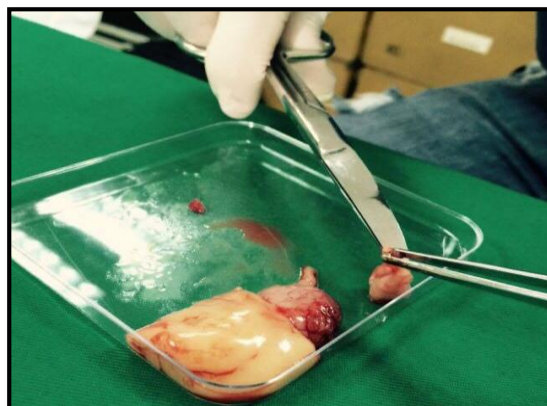
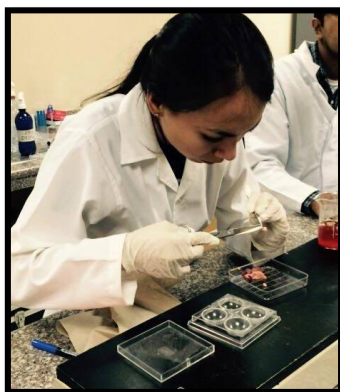


Embrocado

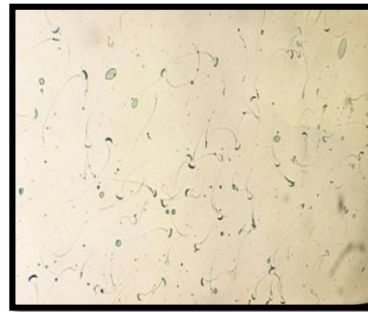
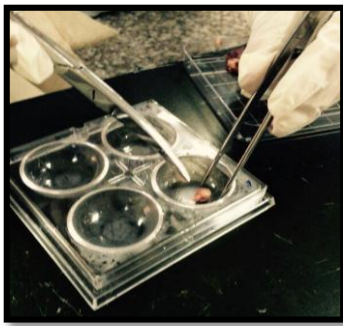
Preparación Pre-Quirúrgica



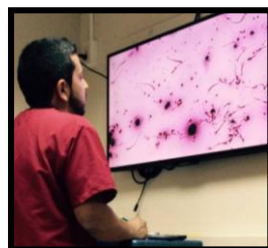
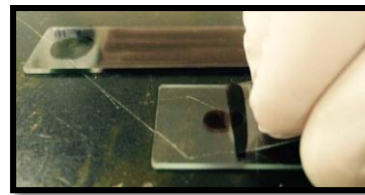
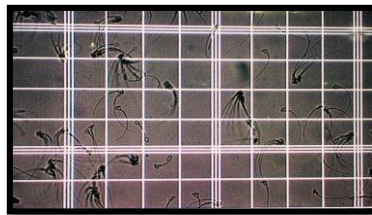
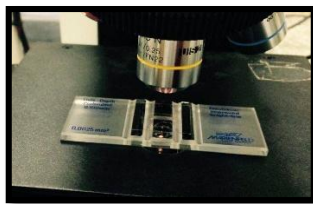
Cirugía: Hemicastración



Obtención de Epidídimo



Obtención de Espermatozoides



Evaluación Espermática