



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

MAESTRÍA EN REPRODUCCIÓN ANIMAL

**“EVALUACIÓN CUALICUANTITATIVA Y CONGELABILIDAD DEL SEMEN DE
CARNEROS EN DOS TEMPORADAS EN LA SIERRA SUR DEL ECUADOR”**

Tesis de grado previo a la obtención del título
de Magister en Reproducción Animal.

AUTOR: Diana Lucía Farfán Patiño. MVZ.

C.I. 0104279740

DIRECTOR: Dr. Ricardo Horacio Alberio, PhD

C.I. AAA558960

CUENCA, ECUADOR

2017

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la producción cuali-cuantitativa y la congelabilidad del semen de carneros provenientes de regiones templadas en dos temporadas (oct-nov y Jun-jul) en la sierra sur ecuatoriana. Ya que en el Ecuador, por su ubicación geográfica, no se presentan variaciones del fotoperíodo (que son los principales reguladores de la función reproductiva del ovino en regiones templadas), se realizó el estudio del efecto de dos temporadas, separadas por seis meses entre uno y otro estudio. Para caracterizar el desempeño de los reproductores en cada una de estas temporadas se determinaron valores físicos que condicionan la función reproductiva (peso, condición corporal, diámetro testicular), variables seminales cuantitativas (volumen, concentración, cantidad total de espermatozoides), y cualitativas (motilidad masal, motilidad progresiva, tasa de vivos, tasa de anormales, funcionalidad de membrana y la resistencia a la congelación). Se evaluaron un total de 36 muestras de semen (18 en cada temporada), obtenidas de 3 carneros de raza Corriedale, con temperamento dócil, entre 3 y 4 años de edad, clínicamente sanos y bajo las mismas condiciones sanitarias y de manejo. Se observaron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) en el peso, condición corporal y diámetro testicular, según la temporada de estudio, presentando los mayores valores en la temporada 2 (jun-jul). Con relación a las variables seminales cuantitativas (volumen, concentración y cantidad total de espermatozoides), se obtuvieron diferencias entre las dos temporadas de colecta, siendo los mayores valores ($p < 0,05$) los observados como producto de la temporada 1 oct-nov). En las variables cualitativas no se observaron diferencias entre temporadas de estudio. Finalmente, la evaluación de semen congelado-descongelado en las dos temporadas estudiadas, no presentó diferencias estadísticas significativas. Se concluye que estos reproductores se han adaptado muy bien a su nuevo ambiente mostrando producción seminal, sobre todo cualitativa, similar en las temporadas estudiadas con lo que sería posible su utilización como tales, en cualquier momento del año.

Palabras Clave: semen- calidad- cantidad- congelabilidad- temporada- carnero.



ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the qualitative-quantitative production and the freezability of semen from rams coming from temperate regions, in two seasons (oct-nov and June-july) in the southern Ecuadorian highlands. In Ecuador, due to its geographic location, there are no variations of the photoperiod (which are the main regulators of the reproductive function of sheep in temperate regions). The study of the effect was carried out in two seasons. To characterize the performance of these males in each of these seasons, we determined first some physical characteristics that affect reproductive function (weight, body condition, testicular diameter), and quantitative (volume, concentration, total amount of spermatozoa) and qualitative seminal variables (mass motility, progressive motility, live rate, abnormal rate, membrane functionality, and freezability). A total of 36 semen samples (18 in each season) were obtained from three Corriedale rams introduced into the country in previous years. All of these, with a docile temperament, between 3 and 4 years of age, clinically healthy and under the same sanitary and management conditions. Significant statistical differences ($p < 0.05$) were observed in body weight, body condition, and testicular diameter. The highest values were obtained in season two (june-july). Regarding the quantitative seminal variables (volume, concentration and total amount of sperm), differences were obtained between the two studied seasons, with the highest values ($p < 0.05$) being observed in season one (oct-nov). In the qualitative variables, there were no differences observed between the two seasons. Finally, the evaluation of frozen-unfrozen semen of the two studied seasons did not show significant statistical differences. It is concluded that these males have adapted very well to the new environmental conditions. This is particularly true in qualitative seminal production that was similar in both seasons. Because of this, it would be possible to use them as breeders at any time of the year.

Keywords: semen- quality- quantity- freezability- seasons- rams



Contenido

| | |
|---|----|
| RESUMEN | 2 |
| ABSTRACT | 3 |
| LISTA DE FIGURAS | 8 |
| LISTA DE CUADROS | 8 |
| Cuadro 13. Prueba de Mann-Whitney..... | 9 |
| DERECHOS DE AUTOR | 10 |
| CLAUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL..... | 11 |
| AGRADECIMIENTOS | 12 |
| DEDICATORIA..... | 13 |
| ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA..... | 14 |
| CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN | 15 |
| CAPITULO II: OBJETIVOS E HIPÓTESIS..... | 17 |
| Hipótesis: | 17 |
| Objetivo General | 17 |
| Objetivos Específicos..... | 17 |
| CAPITULO III: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA..... | 18 |
| 3.1. Fisiología espermática..... | 18 |
| 3.1.1. Espermatogénesis..... | 18 |
| 3.1.2. Células espermáticas | 19 |
| 3.2. Eyaculado..... | 20 |
| 3.3. Comportamiento reproductivo de carnero | 20 |
| 3.4. Factores asociados a la fertilidad del macho..... | 21 |
| 3.4.1. Diámetro testicular..... | 21 |
| 3.4.2. Condición corporal del carnero..... | 22 |
| 3.5. Métodos de extracción de semen..... | 22 |
| 3.5.1. Vagina Artificial..... | 22 |
| 3.5.2. Electroeyaculador..... | 23 |
| 3.6. Entrenamiento del carnero para la extracción de semen en vagina artificial | 23 |
| 3.7. Evaluación del semen | 23 |
| 3.7.1. Evaluación de semen fresco..... | 23 |
| 3.7.1.1. Color..... | 23 |
| 3.7.1.2. Volumen | 24 |



| | |
|---|----|
| 3.7.1.3. Motilidad | 24 |
| 3.7.1.3.1. Motilidad Masal..... | 24 |
| 3.7.1.3.2. Motilidad Individual | 25 |
| 3.7.1.4. Concentración | 25 |
| 3.7.1.5. Morfología espermática | 25 |
| 3.7.2. Criopreservación de semen..... | 26 |
| 3.7.2.1. Proceso de Criopreservación | 27 |
| 3.7.3. Diluyente de semen | 27 |
| 3.7.4. Evaluación de semen congelado – descongelado..... | 28 |
| 3.7.4.1. Motilidad Individual | 28 |
| 3.7.4.2. Morfología espermática | 28 |
| 3.7.4.3. Pruebas de funcionalidad espermática..... | 28 |
| CAPITULO IV: MATERIALES Y MÉTODOS..... | 30 |
| 4.1. Materiales | 30 |
| 4.1.1. Materiales Biológicos..... | 30 |
| 4.1.2. Materiales Físicos..... | 30 |
| 4.1.2.1. Materiales de Campo. | 30 |
| 4.1.2.2. Materiales de Laboratorio | 30 |
| 4.1.3. Materiales Químicos | 31 |
| 4.2. Ubicación geográfica | 31 |
| 4.3. Caracterización de la unidad de análisis | 32 |
| 4.3.1. Selección de carneros | 32 |
| 4.3.2. Eyaculados | 32 |
| 4.3.3. Semen descongelado | 33 |
| 4.4. Metodología..... | 33 |
| 4.4.1. Adiestramiento..... | 34 |
| 4.4.2. Valoración de diámetro testicular, condición corporal y peso | 35 |
| 4.4.3. Extracción de semen mediante el uso de vagina artificial | 35 |
| 4.4.4. Evaluación de semen fresco..... | 35 |
| 4.4.5. Pruebas Macroscópicas | 35 |
| 4.4.5.1. Color..... | 35 |
| 4.4.5.2. Volumen | 36 |
| 4.4.6. Pruebas Microscópicas | 36 |



| | |
|--|----|
| 4.4.6.1. Concentración espermática | 36 |
| 4.4.6.2. Motilidad Masal..... | 36 |
| 4.4.6.3. Motilidad Individual | 36 |
| 4.4.6.4. Vitalidad y morfología espermática..... | 36 |
| 4.4.7. Diluyente..... | 37 |
| 4.4.8. Preparación de pajuelas | 38 |
| 4.4.9. Congelación..... | 38 |
| 4.4.10. Evaluación de pajuelas descongeladas..... | 39 |
| 4.4.10.1. Motilidad individual progresiva | 39 |
| 4.4.10.2. Vitalidad y Morfología espermática | 39 |
| 4.4.10.3. Test de Host | 39 |
| 4.5. Análisis estadístico | 39 |
| 5.1. Peso, condición corporal y diámetro testicular | 41 |
| 5.2. Evaluación cuali y cuantitativa del semen fresco..... | 41 |
| 5.2.1. Descriptivo general de la producción de semen en ambas temporadas | 41 |
| 5.2.2. Variables seminales cuantitativas obtenidas en ambas temporadas en estudio | 42 |
| 5.2.3. Variables seminales cualitativas obtenidas en ambas temporadas en estudio | 43 |
| 5.2.4. Variables seminales cualitativas obtenidas en semen congelado-descongelado en ambas temporadas en estudio | 43 |
| CAPITULO VI: DISCUSIÓN | 45 |
| 6.1. Peso, condición corporal y diámetro testicular. | 45 |
| 6.2. Evaluación cuali y cuantitativa del semen fresco..... | 47 |
| 6.2.2. Variables seminales cualitativas..... | 48 |
| 6.3. Evaluación cualitativa del semen congelado - descongelado..... | 49 |
| CAPITULO VII: CONCLUSIONES | 50 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 51 |
| ANEXOS | 59 |
| Anexo 1. Descriptivos Generales | 59 |
| Anexo 3. UNIFORMIDAD DE LAS VARIANZAS | 66 |
| ANEXO 4. Prueba de Mann-Whitney | 67 |
| Cuadro 13 - Prueba de Mann-Whitney..... | 67 |



| | |
|--|----|
| Anexo 5. Descriptivos Generales condición corporal, diámetro testicular, y peso por temporadas. | 68 |
| Anexo 6. Análisis de varianza (ADEVA) condición corporal diámetro testicular, y peso por temporadas..... | 69 |



LISTA DE FIGURAS

Figura 1. El origen clonal de las células germinales masculinas (Sadler, 2002).

Figura 2. Esquema de un espermatozoide (Hidalgo et al., 2005).

Figura 3. Espermatozoides ovinos con reacción positiva al Test de Hos (Santiani et al., 2004).

Figura 4. Fin de temporada de lluvia en Ecuador. Coincide con invierno en regiones templadas hemisferio sur y fin de temporada sexual. Fin de temporada seca en Ecuador. Coincide con fin de primavera-verano en regiones templadas hemisferio sur e inicio de temporada sexual (López et al., 2011).

Figura 5. Espermatozoides con tinción de eosina – nigrosina.

Figura 6. Temporada 2. Fin de temporada de lluvia en Ecuador. Coincide con invierno en regiones templadas hemisferio sur y fin de temporada sexual. Temporada 1. Fin de temporada seca en Ecuador. Coincide con fin de primavera en regiones templadas hemisferio sur e inicio de temporada sexual.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Peso, condición corporal y diámetro testicular de los carneros en estudio en ambas temporadas evaluadas.

Cuadro 2. Variables seminales totales obtenidas a partir de los carneros en estudio.

Cuadro 3. Variables seminales cuantitativas según temporada obtenidas a partir de los carneros en estudio.

Cuadro 4. Variables seminales cualitativas según temporada obtenidas a partir de los carneros en estudio (media \pm DE).

Cuadro 5. Valores cuali-cuantitativos individuales de semen fresco en ambas temporadas (Media \pm DE).

Cuadro 6. Variables seminales cualitativas obtenidas en semen congelado-descongelado en ambas temporadas en estudio.



Cuadro 7. Descriptivos Generales Variables Cuantitativas y Cualitativas.

Cuadro 8. Descriptivos Generales Variables Cuantitativas y Cualitativas temporada

1.

Cuadro 9. Descriptivos Generales Variables Cuantitativas y Cualitativas temporada

2.

Cuadro 10. Correlación No Paramétricas.

Cuadro 11. ANOVA variables cuali – cuantitativas.

Cuadro 12. Prueba de homogeneidad de varianza.

Cuadro 13. Prueba de Mann-Whitney.

Cuadro 14. Descriptivos Generales condición corporal.

Cuadro 15. Descriptivos Generales diámetro testicular.

Cuadro 16. Descriptivos Generales peso.

Cuadro 17. Análisis de varianza (ADEVA) condición corporal, diámetro testicular.

Cuadro 18. Análisis de varianza (ADEVA) peso.

Cuadro 19. Análisis de varianza (ADEVA) condición corporal.

Cuadro 20. Valores cuali-cuantitativos individuales de semen fresco en ambas temporadas (Media \pm DE).



Universidad de Cuenca
Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Diana Lucía Farfán Patiño en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **“EVALUACIÓN CUALICUANTITATIVA Y CONGELABILIDAD DEL SEMEN DE CARNEROS EN DOS TEMPORADAS EN LA SIERRA SUR DEL ECUADOR”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 28 de septiembre de 2017.

Diana Lucía Farfán Patiño

C.I.: 0104279740



Universidad de Cuenca
Cláusula de Propiedad Intelectual

Diana Lucía Farfán Patiño, autora del trabajo de titulación **“EVALUACIÓN CUALICUANTITATIVA Y CONGELABILIDAD DEL SEMEN DE CARNEROS EN DOS TEMPORADAS EN LA SIERRA SUR DEL ECUADOR”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 28 de septiembre de 2017.

Diana Lucía Farfán Patiño

C.I: 0104279740



AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ricardo Alberio. PhD, un especial y sincero agradecimiento por permitirme realizar el presente trabajo de tesis bajo su dirección. Su apoyo incondicional, confianza en mi trabajo, y su capacidad para guiar mis ideas, ha sido el pilar fundamental para poder llevar a cabo este trabajo de tesis.

A Freddy Quezada Álvarez, gracias por ser el impulso para continuar superándome, gracias por tu apoyo y paciencia, por compartir a mi lado los momentos más difíciles y felices de mi vida.

A mis padres, que han sido un gran ejemplo de superación e importante apoyo en todo momento desde el inicio de mis estudios.

Al personal docente y administrativo de la Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, en especial al MVZ. Daniel Argudo Garzón, responsable del Laboratorio de Biotecnología de la Reproducción Animal y al Dr. Guillermo Guevara, docente de la Facultad.

Diana Lucía



DEDICATORIA

A Dios por bendecirme cada día y permitirme lograr mis objetivos y a Freddy mi compañero de vida.

Diana Lucía.



ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

CC: Condición corporal

DT: Diámetro testicular

EE: Electroeyaculador

FSH: Hormona Folículo estimulante

GnRH: Hormona Gonadotropina

LH: Hormona Luteinizante

MM: Motilidad Masal

MI: Motilidad Individual

VA: Vagina Artificial

DE: Desviación Estándar



CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Los ovinos constituyen una especie en la que los animales poseen una estacionalidad reproductiva desarrollada como un mecanismo de adaptación ante la influencia de las fluctuaciones estacionales del clima y disponibilidad de alimento (Ortavant et al., 1985). Como mayoritariamente estas fluctuaciones están condicionadas por las modificaciones del fotoperíodo, las mismas son más marcadas en latitudes lejanas al Ecuador donde el fotoperíodo muestra el mayor rango de variaciones. Estas fluctuaciones de la función reproductiva permiten que los ovinos tengan su época de nacimiento en los períodos más favorables del año permitiendo o haciendo más fácil la multiplicación de la especie. Esta situación genera a su vez la presencia de una estación reproductiva, en la que las ovejas ciclan y ovulan, y los carneros presentan su máxima producción de semen y su mayor libido, y una estación de anestro o reposo reproductivo en la que las hembras no presentan ciclos estrales y los machos disminuyen su nivel de actividad sexual. En el caso de los carneros, las variaciones de la producción de semen y de la libido están a su vez reguladas por las variaciones anuales en las concentraciones de las gonadotropinas (LH y FSH) y de la testosterona. Como se mencionó anteriormente, el fotoperíodo es la principal señal ambiental que determina el patrón reproductivo estacional, regulada por las horas luz de cada día (Ungerfeld, 2015). Sin embargo, existen varios factores que modulan el efecto del fotoperíodo sobre los animales, tales como factores endógenos (raza, edad, sexo), y factores exógenos como la nutrición, siendo este uno de los factores con mayor importancia en la estacionalidad reproductiva. La nutrición modula la función reproductiva en las regiones alejadas al Ecuador donde el fotoperíodo es el condicionador de la misma (Forcada et al., 2009; Tufarelli et al. 2011; Braden et al. 1974; Al-Ghalban et al. 2004). En la región Ecuatorial donde no hay variaciones de la luz, el nivel nutricional, afectado por el nivel de lluvias, podría ser un factor determinante en la función reproductiva.

En zonas que se encuentran en torno a la línea ecuatorial y regiones tropicales la variación estacional del fotoperíodo es menor o no existe, permitiendo a los ovinos adaptarse a estas condiciones y reproducirse en cualquier época del año (Rosa et al., 2003). Cuando los ovinos de regiones templadas son trasladados a regiones



ecuatoriales (12 horas de luz por día y amplitud de las variaciones térmicas poco marcadas), las hembras presentan ciclos sexuales con intervalos irregulares y no hay una manifiesta estación de anestro (Jansen & Jackson, 1993).

Sin embargo no existe información en cuanto a los efectos de las condiciones ecuatoriales (la temporada y / o el fotoperiodo), sobre las características testiculares y el semen en los carneros. Más aún, no existe información sobre este tipo de carneros provenientes de zonas templadas cuando son trasladados a zona ecuatorial donde tampoco hay efectos de temperatura como ocurre en las tierras altas que en promedio oscilan entre 10 y 20°C aunque pueda haber temperaturas más bajas en algunos momentos del año. La mayoría de las investigaciones realizadas se han llevado a cabo en regiones templadas, motivo por el cual hay incertidumbre en cuanto a la capacidad de la memoria de los carneros provenientes de estas regiones para producir semen de buena calidad durante todo el año (Boland et al., 1985).

El presente trabajo tiene como finalidad proporcionar información sobre esta situación basado en la siguiente pregunta

- ¿Carneros de raza tipo Corriedale (provenientes de regiones templadas) trasladados a una región ecuatorial tienen un comportamiento reproductivo similar a lo largo del año?

La respuesta a esta pregunta permitirá brindar una herramienta útil para el manejo a los criadores de ovinos de estas regiones así como constituirá un aporte científico sobre el comportamiento reproductivo de esta especie.



CAPITULO II: OBJETIVOS E HIPÓTESIS

De acuerdo a lo planteado previamente se postuló la siguiente hipótesis

Hipótesis: La actividad sexual de los ovinos en la sierra sur del Ecuador presenta variaciones debido a factores ambientales como las lluvias o la seca.

Para validar esta hipótesis se plantearon los siguientes objetivos, general y específicos

Objetivo General

Evaluar la producción cuali-cuantitativa y la congelabilidad del semen de carneros en dos estaciones contrastantes en la sierra sur ecuatoriana.

Objetivos Específicos

1. Determinar si existen variaciones de la producción y calidad seminal en dos temporadas (invierno y verano).
2. Evaluar la congelabilidad del semen obtenido en las mismas temporadas contrastantes.

CAPITULO III: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1. Fisiología espermática

3.1.1. Espermatogénesis

La espermatogénesis es el proceso mediante el cual se desarrollan los gametos masculinos, tiene lugar en la pubertad y se lleva a cabo en los túbulos seminíferos de los testículos aproximadamente a los cinco meses de edad de los carneros alcanzando su potencial fertilizante pocos meses después (Arthur et. al., 1991). Las células germinales primordiales mediante mitosis dan origen a los espermatozonios, que son de dos tipos A y B. Las espermatozonias tipo A se encargan de dividirse y dan origen a espermatozonias tipo B que van a formar espermatozitos primarios. Las descendientes de las espermatozonias tipo B son las que entran a la primera división meiótica duplicando su material genético y resultando en espermatozitos primarios (Fig. 1); al completarse la primera división meiótica el resultado son dos espermatozitos secundarios. Por cada espermatozito secundario que entra a meiosis II se obtienen dos espermátidas, que madurarán para formar espermatozoides (Sadler, 2002).

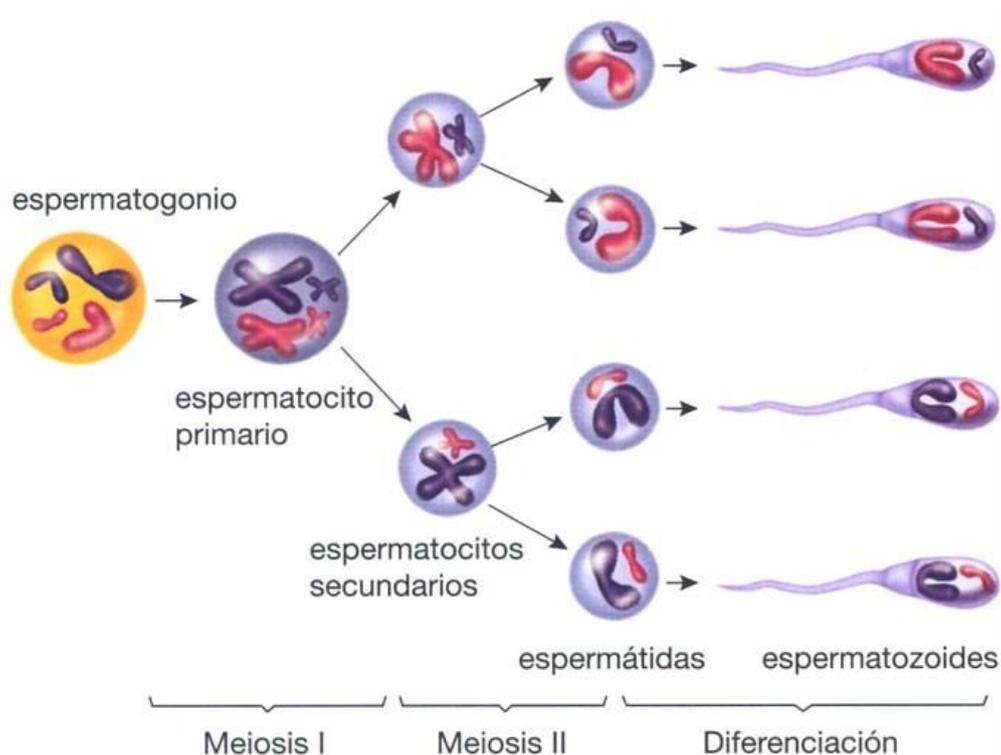


Figura 1. El origen clonal de las células germinales masculinas (Sadler, 2002).

3.1.2. Células espermáticas

Los espermatozoides son células haploides cuya única función es la fecundación; para poder cumplir con el objetivo los espermatozoides deben iniciar y mantener el metabolismo para producir energía, motilidad progresiva y enzimas esenciales acrosomales para poder ingresar al ovocito. La célula espermática está estructurada por cabeza, cuello, pieza intermedia y cola (Fig. 2). En la cabeza se encuentra el núcleo compuesto por cromatina que contiene el material genético, los 2/3 de la cabeza se encuentra cubierto por el acrosoma. El cuello tiene como función conectar la pieza intermedia con la cabeza, en la pieza intermedia se encuentra el anoxema; y la cola compuesta por una pieza principal y otra terminal. La membrana plasmática cubre toda la célula espermática, permanece intacta con excepción del acrosoma durante la reacción acrosómica, como respuesta a la sensibilidad celular (Plamas, 2008).

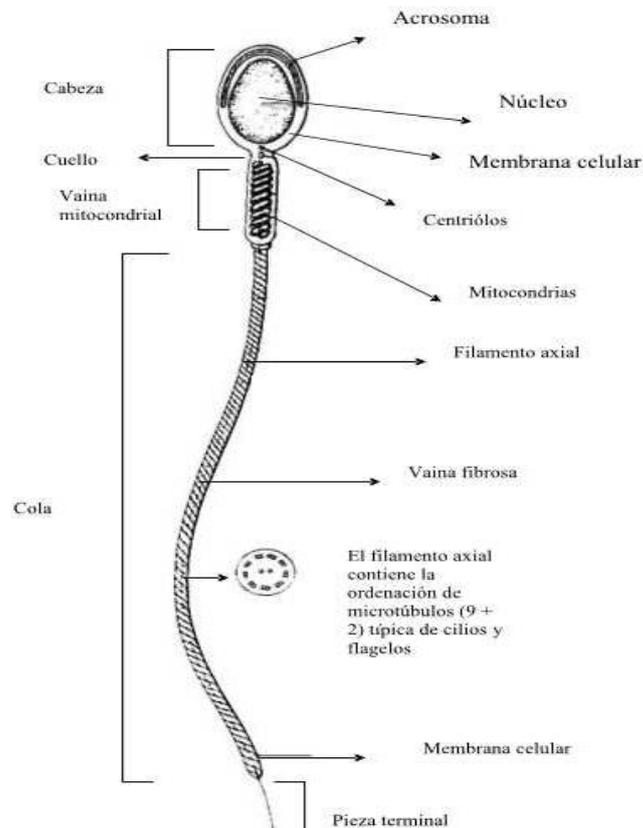


Figura 2. Esquema de un espermatozoide (Hidalgo et al., 2005).



3.2. Eyaculado

De acuerdo a Simonetti et al. (2014) la eyaculación tiene lugar con la aparición de la libido o deseo sexual en el carnero siendo responsable la testosterona. El eyaculado del carnero presenta las siguientes características:

- Color blanco lechoso o lechoso pálido.
- pH: 6.7 a 6.9.
- Volumen: entre 0.8 a 1.2 ml (depende de la raza).
- Elevada concentración de espermatozoides: 2.000 a 6.000 millones de espermatozoides/ ml de eyaculado.

3.3. Comportamiento reproductivo de carnero

Los ovinos son por lo general reproductores estacionales, lo que involucra la presencia de cambios en su fisiología reproductiva determinando la aparición de una estación reproductiva muy marcada, en el que las ovejas ciclan y los carneros presentan actividad reproductiva, y una estación de anestro, en el que las hembras no ciclan y los machos disminuyen significativamente sus niveles de actividad sexual. Este comportamiento de la reproducción ocasiona que los partos tengan lugar a final del invierno y primavera permitiendo contar con las condiciones más favorables para el sustento de la lactación y la supervivencia de las crías (Ungerfeld, 2016). Dicho comportamiento está regulado por el fotoperiodo, que es la principal señal ambiental, que determina el patrón reproductivo estacional, siendo el indicador más confiable de la época de año, permitiendo a los animales establecer el tiempo adecuado para su reproducción (Quintero et al., 2003).

Los carneros incrementan su libido durante los días cortos, concordando con el reinicio de la actividad ovárica de la oveja. La información fotoperiódica es percibida por la retina del ojo y a través del nervio óptico hacia el núcleo supraquiasmático, la señal es transportada al núcleo paraventricular y a la médula espinal, finalmente la señal llega a la glándula pineal, donde el estímulo nervioso se convierte en estímulo hormonal, sintetizando y secretando melatonina en la sangre durante las horas de oscuridad. La melatonina en los carneros considerados reproductores de días cortos; estimula la liberación de GnRH, originando la secreción de gonadotropinas y



de la actividad gonadal (Orihuela, 2014). Los carneros presentan variaciones durante el año de concentraciones de LH, FSH y testosterona generando importantes cambios cualitativos y cuantitativos en la producción de semen (Chemineau, 1993). Según Folch (2000), el carnero presenta alteraciones reproductivas en primavera, relacionadas a la disminución de liberación de gonadotropinas, rendimiento de las divisiones celulares, diámetro testicular, calidad del semen y capacidad para ser congelado. La disminución de liberación de testosterona se ve reflejada en la baja actividad y comportamiento sexual.

Ungerfeld, (2016), señala que el patrón estacional está vinculado a la latitud y condiciones del lugar donde se desarrollaron, ya que en latitudes bajas y más cercanas a la línea ecuatorial la presencia de estacionalidad reproductiva es inferior, incluso existiendo razas de ovinos en que a lo largo del año no presentan cambios en la actividad reproductiva.

3.4. Factores asociados a la fertilidad del macho

Para la selección de los reproductores, además de las características zootécnicas como raza, calidad de la carcasa y peso corporal, se debe destacar la evaluación del estado reproductivo que demuestre el buen estado de los órganos reproductores, la capacidad sexual, capacidad de producir espermatozoides. Una mejor capacidad reproductiva se adquiere con la edad, adquiriendo mayor peso, diámetro testicular (DT), calidad de semen y cambios en los perfiles hormonales (Pérez et al., 2014).

3.4.1. Diámetro testicular

El Diámetro testicular (DT) es un indicador del potencial fecundante de un macho, por tal motivo la técnica de medición de la circunferencia escrotal es utilizada como un criterio de selección de sementales (Folch, 2000). Esta técnica ha sido utilizada en campo como indicador de la capacidad reproductiva y espermática en carneros y toros. Se ha determinado que la circunferencia escrotal está relacionada al peso corporal, raza y edad del animal. También se ha señalado que una fertilidad más alta, así como un menor número de espermatozoides anormales ha sido observado en animales con mayor circunferencia escrotal (Celis et al., 1987).

De acuerdo a Folch (2000), la producción espermática está relacionada al volumen testicular; un carnero produce aproximadamente 20 millones de espermatozoides



por gramo de testículo diariamente. El tamaño del testículo puede ser medido con un orquímetro o midiendo el diámetro de la circunferencia escrotal.

3.4.2. Condición corporal del carnero

La condición corporal (CC), es un indicador subjetivo del estado físico y nutricional del carnero mediante la palpación de la columna vertebral y los procesos lumbares y por encima de los riñones, sintiendo la prominencia de las estructuras óseas, músculo y grasa de cobertura. La CC es calificada dentro de una escala subjetiva de 1 (animales muy delgados) a 5 (animales con engrosamiento excesivo), con valores intermedios de 0.5 relacionados a la estimación del desarrollo muscular y engrosamiento, la diferencia entre cada punto es de aproximadamente 7 kilos. La CC ideal para carneros es entre 3 a 4 puntos (Banchemo et al., 2005).

3.5. Métodos de extracción de semen

3.5.1. Vagina Artificial

La técnica de extracción de semen tiene gran importancia ya que determina la cantidad y calidad del mismo. La recolección de semen mediante vagina artificial (VA) permite imitar la vagina de una oveja, brindando estimulación mecánica y térmica dando lugar a la eyaculación del carnero (Cueto et al., 2011), obteniendo eyaculados con una adecuada concentración espermática además de brindar bienestar animal a los carneros (Canizalez et al., 2012).

La VA está conformada, por un tubo rígido con una medida de 17 cm x 5.5 cm y una camisa de látex que es colocada en la parte interna del tubo y asegurada en cada extremo con dos bandas de goma. El espacio comprendido entre el tubo y la banda de látex es llenado, por un orificio en el tubo, con 40 a 60 ml agua a una temperatura entre 50 a 55 °C para alcanzar una temperatura entre 40 a 42 °C el momento de la eyaculación, y en uno de los extremos se adosa un tubo colector, el mismo que debe estar estéril para no contaminar la muestra (Palmas, 2008).

Román et al (2014), señala que la principal desventaja de utilizar el método de recolección mediante el uso de VA, es necesitar machos dóciles y con entrenamiento; las ventajas son mayores haciendo de esta técnica de uso universal para la obtención de muestras de semen de calidad.



3.5.2. Electroeyaculador

El método de electroeyaculación es una técnica mediante la cual se obtiene una muestra de semen por medio del uso de un electroeyaculador (EE), que no es más que un electrodo conectado a una batería que genera estímulos rítmicos en la próstata y vesículas seminales provocando que el macho presente erección y eyaculación. La ventaja de utilizar esta técnica es que se puede utilizar animales entrenados para la monta, y la desventaja es que provoca estrés en los machos ya que es un método doloroso (Román et al., 2014).

3.6. Entrenamiento del carnero para la extracción de semen en vagina artificial

Para realizar la colecta de semen mediante el uso de vagina artificial (VA), los machos deben ser entrenados para poder saltar en presencia de un operador, ya que el interés sexual se ve inhibido por la presencia del hombre; por lo general el entrenamiento requiere la presencia de una hembra en celo, el mismo que puede ser inducido con la administración de valerato de estradiol (Cueto, 2011).

Sin embargo los carneros pueden aprender a montar hembras que no estén en celo, facilitando su manejo y evitando la manipulación hormonal de las hembras. Para conseguir esto, se necesita un proceso más largo y de la implementación de técnicas de habituación y condicionamiento, considerando que la visión y el olfato son primordiales en el aprendizaje, así como establecer una asociación entre el lugar de recolección y la actividad sexual. La presencia del operador no se relaciona ni con recompensa ni con castigo, por parte del carnero, lo que permite que los animales se acostumbren a su presencia y admita que el operador permanezca a un lado de los animales sin inhibir el comportamiento sexual (Canizalez et al., 2012).

3.7. Evaluación del semen

Para realizar una correcta evaluación seminal se debe considerar que pueden ser de dos tipos, la de semen fresco y la de semen congelado - descongelado.

3.7.1. Evaluación de semen fresco

3.7.1.1. Color

El color del semen es valorado en primer lugar, debiendo tener un color blanco-lechoso o cremoso pálido (Cueto, 2011). El aspecto del semen refleja la



concentración espermática, cuanto más blanco- lechoso es el color, mayor es la concentración. Además de esto, el color permite determinar la presencia de hemospermia y urospermia, tanto la sangre como la orina tienen un efecto negativo sobre la calidad espermática, indicando alteraciones orgánicas que deben ser tratadas (Palma, 2008).

3.7.1.2. Volumen

El volumen de un eyaculado se evalúa observando directamente sobre un tubo graduado. De un carnero se puede obtener dos eyaculados por día en época reproductiva, sin que se vea afectada su calidad (Gómez et al., 2007). El volumen de un eyaculado de carnero oscila entre 0,8 y 1,2 ml (Parraguez, et al., 2000).

3.7.1.3. Motilidad

La motilidad espermática es el parámetro más empleado para valorar la calidad seminal de un eyaculado, siendo el movimiento activo de los espermatozoides indispensable para que tenga lugar la fecundación. La motilidad está relacionada con la viabilidad espermática y la integridad celular. La motilidad espermática se valora de forma subjetiva y es observada en un microscopio de contraste de fases y platina a una temperatura de 37 °C. (Muiño et al., 2005).

3.7.1.3.1. Motilidad Masal

La motilidad masal (MM) es valorada observando la velocidad de las ondas o remolinos que se forman en el total de espermatozoides de la muestra. La escala subjetiva de valoración es de 1 a 5, evaluando 5 a las oleadas o remolinos rápidos y vigorosos, y 1 el semen que no muestra ondas. Para que una muestra sea considerada buena debe ser evaluada de 3 a 5 (Gómez et al., 2007). Escala subjetiva de valoración:

- Muy bueno: ondas oscuras, con movimientos rápidos.
- Bueno: ondas menos oscuras que el anterior, marcadas con movimiento moderado.
- Regular: ondas claras con movimiento muy ligero.
- Semen malo: no hay ondas, se observan espermatozoides inmóviles



3.7.1.3.2. Motilidad Individual

Para valorar la motilidad individual (MI) se debe observar en el microscopio un campo, se valora subjetivamente los espermatozoides con movimiento rectilíneo progresivo, a travesando el campo observado (Cueto,2011). Los espermatozoides que avancen de forma oscilante o en círculos son evaluados como esperma con movimientos anormales. La escala subjetiva de valoración es:

Muy Buena: 80 - 100%

Buena: 60 – 79%

Regular: 40 – 59%

Mala: menor al 40%

El porcentaje aceptado de espermatozoides con movimiento rectilíneo progresivo debe ser de 50% o mayor (Gómez et al., 2007).

3.7.1.4. Concentración

Existe una elevada relación entre el número de espermatozoides (concentración) y la fertilidad, siempre que los espermatozoides sean normales. La concentración espermática aproximada en carneros oscila entre $1,5 \times 10^6$ espermatozoides/ml (Parraguez, et al., 2000).

La concentración espermática puede ser evaluada mediante el uso de espectrofotometría, permitiendo valorar de forma indirecta la concentración espermática, basándose en la propagación de luz causada por los espermatozoides en suspensión (Muiño et al., 2005).

3.7.1.5. Morfología espermática

El estudio de la morfología espermática permite establecer el porcentaje de espermatozoides con o sin alteraciones en su morfología, cualquier anomalía que afecte la condición del espermatozoide pueden dificultar su migración a través del tracto reproductivo de la hembra imposibilitando la fecundación (Muiño et al., 2005).

López et al., (2011) señala que la morfología espermática está relacionada a la salud de los túbulos seminíferos y del epidídimos, considerándose las alteraciones en la morfología del esperma como la primera señal de cambios degenerativos en el epitelio seminal.



Se ha establecido una clasificación para la valoración de las alteraciones morfológicas, la suma de alteraciones de cabeza y acrosoma la misma que no debe superar el 5 y 10% respectivamente, el valor total de alteraciones no debe superar el 30% (Palmas, 2008). Las anomalías que pueden originarse están clasificadas en anomalías de cabeza, en el tracto intermedio y en la cola, según la ubicación de la anomalía se diferencian en primarias y secundarias (Hidalgo et al., 2005). Los espermatozoides de una eyaculación, inician en el epitelio seminífero su proceso de formación aproximadamente dos meses antes, en el carnero la espermatogénesis tiene lugar entre 47 y 49 días, y el paso por el epidídimo tiene un paso de 13 días, motivo por el cual las alteraciones morfológicas tendrían lugar varias semanas antes del momento en que son identificadas (López et al., 2011).

3.7.2. Criopreservación de semen

La criopreservación de semen en las diferentes especies es una biotecnología de relevancia en el campo de la investigación, facilitando la reproducción de diferentes individuos, ya que permite conservar el germoplasma masculino por tiempo indefinido y combinada con la inseminación artificial ha contribuido notablemente en la producción animal, facilitando los programas de mejoramiento genético y beneficiando la economía de los productores a través de la reducción de costos de alimentación, manejo y riegos de transmisión de enfermedades (Ribeiro et al., 2014).

Angola, (1994), señala que el objetivo de la criopreservación es mantener los siguientes requerimientos y propiedades del espermatozoide:

- El metabolismo para poder llevar a cabo la producción de energía y cumplir con sus funciones.
- Proteínas ya que son de gran importancia para la sobrevivencia del espermatozoide en el tracto reproductivo de la hembra, y para la adhesión al ovocito en la fertilización.
- Enzimas acrosomales necesarias para ingresar al ovocito.
- Movimiento progresivo de las células espermáticas.



3.7.2.1. Proceso de Criopreservación

Obtenidas las pajuelas la primera etapa que debe cumplir es la refrigeración, la temperatura debe descender desde la temperatura corporal 37 °C hasta 5 °C, intervalo en que los espermatozoides son sensibles al choque térmico. Cuando tiene lugar el descenso de temperatura por debajo del punto de congelación puede acontecer un fenómeno llamado *supercooling*, antes que haya formación de cristales. La temperatura de la solución es elevada por la liberación de calor residual al momento de la cristalización, esta elevación de temperatura puede causar efecto adverso sobre los espermatozoides, los mismos que pueden ser minimizados utilizando una curva de congelación adecuada (Palma, 2008). El mayor desafío para las células espermáticas es mantener la viabilidad en un rango de temperatura entre -15 a -60 °C, que los espermatozoides experimentan por dos ocasiones, una en el proceso de congelación y la otra durante la descongelación (Choez, 2010).

Cuando se alcanza una temperatura por debajo del rango crítico (-15 a -60 °C), los espermatozoides se tornan relativamente inertes y pueden ser almacenados en nitrógeno líquido por tiempo indefinido ya que los espermatozoides son menos susceptibles a lesiones producidas por las concentraciones elevadas de sales. (Palma, 2008).

3.7.3. Diluyente de semen

El principal objetivo de los diluyentes seminales es el de protección de la integridad y funcionalidad de la membrana plasmática. Los diluyentes brindan a las células espermáticas sustratos energéticos y permiten la mantención de condiciones estables de pH y osmolaridad en el medio extracelular (Sánchez et al., 2006).

Además de brindar protección a la membrana plasmática los diluyentes permiten aumentar el volumen total de la muestra de semen, de tal manera que la dosis pueda ser manejada convenientemente. El diluyente debe ser capaz de mantener a los espermatozoides en estado viable, por un período de tiempo variable, para proveer de fertilización en una elevada cantidad de óvulos, con un mínimo de dosis de esperma. Para mantener un máximo de viabilidad de las células espermáticas durante la dilución y conservación, deben ser consideradas la osmolaridad, el pH, la



temperatura y la fuerza iónica, de tal manera que las diferencias de estos factores entre el semen y la solución conservadora sean mínimas. La composición del diluyente debe proveer de un sustrato de energía, de sustancias amortiguadoras y agentes antimicrobianos (Ochoa et al., 2008).

3.7.4. Evaluación de semen congelado – descongelado

El propósito de la evaluación de semen postdescongelado, es determinar si el semen pudo superar el proceso de congelación y descongelación. Para iniciar el proceso de evaluación, se procede a descongelar la pajuela en agua a una temperatura de 37°C por aproximadamente un minuto (Gómez et al 2007). Una evaluación estándar de semen congelado – descongelado incluye algunos parámetros como: motilidad individual, tasa de vivos, tasa de anomalías totales, Host Test.

3.7.4.1. Motilidad Individual

Al igual que en el semen fresco la motilidad espermática es evaluada de forma subjetiva de 1 a 5, siendo uno baja o nula motilidad y 5 excelente motilidad. Una característica de los espermatozoides crioconservados es la disminución de la motilidad de las células. Presentando por parte de los espermatozoides una disminución en los movimientos progresivos, la mayoría muestra un grado variable de deterioro (Watson, 2000).

3.7.4.2. Morfología espermática

La evaluación de la morfología espermática de semen descongelado, se lleva a cabo mediante la tinción eosina – nigrosina. Como parte del proceso de evaluación es necesario contar 100 células cuando no hay presencia de anomalías significativas. Se demanda un 70% de células espermáticas normales (Catena et al., 1999)

3.7.4.3. Pruebas de funcionalidad espermática

La membrana espermática es una estructura de gran importancia en el metabolismo espermático, proceso de capacitación y reacción acrosómica, es de gran importancia analizar la integridad de la membrana espermática ya que brinda información del potencial de fertilidad, ya que la fertilización no tiene lugar si la membrana no está física y estructuralmente intacta (Bedoya et al., 2003). Las pruebas de funcionalidad espermática son las pruebas de resistencia osmótica

(Hidalgo et al.,2005), entre ellas tenemos la prueba de estrés hipoosmótico, cuya técnica permite valorar la integridad funcional de la membrana espermática (Santiani et al., 2004)

La prueba hipoosmótica se basa en la suspensión de espermatozoides en un medio hipoosmótico, que provoca un desequilibrio entre en medio intracelular y extracelular, condición que provoca que la célula compense fisiológicamente permitiendo el ingreso intracelular de agua, resultando en un aumento de volumen de la célula espermática y cambios en la morfología de los flagelos como dilatación y enrollamiento (Hernández et al.,2015).



Figura 3. Espermatozoides ovinos con reacción positiva al Test de Hos (Santiani et al., 2004).



CAPITULO IV: MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales

4.1.1. Materiales Biológicos

- 36 eyaculados provenientes de 3 carneros de raza tipo Corriedale. Se trabajó con tres carneros en lugar de los cuatro previstos originalmente debido a que un carnero siempre proporcionó semen sin motilidad, motivo por el cual los resultados fueron eliminados.
- 1 oveja mestiza, utilizada como maniquí.
- yemas de huevos frescos para el diluyente de semen.

4.1.2. Materiales Físicos

4.1.2.1. Materiales de Campo.

- Botas
- Overol
- Cámara de fotos
- Jáquimas
- Sogas
- Termo
- Termómetro
- 3 tubos cónicos tapa rosca x 15 ml
- 1 vagina artificial para la especie ovina
- papel aluminio
- cinta métrica
- báscula.

4.1.2.2. Materiales de Laboratorio

- tubos de ensayo x 5 ml
- tubos cónicos tapa rosca x 15 ml
- Gradilla
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- 36 Tubos microcentrífuga



- Pipetas de 1 ml
- Baño maría
- Microcubetas para determinación de la concentración
- Una estufa de temperatura regulable
- 1 Spermacue (equipo para determinación automática de la concentración)
- Microscopio óptico con aumentos 10X, 40X, 60X, 100X.
- Pajuelas de 0.25 ml.
- Rampa de flotación

4.1.3 Materiales Químicos

- Diluyente de semen comercial (Triladyl®).
- Nitrógeno líquido
- Colorante de eosina-nigrosina
- Alcohol polivinílico
- Agua destilada
- Solución hiposmótica, (osmolaridad 150 mosmol/l), para realización de HOS Test.

4.2. Ubicación geográfica

El trabajo de investigación se realizó en la Granja de Irquis, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca, ubicada en el km 23 de la vía Cuenca– Girón, a la altura de la parroquia Victoria del Portete, cantón Cuenca, a 2663 msnm. La granja tiene aproximadamente 507,8 Ha., y un clima templado frío, con una temperatura promedio de 8°C.

El laboratorio utilizado para análisis de las muestras de semen obtenidas, corresponde al laboratorio de Biotecnología de la Reproducción de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, localizado en la Granja de Irquis.



4.3. Caracterización de la unidad de análisis

4.3.1. Selección de carneros

Fueron seleccionados cuatro carneros de raza tipo Corriedale como donantes de esperma. Para su elección se consideraron los siguientes criterios:

- Temperamento: animales dóciles.
- Edad: carneros entre 3 y 4 años.
- Peso: 35 a 45 kilos.
- Diámetro testicular: 30 – 35 cm.
- Condición corporal: 2.5 – 3 puntos.

También fue valorado el estado sanitario de los animales y ausencia de anomalías físicas. Los carneros fueron identificados mediante aretes y sometidos a un tratamiento de desparasitación y aplicación de vitaminas.

Los animales tuvieron un sistema de alimentación y manejo estandarizados. La alimentación consistió en una dieta a base de pasto fresco, dos raciones de balanceado al día a razón de un Kg/animal/día, y sales minerales.

Por razón que un carnero siempre proporcionó semen sin motilidad, los resultados obtenidos de este animal fueron eliminados.

4.3.2. Eyaculados

Las muestras de semen de los carneros donantes, fueron valoradas según los siguientes criterios de selección:

- **Volumen:** 0.5 – 2 ml.
- **Color:** Blanco lechoso o lechoso pálido.
- **Motilidad Masal:** 3-5 puntos.
- **Motilidad Individual:** 50 – 100%.
- **Concentración mínima:** 700 x 10⁶/ ml.
- **Tasa de anomalías totales:** 5 - 30%.
- **Tasa de espermatozoides Vivos:** 70%.

Los eyaculados que respondían a estas características fueron destinados a su congelación.



4.3.3. Semen descongelado

La unidad de análisis estuvo conformada por pajuelas de 0.25 ml y se consideraron los siguientes criterios de evaluación a su descongelación:

- **Motilidad Individual:** 50 – 100%.
- **Tasa de anomalías totales::** 5 - 30%.
- **% de Vivos:** 5 – 30 %.
- **HOS test:** 40-100%.

4.4. Metodología

El trabajo de investigación se realizó en dos temporadas:

- Temporada 1: durante los meses de octubre - noviembre de 2015 (correspondiente a la época de reposo sexual en su latitud de origen).
- Temporada 2: en los meses de junio - julio de 2016 (correspondiente a la época de actividad sexual en su ubicación de origen).

Cada temporada tuvo una duración de cuatro semanas de entrenamiento y tres semanas para la toma de muestras. En la Figura 4 (adaptada de López et al., 2011). Se muestra la evolución del peso vivo de animales de raza Corriedale en la región central de Argentina (latitud 37°S) y se muestran en colores rojo y azul los momentos en que se realizó nuestro estudio en relación con las épocas correspondientes en el mencionado estudio.

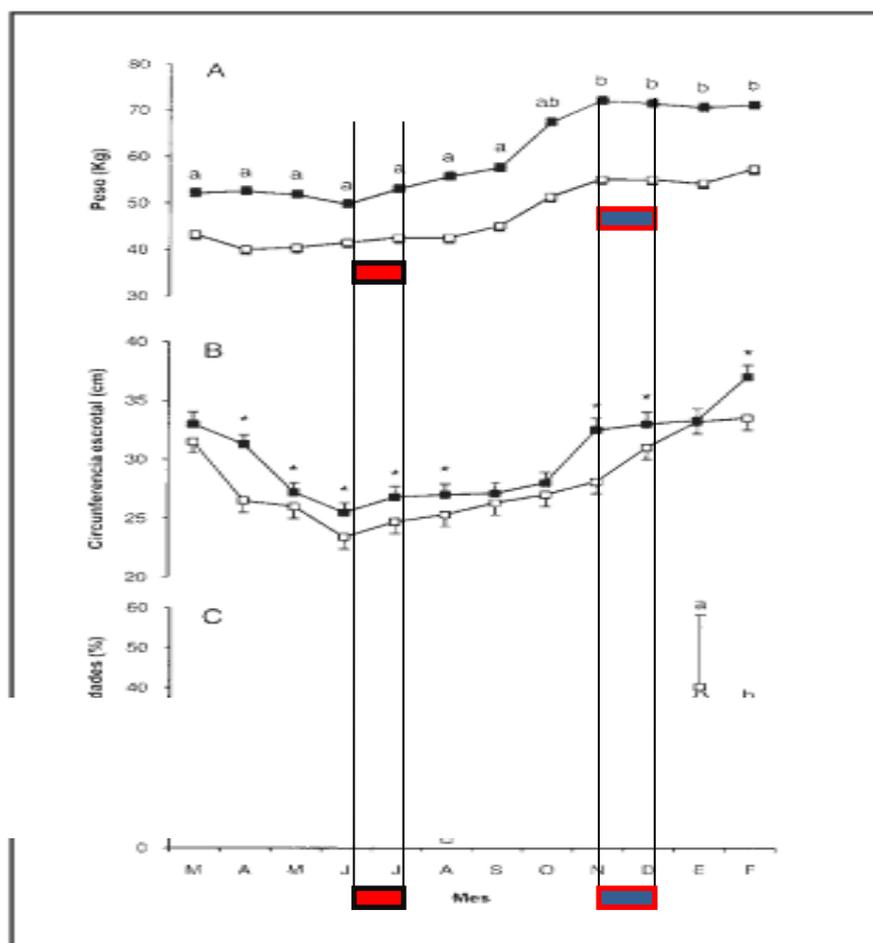


Figura 4. ■ Fin de temporada de lluvia en Ecuador. Coincide con invierno en regiones templadas hemisferio sur y fin de temporada sexual ■ Fin de temporada seca en Ecuador. Coincide con fin de primavera-verano en regiones templadas hemisferio sur e inicio de temporada sexual (López et al., 2011)

4.4.1. Adiestramiento

Con el objetivo de evitar que la respuesta eyaculatoria de los carneros fuese inhibida por el uso de Vagina Artificial y por la presencia y manipulación humana, los tres carneros fueron adiestrados un mes antes de iniciar la colecta de semen. El proceso de adiestramiento consistió en separar a los cuatro carneros de las hembras y para ello fueron todos ingresados en otro corral. Dos días por semana se realizó una caminata de 15 minutos junto a cada animal.

A partir de la tercera semana de adiestramiento los carneros aprendieron a montar una hembra que no presentaba celo, y eyacular en vagina artificial. Para ello fue



necesario establecer técnicas de habituación y condicionamiento. Los carneros fueron atados mediante cabestrillos alrededor del corral con el propósito de que pudiesen observar a la hembra y la monta que realizaba los otros machos. El orden de monta de los carneros siempre fue el mismo.

4.4.2. Valoración de diámetro testicular, condición corporal y peso

Antes de cada muestra seminal se tomó el diámetro testicular utilizando una cinta métrica, la condición corporal (subjativa de 1 – 5) y el peso (báscula) de cada carnero.

4.4.3. Extracción de semen mediante el uso de vagina artificial

La extracción de semen se llevó a cabo mediante el uso de una vagina artificial con un tamaño de 17 cm de largo x 5.5 cm de ancho y con una temperatura de 50 °C al momento de la preparación. De esta manera al instante de la colecta la temperatura del interior de la vagina fue de alrededor de 40°C. Una hembra que no presentaba celo fue utilizada como maniquí para que tenga lugar la monta.

Se realizaron dos colectas de semen por semana para cada carnero (6 muestras semanales), durante tres semanas por temporada (18 muestras totales por etapa) y considerando ambas temporadas de estudio, un total de 36 muestras de semen.

4.4.4. Evaluación de semen fresco

Para la evaluación fueron consideradas dos tipos de pruebas: las macroscópicas y las microscópicas. Como parte de las pruebas macroscópicas se valoró volumen y color, y en las pruebas microscópicas se consideró motilidad masal, motilidad individual, concentración, % de anormales y % de vivos.

4.4.5. Pruebas Macroscópicas

4.4.5.1. Color

El color del semen fue el primer factor evaluado después de la recolección de semen. El color del semen utilizado para los estudios posteriores fue de tipo blanco lechoso a lechoso pálido. Las primeras muestras obtenidas y que fueron descartadas presentaban una tonalidad ligeramente lechosa lo que coincidió con una baja concentración espermática.



4.4.5.2. Volumen

El volumen se determinó mediante el uso de un vaso recolector graduado en décimas de ml oscilando los volúmenes obtenidos entre 0,5 ml. a 2 ml. de semen.

4.4.6. Pruebas Microscópicas

4.4.6.1. Concentración espermática

La concentración fue determinada mediante el uso de Spermacue; se colocó una gota de semen puro en una microcubeta y fue introducida en el Spermacue, indicando digitalmente el valor de la concentración.

Los datos del volumen recolectado así como de la concentración fueron tomados en forma muy rápida después de la llegada de la muestra al laboratorio para no afectar la calidad espermática que fue evaluada a continuación.

4.4.6.2. Motilidad Masal

La evaluación de la motilidad masal se expresó con valores subjetivos de 1 a 5, determinados por la velocidad de los remolinos formados por la totalidad de espermatozoides de la muestra. Para observar la motilidad masal se tomó una gota de 10 μ l de semen del tubo colector y se colocó sobre un porta objetos templado observándose los movimientos en un microscopio óptico a un aumento de 20X. Para facilitar la observación y evaluación las imágenes del microscopio fueron proyectadas a un monitor lo que permitió que los valores otorgados a la muestra las mismas fueran corroborados por más de una persona.

4.4.6.3. Motilidad Individual

La valoración de la motilidad individual fue expresada en porcentajes entre 0 al 100%. Estos valores fueron definidos mediante la observación de 10 μ l de semen puro colocados entre un cubre y portaobjetos sobre una placa térmica a 37 ° C. La muestra fue observada en un microscopio óptico con aumentos 20X y 40X. Esta imagen también fue proyectada en un monitor.

4.4.6.4. Vitalidad y morfología espermática

La vitalidad y morfología espermática fueron evaluadas utilizando semen diluido. Ambas evaluaciones fueron realizadas con la misma metodología: se extrajo una

gota de 10 μ l que fue colocada sobre el extremo de un porta objetos limpio a temperatura de 36 -37 °C sobre la placa térmica. Junto a la gota de semen se colocaron 10 μ l de la solución de eosina-nigrosina a la misma temperatura del semen, se mezclaron suavemente con un extremo del cubreobjeto durante cinco segundos y se realizó el extendido de forma firme. Las placas fueron observadas en un microscopio óptico con aumentos de 20X y 40X. Se consideró un espermatozoide vivo cuando el color de la cabeza fue blanco (sin colorante en su interior; Figura 5) y se aceptaron valores de espermatozoides viables y normales desde el 40 y 70 % respectivamente.

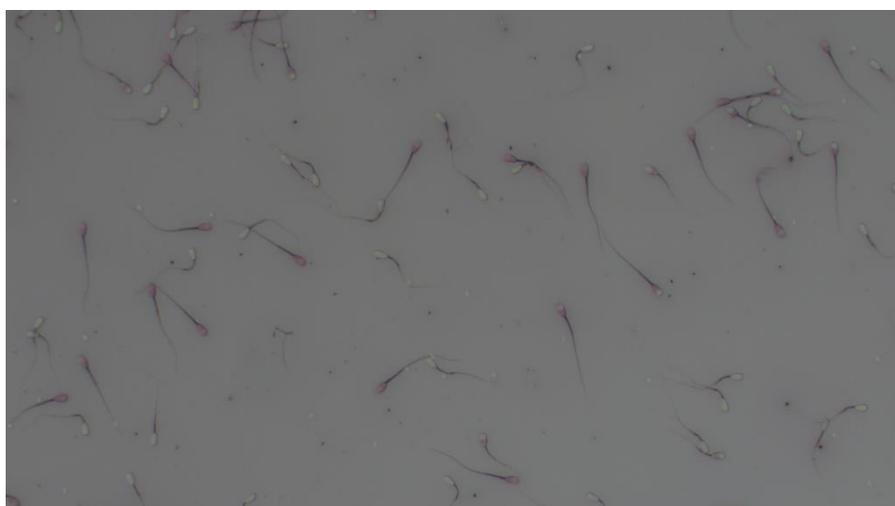


Figura 5. Espermatozoides con tinción de eosina – nigrosina

4.4.7. Diluyente

Las muestras seminales fueron diluidas mediante el uso del diluyente Triladyl®, de acuerdo al procedimiento establecido por la casa fabricante.

Procedimiento:

- La solución se preparó vertiendo primero 2.5 ml de Triladyl® en un Erlenmeyer, se añadió 7.5 ml de agua destilada y 2.5 ml de yema de huevo fresco. El orden de preparación debe ser estrictamente cumplido, para permitir la correcta actividad del diluyente Triladyl®. La solución fue perfectamente homogeneizada mediante agitación suave y una vez



preparada se mantuvo a temperatura de 30 a 32 °C mediante el uso de un Baño de María.

4.4.8. Preparación de pajuelas

Después de valorada la calidad espermática de las muestras, se procedió a realizar los cálculos de concentración espermática por pajuela de la siguiente manera:

1. *TOTAL DE ESPERMATOZIDES DE LA MUESTRA*= CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA x VOLUMEN SEMINAL
2. *TOTAL DE PAJUELAS*= TOTAL DE ESPERMATOZIDES DE LA MUESTRA/ 50 MILLONES
3. *VOLUMEN FINAL DE LA PAJUELA*: TOTAL DE PAJUELAS x 0.5
4. *VOLUMEN DE DILUYENTE*= VOLUMEN FINAL DE LA PAJUELA – VOLUMEN DE SEMEN
5. *ML DE SEMEN REQUERIDO*= PAJUELAS A PROCESAR x VOLUMEN DE SEMEN/TOTAL DE PAJUELAS
6. *ML DE DILUYENTE REQUERIDO*= PAJUELAS A PROCESAR x VOLUMEN DE DILUYENTE/ TOTAL DE PAJUELAS

Cada pajuela contuvo así 50 millones de espermatozoides.

4.4.9. Congelación

El proceso de congelación de las muestras de semen obtenidas, se realizó en el Laboratorio de Biotecnología de Reproducción, ubicado en la Granja de Iruis de la Facultad de Ciencias Agropecuarias. Las pajuelas una vez llenas de semen y diluyente y selladas en ambos extremos, fueron colocadas en un vaso de precipitado con agua y refrigeradas lentamente por un tiempo mínimo de dos horas, hasta llegar a 5 °C. Después de alcanzar la temperatura indicada, las pajuelas fueron colocadas en una gradilla de congelación y mantenidas durante 2 horas a una temperatura de 4 °C.

Luego se procedió a la congelación de las pajuelas de semen mediante la utilización de vapores de Nitrógeno Líquido a una temperatura de -120 °C. Para ello se colocó la gradilla con las pajuelas en la rampa de flotación, a una distancia de 4 – 5 cm sobre el nivel de nitrógeno líquido, por un lapso de 15 minutos, para después de ese tiempo ser colocadas directamente en el Nitrógeno líquido y conservadas a 196 °C.



4.4.10. Evaluación de pajuelas descongeladas

4.4.10.1. Motilidad individual progresiva

Se colocó una gota fina y uniforme de semen descongelado a 37 °C en el portaobjetos y se cubrió la muestra con un cubreobjetos. La muestra fue observada en un microscopio óptico con aumentos de 20X y 40X, la imagen fue proyectada en el monitor. La valoración de la motilidad individual fue expresada en porcentajes entre 0 y 100%.

4.4.10.2. Vitalidad y Morfología espermática

Se aplicó el mismo procedimiento empleado para evaluar la vitalidad y morfología del semen fresco.

4.4.10.3. Test de Host

Con el objetivo de evaluar la integridad funcional de la membrana, se colocó 10 µl de semen descongelado en 100 µl de solución hiposmótica (osmolaridad 150 mosmol/l) y la combinación se incubó a una temperatura de 37 °C por una hora. Luego de la incubación se tomó una gota de la solución, se colocó en un portaobjetos, y se cubrió con un cubreobjetos y fue observada con un microscopio óptico con aumentos entre 20X y 40X. Los resultados fueron expresados en porcentajes del 0 al 100%. Los espermatozoides que presentaron la cola espermática hinchada, como respuesta al gradiente osmótico, fueron considerados como espermatozoides con membrana plasmática íntegra y funcional.

4.5. Análisis estadístico

En todas las variables se obtuvieron los descriptivos generales, cuyos valores fueron expresados como media (\bar{x}) y desvío estándar (DE).

Se determinó la homogeneidad de las varianzas (test de Levene) determinándose que solamente la concentración y las anomalías no tenían varianzas uniformes.

Para estas últimas dos variables se realizó una comparación no paramétrica entre temporadas por medio del método de Mann – Whitney.



Para el resto, se realizó un análisis univariado de varianza.

Las variables estudiadas por cada temporada fueron comparadas mediante el test de t (t-test de Student).

El grado de relación entre todas las variables estudiadas se analizó mediante el test no paramétrico de Spearman, que no requiere que los datos tengan una distribución normal.



CAPITULO V: RESULTADOS

5.1. Peso, condición corporal y diámetro testicular

El peso promedio, la condición corporal y el diámetro testicular de los carneros en ambas temporadas fue diferente ($p < 0,05$) (Cuadro 1), por lo que las condiciones ambientales presentadas en cada una de las temporadas afectaron el estado y peso de los animales y esto se correlacionó en forma significativa con los diámetros testiculares en ambas estaciones ($r = 0,93$ y $0,68$ respectivamente. $p < 0,05$).

Cuadro 1- Peso, condición corporal y diámetro testicular de los carneros en estudio en ambas temporadas evaluadas.

| VARIABLES | TEMPORADA 1 | | TEMPORADA 2 | |
|---------------------------------|-------------|------|-------------|------|
| | MEDIA | DE | MEDIA | DE |
| PESO (kg) | 39,4a | 3,11 | 41,9b | 1,35 |
| CONDICIÓN CORPORAL | 2,8a | 0,2 | 2,9b | 0,12 |
| DIÁMETRO TESTICULAR (cm) | 31,5a | 3,11 | 32,8b | 1,38 |

Letras diferentes en las líneas indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

5.2. Evaluación cuali y cuantitativa del semen fresco

5.2.1. Descriptivo general de la producción de semen en ambas temporadas

Tomados en conjunto, todos los valores seminales obtenidos son presentados en el cuadro 2 y los niveles obtenidos para cada uno de ellos responden a lo esperado de acuerdo a los niveles normales promedio que son observados en el carnero.

Cuadro 2- Variables seminales totales obtenidas a partir de los carneros en estudio

| VARIABLES SEMINALES | N | Media | DE |
|--|----|--------|------|
| VOLUMEN (ml) | 36 | 1,4 | 0,06 |
| CONCENTRACIÓN (mil millones/ml) | 36 | 1673,2 | 42,3 |
| CANTIDAD TOTAL DE ESPERMATOZOIDES (mil millones/EYACULADO) | 36 | 2342,5 | 57,5 |



| | | | |
|---|----|------|------|
| MOTILIDAD MASAL (ESCALA 1-5) | 36 | 4,4 | 0,08 |
| MOT. INDIVIDUAL (%) | 36 | 77,5 | 2,16 |
| VIVOS (%) | 36 | 81,0 | 2,05 |
| ANOMALÍAS TOTALES (%) | 36 | 6,5 | 0,43 |
| MOTILIDAD INDIVIDUAL POST CONGELACIÓN (%) | 36 | 65,7 | 2,22 |
| VIVOS POST CONGELACIÓN (%) | 36 | 67,9 | 1,73 |
| ANOMALÍAS POST CONGELACIÓN (%) | 36 | 6,5 | 0,49 |
| HOS Test (%) | 36 | 67,8 | 2,08 |

5.2.2. Variables seminales cuantitativas obtenidas en ambas temporadas en estudio

En el cuadro 3 se presentan los valores seminales cuantitativos de los carneros en ambas temporadas. Se observaron diferencias significativas en las tres variables determinadas siendo mayores los valores obtenidos en la temporada 1 ($P < 0,05$). Particularmente en lo que se refiere a espermatozoides totales, que durante la Temporada 1 tuvieron una producción total un 40% superior a la obtenida en la temporada 2.

Cuadro 3- Variables seminales cuantitativas según temporada obtenidas a partir de los carneros en estudio

| VARIABLES | TEMPORADA 1 | | | TEMPORADA 2 | | |
|--|-------------|---------|-------|-------------|---------|-------|
| | N | MEDIA | DE | N | MEDIA | DE |
| VOLUMEN (ml) | 18 | 1,50a | 0,07 | 18 | 1,30b | 0,1 |
| CONCENTRACIÓN (mil millones/ml) | 18 | 1820,7a | 24,4 | 18 | 1525,7b | 65,0 |
| CANTIDAD TOTAL DE ESPERMATOZOIDES | 18 | 2736,4a | 618,7 | 18 | 1962,8b | 566,3 |

Letras diferentes en la misma línea indican diferencias significativas ($p < 0,05$). La concentración y la cantidad de espermatozoides se analizaron mediante Mann-Whitney, y volumen mediante ANOVA.



5.2.3. Variables seminales cualitativas obtenidas en ambas temporadas en estudio

Las variables seminales cualitativas (motilidad masal, motilidad individual, tasa de vivos y tasa de anomalías totales) de la totalidad de eyaculados en relación con las temporadas en estudio son mostradas en el cuadro 4. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en las tres primeras variables mencionadas antes en función de las temporadas. En cuanto a la tasa de anomalías totales, su número fue bajo en ambas temporadas pero en la temporada 2 hubo valores superiores a los de la temporada 1 ($p < 0,05$)

Cuadro 4- Variables seminales cualitativas según temporadas obtenidas a partir de los carneros en estudio (media \pm DE)

| VARIABLES | TEMPORADA 1 | | | TEMPORADA 2 | | |
|----------------------------------|-------------|-------|------|-------------|-------|------|
| | n | MEDIA | DE | n | MEDIA | DE |
| MOTILIDAD MASAL | 18 | 4,6 | 0,4 | 18 | 4,1 | 0,5 |
| MOTILIDAD INDIVIDUAL | 18 | 84,4 | 11,1 | 18 | 70,6 | 10,9 |
| TASA DE VIVOS | 18 | 89,7 | 7,2 | 18 | 72,2 | 9,9 |
| TASA DE ANOMALÍAS TOTALES | 18 | 5,6a | 2,2 | 18 | 7,5b | 2,6 |

Letras diferentes en la misma línea indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

5.2.4. Variables seminales cualitativas obtenidas en semen congelado-descongelado en ambas temporadas en estudio

En el cuadro 6 se muestran las variables cualitativas observadas después de la congelación-descongelación de los eyaculados obtenidos en la Temporada 1 y Temporada 2.

En ninguna de estas variables se observaron diferencias significativas entre las dos temporadas en estudio.



Cuadro 5- Variables seminales cualitativas obtenidas en semen congelado-descongelado en ambas temporadas en estudio

| VARIABLES | TEMPORADA 1 | | | TEMPORADA 2 | | |
|--------------------------------------|-------------|-------|------|-------------|-------|------|
| | N | MEDIA | DE | N | MEDIA | DE |
| MOTILIDAD INDIVIDUAL | 18 | 67,2 | 14,5 | 18 | 64,2 | 12,3 |
| TASA DE VIVOS | 18 | 70 | 8,7 | 18 | 65,8 | 11,7 |
| TASA DE ANOMALÍAS TOTALES | 18 | 6 | 2,8 | 18 | 6,9 | 3 |
| HOS TEST (%) | 18 | 70,3 | 11,3 | 18 | 65,3 | 13,4 |



CAPITULO VI: DISCUSIÓN

6.1. Peso, condición corporal y diámetro testicular.

Los resultados obtenidos en el Cuadro N° 1, mostraron diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre las variables morfométricas evaluadas (peso, condición corporal, diámetro testicular) en las dos temporadas en estudio. Existen varias investigaciones que relacionan la importancia del factor nutricional en la reproducción de los carneros, indicando su influencia y relación con el aumento de peso, diámetro testicular y calidad de semen (Morales et al., 2006; López et al. 2011; Aller, et al., 2012; Brown, 1994). Se puede considerar la influencia del plano nutricional en ambas temporadas debido a que los carneros en la Temporada 2, contaron con una mejor cantidad y calidad de alimentación lo que pudo haber influenciado en el aumento de peso de los animales y esto se correlacionó con el diámetro testicular en ambas temporadas como se informó previamente (cuadro 14 en Anexo).

Con relación al tamaño testicular, en nuestro estudio se observó el mayor diámetro en la Temporada 2, con una alta correlación con el peso corporal. Lo anterior se muestra en forma más clara en la Figura. 6 que se incorpora a continuación y que corresponde al estudio mencionado previamente de López et al. (2011). Esto muestra claramente que los carneros tipo Corriedale situados en la sierra ecuatoriana muestran un patrón muy similar al observado en su país de origen ya que responden con mejoras en el peso y tamaño testicular en los períodos de mayor provisión de alimentos (septiembre a noviembre). En el país de origen, a pesar que el fotoperíodo constituye el factor central de la regulación reproductiva, el factor nutricional es un importante modulador de la misma. Por el contrario, en el Ecuador no existe la variación fotoperiódica como factor central y puede ser la alimentación la que toma este control sobre la función reproductiva. Esto coincide con los resultados de estudios que también encuentran esta correlación (Palacios et al., 2014; Forcada et al; 2009), y respaldan la influencia del plano nutricional en diferentes épocas del año con el diámetro testicular y la calidad de semen.

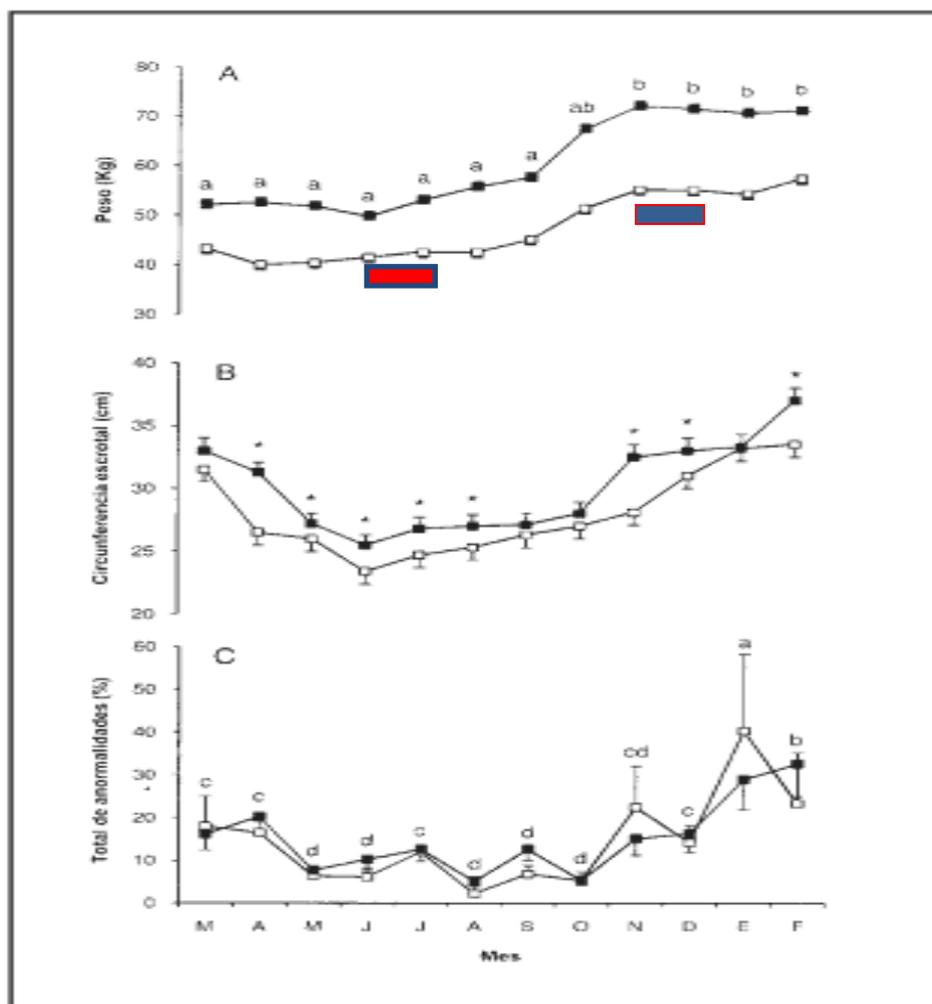


Figura 6. Temporada 2. Fin de temporada de lluvia en Ecuador. Coincide con invierno en regiones templadas hemisferio sur y fin de temporada sexual. Temporada 1. Fin de temporada seca en Ecuador. Coincide con fin de primavera en regiones templadas hemisferio sur e inicio de temporada sexual.

A pesar de esta correlación, es interesante señalar que el tamaño testicular en nuestro estudio fue de alrededor de 32 cm en promedio de las dos temporadas lo cual fue similar a lo obtenido en otro estudio (Aller et al. 2012) en el cual sin embargo, el peso de los individuos fue casi el doble de los de nuestro estudio. Es decir que en realidad la correlación entre las variaciones de peso y el tamaño testicular, estas se observan en un propio individuo pero no existe una relación entre tamaño corporal y testicular en términos generales.



6.2. Evaluación cuali y cuantitativa del semen fresco

En el Cuadro N° 2, (mostrado previamente, Descriptivo general de la producción de semen en ambas temporadas), se incluyeron todas las variables consideradas para evaluación en las 36 muestras de semen fresco en las dos temporadas, obteniendo como resultado valores considerados dentro de los parámetros normales para ovinos (Mann et al., 1981; Setchell, 1997; Csilla et al., 2013; Bagley, 1997)

6.2.1. Variables seminales cuantitativas

Con relación a las variables seminales cuantitativas (volumen, concentración, cantidad total de espermatozoides) obtenidas en ambas temporadas en estudio, los mayores valores se observaron con diferencias significativas ($p < 0,05$) en las tres variables en las colectas realizadas en Temporada 1. Esto fue particularmente marcado en la cantidad total de espermatozoides que superó en un 40% a los valores obtenidos en la Temporada 2 (Cuadro N°3). Esto superó ampliamente lo mostrado en otro estudio realizado en la región de origen (Aller et al. 2012) de estos carneros en donde las mayores diferencias en cantidad total de espermatozoides superaron en un 25% a la de los momentos de menor producción. Sin embargo se debe hacer notar que la producción total de semen fue menor en nuestro estudio.

En nuestro estudio los mayores niveles de producción de semen fueron obtenidos en la Temporada 1, y los menores en la Temporada 2 que inversamente a lo esperado se corresponden a los períodos de menor y mayor tamaño testicular respectivamente. Además, curiosamente, esto se corresponde con los mayores niveles de producción espermática obtenida en estos meses pero a 31° de latitud sur (Aller et al. 2012). Esta incongruencia entre el tamaño testicular y la colecta de semen podría estar dado por un efecto de inercia de producción espermática por un lado y por la duración de la espermatogénesis y tránsito epididimario que tiene una duración de más de dos meses, por otro. Es muy probable que en nuestro estudio, si se hubiesen podido tomar muestras intermedias se hubiese podido explicar mejor estos resultados aparentemente inesperados. De todas maneras la época de máxima producción de semen fue coincidente con la observada por otros autores en otras razas a situadas en latitudes alejadas al Ecuador (Taha et al, 2000; Kafi et al., 2004).



6.2.2. Variables seminales cualitativas

Inversamente a lo observado con las variables cuantitativas, al analizar las variables cualitativas obtenidas en las temporadas en estudio (Motilidad Masal, Motilidad individual, Tasa de Vivos, Tasa de anormales), se pudo constatar un comportamiento similar en ambas temporadas de colecta, exceptuando la Tasa de anomalías totales donde se observó una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre ambas temporadas, observándose los mayores valores hacia el fin de la Temporada 2 - Cuadro N°4, donde también fueron mayores el peso y el diámetro testicular. Como se dice más adelante, esto se podría adjudicar a efectos de temperatura como fue observado en el trabajo de López et al, 2011. En ese caso fue debido a las altas temperaturas, pero en nuestro trabajo se le adjudicaría tal vez a las bajas temperaturas (frecuentemente entre 0 y 4 °C) lo que podría inducir bajos niveles de testosterona circulante y una reducción del grosor de los túbulos seminíferos y de la actividad espermatogénica (Barkawi et al., 2006). Los resultados son coincidentes por el estudio de López et al (2011), quienes demostraron que el mes de colecta de semen afecta la morfología espermática, observándose en ese caso que el incremento de las anomalías espermáticas coincidió con el aumento de peso y diámetro testicular de los carneros aunque difirió sustancialmente con la época del año (meses de nov y dic.). En este último estudio, las condiciones de temperatura ambiente imperante en esos meses pueden haber contribuido a este aumento de las anomalías, fenómeno ya descrito por otros autores quienes asocian los aumentos de temperatura a una baja de la calidad seminal (Smith. 1971). Por el contrario, nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Aller et. al (2012) tanto por los meses en que son observadas (junio-julio) como por el hecho que en ambos casos aparecen en la época de menores temperaturas ambientales. El alto porcentaje de anomalías espermáticas durante época de menores temperaturas (en la sierra ecuatoriana en esas épocas las temperaturas son frecuentemente entre 0 y 4 °C) puede posiblemente ser atribuido a los bajos niveles de testosterona circulante y a una reducción del grosor de los túbulos seminíferos y de la actividad espermatogénica (Barkawi et al., 2006).



6.3. Evaluación cualitativa del semen congelado - descongelado

Inversamente a lo observado con las variables cuantitativas, al analizar las variables cualitativas obtenidas en las temporadas en estudio (Motilidad Masal, Motilidad individual, Tasa de Vivos, Tasa de anormales), se pudo constatar un comportamiento similar en ambas temporadas de colecta, exceptuando la Tasa de anomalías totales donde se observó una diferencia significativa ($p < 0,05$) entre ambas temporadas, observándose los mayores valores en la Temporada 2 donde también fueron mayores el peso y el diámetro testicular. Los resultados son coincidentes por el estudio de López et al (2011), quienes demostraron que el mes de colecta de semen afecta la morfología espermática, observándose en ese caso que el incremento de las anomalías espermáticas coincidió con el aumento de peso y diámetro testicular de los carneros aunque difirió sustancialmente con la época del año (meses de nov y dic.). En este último estudio, las condiciones de temperatura ambiente imperante en esos meses pueden haber contribuido a este aumento de las anomalías, fenómeno ya descrito por otros autores quienes asocian los aumentos de temperatura a una baja de la calidad seminal (Smith. 1971). Por el contrario, nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Aller et. al (2012) tanto por los meses en que son observadas (junio-julio) como por el hecho que en ambos casos aparecen en la época de menores temperaturas ambientales. El alto porcentaje de anomalías espermáticas durante el invierno o época de menores temperaturas (en la sierra ecuatoriana en esas épocas las temperaturas son frecuentemente entre 0 y 4 °C) puede posiblemente ser atribuido a los bajos niveles de testosterona circulante y a una reducción del grosor de los túbulos seminíferos y de la actividad espermatogénica (Barkawi eta al., 2006).



CAPITULO VII: CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- Se observaron diferencias estadísticas significativas en el diámetro testicular, peso y condición corporal según la temporada de estudio, presentando valores superiores en la Temporada 2 - Cuadro N°4 y menores en la Temporada 1, lo que puede estar relacionado a factores externos como la diferente disponibilidad y calidad de alimento en las dos temporadas.
- En cuanto a las variables seminales cuantitativas (volumen, concentración y cantidad total de espermatozoides), se obtuvieron diferencias significativas entre las dos temporadas de colecta, obteniéndose resultados superiores en el estudio realizado hacia el final del en la Temporada 1.
- No se observaron diferencias estacionales en las variables cualitativas de los eyaculados en ambos estudios salvo en las anomalías espermáticas

RECOMENDACIONES

- A partir del presente estudio nos quedó la evidencia de la poca información existente respecto a la especie ovina en Ecuador.
- En función de lo anterior sería recomendable promover la producción de información básica y productiva de esta especie que tiene enormes posibilidades para los pequeños ganaderos.
- A los efectos de producir reservas de semen congelado. Si bien no hay diferencias cualitativas entre temporadas, por la mayor producción sería recomendable la congelación del semen en la temporada de 2.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aller, J.F., Aguilar, D. Vera, T., Almeida. G. P. & Alberio, R.H. (2012). Seasonal variation in sexual behavior, plasma testosterone and semen characteristics of Argentine Pampinta and Corriedale rams. *Spanish J. Agric. Res.* 10(2), 345-352).
- Angola, P. A. (1994). Aspectos fisiológicos acerca del congelamiento de semen. *Veterinaria México*, 25, 207-209.
- Arthur, Geoffrey H., Noakes, David E. & Pearson, Harold. (1991). *Reproducción y Obstetricia en Veterinaria (Teriogenología)*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, 1991. ISBN: 84-7615-747-9.
- Bagley, 1997. BREEDING SOUNDNESS IN RAMS: HOW TO DO IT AND HOW TO INTERPRET IT. Utah State University, Logan, Utah. (EP/DF/07-97)
- Banchero, G., Quintans, G., Milton, J., & Lindsay, D. (2005). Comportamiento maternal y vigor de los corderos al parto: efecto de la carga fetal y la condición corporal. Seminario de actualización Técnica. Reproducción ovina. Recientes avances realizados por el INIA. INIA Tacuarembó Programa Nacional de ovinos y caprinos, pag. 61.
- Barkawi, AH., Elsayed, EH., Ashour, G., Shehata, E. (2006). Seasonal changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in Zaraibi goats. *Small Rum Res*, 66: 209-213
- Bedoya Echeverry, N. A., Vásquez Araque, N., Rivera Rey, M., Correa Londoño, G., & Trujillo Aramburo, L. E. Evaluación de la integridad funcional de la membrana plasmática de espermatozoides bovinos mediante el test hipoosmótico (host). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*; Vol. 56, núm. 2 (2003); 1983-1997 2248-7026 0304-2847.



- Boland, M. P., Al-Kamali, A. A., Crosby, T. F., Haynes, N. B., Howles, C. M., Kelleher, D. L., & Gordon, I. (1985). The influence of breed, season and photoperiod on semen characteristics, testicular size, libido and plasma hormone concentrations in rams. *Animal Reproduction Science*, 9(3), 241-252.
- Brown, B. W. (1994). A review of nutritional influences on reproduction in boars, bulls and rams. *Reproduction Nutrition Development*, 34(2), 89-114.
- Canizalez, S. A., & Márquez, J. R. (2012). Adiestramiento de carneros para la colección de semen con vagina artificial. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 5(1).
- Catena, M., & Cabodevila, J. (1999). Evaluación de semen bovino congelado. *Taurus*, 1(3), 18-31.
- Celis, J. P., Rodríguez, O. L., & Quintal, J. (1987). Correlaciones entre circunferencia escrotal y algunas medidas zoométricas con el peso testicular en borregos Pelibuey. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 25(1), 85-93.
- Colas, G., Brice, G. (1976). Seasonal variations of the fertilizing capacity of deep-frozen ram semen. In: *Proceedings of the (8th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination*, vol. 4. Crakow, Poland, pp. 977-980
- Cueto M, Gibbons A, García J, Wolff M, Arrigo J. (2011). Obtención, Procesamiento y Conservación del Semen Ovino. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria: 1-14.
- Chemineau, P. (1993). Medio ambiente y reproducción animal. *World Animal Review*, 77(1), 2-14.



Choez, Katerine. (2010). Criopreservación de semen en camélidos sudamericanos. Univ. Nac. de San Marcos. Fac. de Veterinaria. Sistema de Revisiones en Investigación Veterinaria San Marcos

http://veterinaria.unmsm.edu.pe/files/Articulo_choez_aguilar.pdf

Csilla Budai Oláh, J.; Egerszegi, I.; Jávör, A.; Kovács, A. Seasonal variations in some reproductive parameters of dorper rams in Hungary. AGRÁRTUDOMÁNYI KÖZLEMÉNYEK, 2013/53

D'Alessandro, A.G. Martemucci, G. (2003). Evaluation of seasonal variations of semen freezability in Lecce ram. Animal Reproduction Science 79: 93–102

Frazão Sobrinho JM, Castelo-Branco MA, Sousa Júnior A, Nascimento IMR, Mota LHCM, Carvalho YNT, Ferreira SB, Costa DNM, Moraes junior FJ, Souza JAT. (2014). Characteristics of the semen of Dorper, Santa Ines and undefined breed sheep, pre-and post-freezing, in the rainy and dry period. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 66, 969-976, 2014

Folch, J. (2000). Manejo del morueco. XXV Jornadas Científicas SEOC, Producción ovina y caprina, 61-64.

Forcada Miranda, F., Abecia Martínez, A., Casao Gascón, A., & Vázquez, I. 2009. Interacciones Ambientales sobre la Reproducción en ovino. Actas Segundo Congreso Internacional en Ciencias Veterinarias Y Zootecnia. Puebla, México

Fuentes, V., Sanchez, V., Gonzalez, H., Fuentes, P., Garcia, A., & Rosiles, R. (1997). La función endócrina del testículo en el carnero criollo mexicano durante las diferentes épocas del año y su control opioidérgico durante el anestro. Journal of Veterinary Medicine Series A, 44(1-10), 259-263.



- Gómez, M., & Migliorisi, A. L. (2007). Protocolo para la evaluación de semen en rumiantes. Cátedra Reproducción Animal Facultad de Cs. Veterinarias-UNLP. Buenos Aires, Argentina.
- Guérin, Y., Cognié, Y., Poulin, N. (1992). Freezability of freshly ejaculated and frozen ram semen in vitro. In: Proceedings of the 12th International Congress on Animal Reproduction, vol. 3. The Hague, The Netherlands, pp. 1418–1420
- Hernandez, D., Carrillo – Gonzáles, D. (2015). Aplicación del Test Hipoosmótico (Host) en la evaluación de calidad seminal en ovinos criollos de pelo corto. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal* 6: 165-171
- Hidalgo Ordóñez, C. O., Tamargo Miguel, C., & Díez Monforte, C. (2005). Análisis del semen bovino. *Tecn Agro*, 2, 39-43.
- Jansen, H.T. & Jackson, G.L. (1993). Circannual rhythms in the ewe: patterns of ovarian cycles and prolactin secretion under two different constant photoperiods. *Biol Reprod.* 49(3):627-34.
- Kafi, M., Safdarian. M., Hashemi, M., 2004. Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. *Small Rum Res* 53: 133-139.
- López, A., Regueiro, M., Castrillejo, A., & Pérez-Clariget, R. (2011). La época del año y el plano nutricional y su influencia sobre la morfología espermática en carneros Corriedale en pastoreo. *Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay*, 47(182), 15-21.
- Mann, T., & Lutwack-Mann, C. (1981). *Male Reproductive Function and Semen: Themes and Trends in Physiology, Biochemistry and Investigative Andrology*. Ed. Springer London



- Martínez, J., Hernández, J. L., Valdés, M. L., Interian, L., Collazo, J., Milanés, C., Molina, Y. & González–Peña, D. (2007). Efecto de la época del año en la congelabilidad del eyaculado de sementales caprinos de la raza Boer en Cuba. *Rev. Cub. Rep. Anim*, 1(3), 119-126.
- Morales, P., Zimmerman, M., De la Vega, A. C., & Wilde, O. (2006). Variación anual de la circunferencia escrotal en caprinos Criollos Serranos. *Archivos de zootecnia*, 55(209), 113-116.
- Núñez, Q. (1993). Morfología del tracto genital de los pequeños rumiantes. *Revista Científica, Luz*, v. 3, n. 2, p. 77-86.
- Ochoa, G. (1999). Evaluación in vitro e in vivo de semen porcino conservado en diluyentes de larga duración. Tesis MSci. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, México.
- Orihuela Trujillo, A. (2014). La conducta sexual del carnero: Revisión. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 5(1), 49-89.
- Ortavant, R., Pelletier, J., Ravault, JP., Thimonier, J., Volland, P. (1985). Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals. *Oxf Reprod Rev Biol*. 1985;7:305–345
- Osorio, J. P., Jaramillo, L. C., Arroyo, R. J. O., Álvarez, J. C., & Souza, F. A. (2014). Relación entre la circunferencia escrotal, el crecimiento testicular y parámetros de calidad de semen en toros de raza Guzerat, desde la pubertad hasta los 36 meses de edad. *Revista Medicina Veterinaria*, (27), 73-87.
- Palacios Moreno, N., & González Mendoza, D. F. (2014). Correlación entre diámetro testicular y calidad espermática en ovinos criollos del municipio de Soracá, Boyacá. *Conexión Agropecuaria JDC*, 2(2), 45-55.



Palma, G. (2008). Biotecnología de la Reproducción. Ediciones Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Segunda edición. Pgs 553-587

URL: http://www.reprobiotec.com/libro_azul/cap_01.pdf

Parraguez, V. H., Blank, O., Muñoz, C., & Latorre, E. (2000). Inseminación artificial en ovinos. Monografías de Medicina Veterinaria, 20(2).

Pérez-Clariget, R. (2012). Efectos de la época del año y la nutrición sobre el testículo ovino. Actas Terceras Jornadas Internacionales del Instituto de Investigación y Tecnología en Reproducción Animal INITRA, 14(2), 231. Buenos Aires, Argentina

Pérez Osorio, J., Chacón Jaramillo, L., Otero Arroyo, R. J., Cardona Álvarez, J., & Andrade Souza, F. (2014). Relación entre la circunferencia escrotal, el crecimiento testicular y parámetros de calidad de semen en toros de raza Guzerat, desde la pubertad hasta los 36 meses de edad. Revista de Medicina Veterinaria, (27), 73-87. Bogotá, Colombia

Porras Almeraya, A., Zarco Quintero, L.A., Valencia Mendez, J. (2003). Estacionalidad Reproductiva en Ovejas. Ciencia Veterinaria. 33 (15).

Quintero, L. A. Z. Antonio., Porras Almeraya.L.A., Zarco Quintero, J.V, Mendez.(2003). Estacionalidad Reproductiva en Ovejas. Ciencia Veterinaria. 33 (15).

Ribeiro-Peres, A., Munita-Barbosa, L., Yumi-Kanazawa, M., Mello-Martins, M. I., & Ferreira de Souza, F. (2014). Criopreservación de espermatozoides bovinos extraídos de la cola del epidídimo utilizando los métodos convencional y automatizado. Archivos de medicina veterinaria, 46(1), 31-38.



- Robles, C. (2004). Salud reproductiva del carnero. Grupo de Salud Animal Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Bariloche. Argentina
- Román, R. D. J. A., Figueroa, J. A. F., & Peña, J. M. (2014). Métodos de extracción de semen bovino. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, 15(5), 1-8.
- Rosa, H. J. D., & Bryant, M. J. (2003). Seasonality of reproduction in sheep. Small Ruminant Research, 48(3), 155-171.
- Sadler T.W (2002). Lagman Embriología médica con orientación clínica. Octava edición. Editorial médica panamericana, (482) 23-26
- Sánchez, R., Cartagena, A., & Berland, O. (2006). Comparación del efecto de dos diluyentes sobre la fertilidad potencial de semen canino refrigerado. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 17(1), 01-07.
- Santiani, A., Sandoval, R., Ruiz, L., & Coronado, L. (2004). Estudio de la integridad de membrana en espermatozoides de ovino mediante la prueba de estrés hipoosmótico. Actas XXVII Reunión Asociación Peruana de Producción Animal. Piura, Perú
- Setchell, B. 1997. Sperm counts in semen of farm animals 1932-1995. International journal of andrology, 20:209±214
- Simonetti, A., Lynch, G., McCormick, M. (2014). Aspectos reproductivos de los carneros. Revista de divulgación técnica agropecuaria, agroindustrias y ambiente, 6.
- Smith. 1971. The effect of temperature on characteristics of semen of rams. Aust. J. Agric. Res., 1971, 22, 481-90



Taha TA, Abdel-Gawad EI, Ayoub MA, 2000. Monthly variations in some reproductive parameters of Barki and Awasi rams throughout 1 year under subtropical conditions. 1. Semen characteristics and hormone levels. Anim Sci 71: 317-324

Ungerfeld, R. (2016). Managing reproductive seasonality in small ruminants. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 24(2).

Watson, P. F. (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. Animal reproduction science, 60, 481-492.

ANEXOS

Anexo 1. Descriptivos Generales

Cuadro 7- Descriptivos Generales Variables Cuantitativas y Cualitativas.

| | N | Mínimo | Máximo | Media | DE | |
|--------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| | Estadístico | Estadístico | Estadístico | Estadístico | Error estándar | Estadístico |
| DT (cm) | 36 | 29 | 35 | 32,10 | 0,31 | 1,90 |
| CC (1-5) | 36 | 2,5 | 3 | 2,84 | 0,03 | 0,18 |
| PESO (kg) | 36 | 35 | 44 | 40,67 | 0,45 | 2,69 |
| VOLUMEN (ml) | 36 | 0,8 | 2 | 1,40 | 0,06 | 0,35 |
| CONCENTRACIÓN (millones) | 36 | 1094 | 1994 | 1673,19 | 42,34 | 254,06 |
| MM (1-5) | 36 | 3 | 5 | 4,36 | 0,08 | 0,50 |
| MI (%) | 36 | 50 | 95 | 77,50 | 2,16 | 12,96 |
| VIVOS (%) | 36 | 50 | 95 | 80,97 | 2,05 | 12,30 |
| ANORMALES (%) | 36 | 1 | 10 | 6,56 | 0,43 | 2,56 |
| MI. SEMEN DESCONGELADO (%) | 36 | 30 | 90 | 65,69 | 2,22 | 13,32 |
| VIVOS. SEMEN DESCONGELADO (%) | 36 | 40 | 80 | 67,92 | 1,73 | 10,38 |



| | | | | | | |
|---|----|----|----|-------|------|-------|
| ANORMALES SEMEN DESCONGELADO (%) | 36 | 3 | 15 | 6,47 | 0,49 | 2,93 |
| HOS TEST | 36 | 40 | 85 | 67,78 | 2,08 | 12,50 |
| N válido (por lista) | 36 | | | | | |

Cuadro8 - Descriptivos Generales Variables Cuantitativas y Cualitativas Temporada 1

| Estadísticos descriptivos | | | | | | |
|---|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| | N | Mínimo | Máximo | Media | | DE |
| | Estadístico | Estadístico | Estadístico | Estadístico | Error estándar | Estadístico |
| DT (cm) | 18 | 29 | 35 | 31,50 | 0,51 | 2,15 |
| CC (1-5) | 18 | 2,5 | 3 | 2,76 | 0,05 | 0,20 |
| PESO (kg) | 18 | 35 | 44 | 39,39 | 0,73 | 3,11 |
| VOLUMEN (ml) | 18 | 1 | 2 | 1,50 | 0,07 | 0,32 |
| CONCENTRACIÓN (millones) | 18 | 1604 | 1994 | 1820,72 | 24,45 | 103,74 |
| MM (1-5) | 18 | 4 | 5 | 4,61 | 0,09 | 0,37 |
| MI (%) | 18 | 50 | 95 | 84,44 | 2,62 | 11,10 |
| VIVOS (%) | 18 | 70 | 95 | 89,72 | 1,69 | 7,17 |
| ANORMALES (%) | 18 | 1 | 10 | 5,61 | 0,52 | 2,23 |
| MI. SEMEN DESCONGELADO (%) | 18 | 30 | 90 | 67,22 | 3,41 | 14,47 |
| VIVOS. SEMEN DESCONGELADO (%) | 18 | 40 | 80 | 70,00 | 2,06 | 8,74 |
| ANORMALES SEMEN DESCONGELADO (%) | 18 | 3 | 15 | 6,00 | 0,67 | 2,83 |
| HOS TEST | 18 | 45 | 85 | 70,28 | 2,67 | 11,31 |
| N válido (por lista) | 18 | | | | | |

Cuadro 9 - Descriptivos Generales Variables Cuantitativas y Cualitativas Temporada 2

| Estadísticos Descriptivos ^a | | | | | | |
|---|----------|---------------|---------------|--------------|-----------------------|--------------------|
| | N | Mínimo | Máximo | Media | | DE |
| | | | | Media | Error estándar | Estadístico |
| DT (cm) | 18 | 31 | 34 | 32,83 | 0,33 | 1,38 |
| CC (1-5) | 18 | 2,75 | 3 | 2,92 | 0,03 | 0,12 |
| PESO (kg) | 18 | 40 | 43 | 41,94 | 0,32 | 1,35 |
| VOLUMEN (ml) | 18 | 0,8 | 1,8 | 1,31 | 0,08 | 0,36 |
| CONCENTRACIÓN (millones) | 18 | 1094 | 1924 | 1525,67 | 64,99 | 275,75 |
| MM (1-5) | 18 | 3 | 5 | 4,11 | 0,12 | 0,50 |
| MI (%) | 18 | 50 | 90 | 70,56 | 2,58 | 10,97 |
| VIVOS (%) | 18 | 50 | 85 | 72,22 | 2,33 | 9,88 |
| ANORMALES (%) | 18 | 5 | 10 | 7,50 | 0,61 | 2,57 |
| MI. SEMEN DESCONGELADO (%) | 18 | 30 | 80 | 64,17 | 2,89 | 12,28 |
| VIVOS. SEMEN DESCONGELADO (%) | 18 | 40 | 80 | 65,83 | 2,75 | 11,66 |
| ANORMALES SEMEN DESCONGELADO (%) | 18 | 5 | 15 | 6,94 | 0,72 | 3,04 |
| HOS TEST | 18 | 40 | 85 | 65,28 | 3,17 | 13,45 |
| N válido (por lista) | 18 | | | | | |

. Cuadro 10- Correlación No Paramétricas

| | | DT | CC | PESO | VOL. | CONC | MM | MI | VIVOS | ANORM | MI. DECONG | VIVOS. DECONG | ANOR. DECONG | HOS TEST |
|--------------------------|----------------------------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|-------|------------|---------------|--------------|----------|
| DT (cm) | Coeficiente de correlación | 1,00 | ,927** | ,697** | 0,17 | -0,11 | 0,11 | -0,15 | -0,17 | -0,01 | 0,11 | 0,18 | 0,11 | 0,13 |
| | Sig. (bilateral) | . | 0,00 | 0,00 | 0,31 | 0,52 | 0,51 | 0,40 | 0,32 | 0,98 | 0,54 | 0,30 | 0,51 | 0,44 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| CC (1-5) | Coeficiente de correlación | ,927** | 1,00 | ,670** | 0,05 | -0,10 | 0,02 | -0,23 | -0,21 | 0,10 | 0,09 | 0,08 | 0,19 | 0,01 |
| | Sig. (bilateral) | 0,00 | . | 0,00 | 0,78 | 0,55 | 0,91 | 0,18 | 0,22 | 0,56 | 0,60 | 0,65 | 0,26 | 0,98 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| PESO (kg) | Coeficiente de correlación | ,697** | ,670** | 1,00 | ,335* | -0,17 | -0,03 | -0,20 | -0,25 | -0,05 | 0,22 | 0,12 | 0,12 | 0,15 |
| | Sig. (bilateral) | 0,00 | 0,00 | . | 0,05 | 0,31 | 0,88 | 0,24 | 0,15 | 0,79 | 0,20 | 0,49 | 0,49 | 0,38 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| VOLUMEN (ml) | Coeficiente de correlación | 0,17 | 0,05 | ,335* | 1,00 | 0,13 | 0,17 | -0,03 | 0,09 | -0,08 | 0,03 | -0,01 | 0,16 | 0,08 |
| | Sig. (bilateral) | 0,31 | 0,78 | 0,05 | . | 0,46 | 0,33 | 0,86 | 0,62 | 0,63 | 0,88 | 0,95 | 0,34 | 0,63 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| CONCENTRACIÓN (millones) | Coeficiente de correlación | -0,11 | -0,10 | -0,17 | 0,13 | 1,00 | ,640** | ,363* | ,531** | 0,02 | 0,15 | 0,10 | -0,03 | 0,06 |
| | Sig. (bilateral) | 0,52 | 0,55 | 0,31 | 0,46 | . | 0,00 | 0,03 | 0,00 | 0,92 | 0,38 | 0,57 | 0,86 | 0,71 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| MM (1-5) | Coeficiente de correlación | 0,11 | 0,02 | -0,03 | 0,17 | ,640** | 1,00 | ,529** | ,602** | -0,25 | -0,04 | 0,02 | -0,15 | -0,01 |



| | | | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|-------|--------|
| | Sig. (bilateral) | 0,51 | 0,91 | 0,88 | 0,33 | 0,00 | . | 0,00 | 0,00 | 0,14 | 0,80 | 0,93 | 0,38 | 0,93 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| MI (%) | Coefficiente de correlación | -0,15 | -0,23 | -0,20 | -0,03 | ,363* | ,529** | 1,00 | ,571** | -,369* | 0,18 | 0,17 | -0,27 | 0,19 |
| | Sig. (bilateral) | 0,40 | 0,18 | 0,24 | 0,86 | 0,03 | 0,00 | . | 0,00 | 0,03 | 0,29 | 0,33 | 0,12 | 0,27 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| VIVOS (%) | Coefficiente de correlación | -0,17 | -0,21 | -0,25 | 0,09 | ,531** | ,602** | ,571** | 1,00 | -,440** | 0,09 | 0,09 | -0,18 | 0,15 |
| | Sig. (bilateral) | 0,32 | 0,22 | 0,15 | 0,62 | 0,00 | 0,00 | 0,00 | . | 0,01 | 0,61 | 0,61 | 0,29 | 0,38 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| ANORMALES (%) | Coefficiente de correlación | -0,01 | 0,10 | -0,05 | -0,08 | 0,02 | -0,25 | -,369* | -,440** | 1,00 | -0,17 | -0,04 | 0,32 | -0,24 |
| | Sig. (bilateral) | 0,98 | 0,56 | 0,79 | 0,63 | 0,92 | 0,14 | 0,03 | 0,01 | . | 0,34 | 0,80 | 0,06 | 0,16 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| MI. SEMEN DESCONGELADO (%) | Coefficiente de correlación | 0,11 | 0,09 | 0,22 | 0,03 | 0,15 | -0,04 | 0,18 | 0,09 | -0,17 | 1,00 | ,627** | -0,14 | ,522** |
| | Sig. (bilateral) | 0,54 | 0,60 | 0,20 | 0,88 | 0,38 | 0,80 | 0,29 | 0,61 | 0,34 | . | 0,00 | 0,42 | 0,00 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| VIVOS. SEMEN DESCONGELADO (%) | Coefficiente de correlación | 0,18 | 0,08 | 0,12 | -0,01 | 0,10 | 0,02 | 0,17 | 0,09 | -0,04 | ,627** | 1,00 | -0,31 | ,778** |
| | Sig. (bilateral) | 0,30 | 0,65 | 0,49 | 0,95 | 0,57 | 0,93 | 0,33 | 0,61 | 0,80 | 0,00 | . | 0,07 | 0,00 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |
| ANORMALES SEMEN DESCONGELADO (%) | Coefficiente de correlación | 0,11 | 0,19 | 0,12 | 0,16 | -0,03 | -0,15 | -0,27 | -0,18 | 0,32 | -0,14 | -0,31 | 1,00 | -,402* |
| | Sig. (bilateral) | 0,51 | 0,26 | 0,49 | 0,34 | 0,86 | 0,38 | 0,12 | 0,29 | 0,06 | 0,42 | 0,07 | . | 0,02 |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |



| | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|
| HOS TEST | Coeficiente de correlación | 0,13 | 0,01 | 0,15 | 0,08 | 0,06 | -0,01 | 0,19 | 0,15 | -0,24 | ,522** | ,778** | -,402* | 1,00 |
| | Sig. (bilateral) | 0,44 | 0,98 | 0,38 | 0,63 | 0,71 | 0,93 | 0,27 | 0,38 | 0,16 | 0,00 | 0,00 | 0,02 | . |
| | N | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 | 36,00 |

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

* . La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral).

Anexo 3. UNIFORMIDAD DE LAS VARIANZAS

Cuadro 11- ANOVA variables cualicuantitativas

| ANOVA | | | | | | |
|---------|------------------|-------------------|----|------------------|-------|-------|
| | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| VOLUMEN | Entre grupos | 0,80 | 2 | 0,40 | 3,864 | 0,031 |
| | Dentro de grupos | 3,42 | 33 | 0,10 | | |
| | Total | 4,23 | 35 | | | |
| CONCEN. | Entre grupos | 57632,58 | 2 | 28816,29 | 0,432 | 0,65 |
| | Dentro de grupos | 2201469,06 | 33 | 66711,18 | | |
| | Total | 2259101,64 | 35 | | | |
| MM | Entre grupos | 0,17 | 2 | 0,08 | 0,329 | 0,72 |
| | Dentro de grupos | 8,63 | 33 | 0,26 | | |
| | Total | 8,81 | 35 | | | |
| MI | Entre grupos | 80,76 | 2 | 40,38 | 0,23 | 0,8 |
| | Dentro de grupos | 5794,25 | 33 | 175,58 | | |
| | Total | 5875 | 35 | | | |
| VIVOS | Entre grupos | 0,70 | 2 | 0,35 | 0,002 | 0,99 |
| | Dentro de grupos | 5290,27 | 33 | 160,31 | | |
| | Total | 5290,97 | 35 | | | |
| ANORM | Entre grupos | 22,73 | 2 | 11,37 | 1,82 | 0,18 |
| | Dentro de grupos | 206,16 | 33 | 6,25 | | |
| | Total | 228,89 | 35 | | | |
| MI.DESC | Entre grupos | 430,02 | 2 | 215,01 | 1,29 | 0,31 |
| | Dentro de grupos | 5777,62 | 33 | 175,08 | | |



| | | | | | | |
|------------------------|-------------------------|---------|----|--------|------|------|
| | Total | 6207,64 | 35 | | | |
| VIVOS. DESC | Entre grupos | 32,68 | 2 | 16,34 | 0,14 | 0,87 |
| | Dentro de grupos | 3736,07 | 33 | 113,21 | | |
| | Total | 3768,75 | 35 | | | |

Cuadro 12- Prueba de homogeneidad de varianza

Prueba de homogeneidad de varianzas

| | Estadístico de Levene | gl1 | gl2 | Sig. |
|----------------------|------------------------------|------------|------------|-------------|
| VOLUMEN | 3,20 | 1,00 | 34,00 | 0,08 |
| CONCENTRACIÓN | 29,01 | 1,00 | 34,00 | 0,00 |
| MM | 1,48 | 1,00 | 34,00 | 0,23 |
| MI | 0,14 | 1,00 | 34,00 | 0,71 |
| VIVOS | 2,48 | 1,00 | 34,00 | 0,13 |
| ANORM | 7,19 | 1,00 | 34,00 | 0,01 |
| MI. DESC | 0,48 | 1,00 | 34,00 | 0,49 |
| VIVOS. DESC | 4,13 | 1,00 | 34,00 | 0,05 |
| ANORM. DESC | 1,41 | 1,00 | 34,00 | 0,24 |
| HOST | 0,86 | 1,00 | 34,00 | 0,36 |

ANEXO 4. Prueba de Mann-Whitney

Cuadro 13 - Prueba de Mann-Whitney

| Rangos | | | | |
|----------------------|------------------|----------|-----------------------|-----------------------|
| | TEMPORADA | N | Rango promedio | Suma de rangos |
| CONCENTRACIÓN | 1 | 18 | 23,75 | 427,5 |
| | 2 | 18 | 13,25 | 238,5 |
| | Total | 36 | | |
| ANORMALES | 1 | 18 | 15,25 | 274,5 |
| | 2 | 18 | 21,75 | 391,5 |
| | Total | 36 | | |



| Estadísticos de prueba ^a | | |
|---|-------------------|-------------------|
| | CONCENTRACIÓN | ANORMALES |
| U de Mann-Whitney | 67,5 | 103,5 |
| W de Wilcoxon | 238,5 | 274,5 |
| Z | -2,99 | -2,208 |
| Sig. asintótica (bilateral) | 0,003 | 0,027 |
| Significación exacta [2*(sig. unilateral)] | ,002 ^b | ,064 ^b |
| a. Variable de agrupación: TEMPORADA | | |
| b. No corregido para empates. | | |

Anexo 5. Descriptivos Generales condición corporal, diámetro testicular, y peso por temporadas.

Cuadro 14- Descriptivos Generales condición corporal.

| Temporada | Variable | n | Media | D.E | Mín | Máx |
|-----------|--------------------|----|-------|------|------|-----|
| 1 | CONDICIÓN CORPORAL | 18 | 2,76 | 0,2 | 2,5 | 3 |
| 2 | CONDICIÓN CORPORAL | 18 | 2,92 | 0,12 | 2,75 | 3 |

Cuadro 15- Descriptivos Generales diámetro testicular.

| Temporada | Variable | n | Media | D.E. | Mín | Máx |
|-----------|---------------------|----|-------|------|-----|-----|
| 1 | DIAMETRO TESTICULAR | 18 | 31,5 | 2,15 | 29 | 35 |
| 2 | DIAMETRO TESTICULAR | 18 | 32,83 | 1,38 | 31 | 34 |

**Cuadro 16-** Descriptivos Generales peso

| Temporada | Variable | n | Media | D.E. | Mín | Máx |
|-----------|----------|----|-------|------|-------|-------|
| 1 | PESO KG | 18 | 39,39 | 3,11 | 35,00 | 44,00 |
| 2 | PESO KG | 18 | 41,94 | 1,35 | 40,00 | 43,00 |

Anexo 6. Análisis de varianza (ADEVA) condición corporal diámetro testicular, y peso por temporadas

Cuadro 17- Análisis de varianza (ADEVA) condición corporal, diámetro testicular.

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV | |
|--|--------|----------------|-------------------|------|---------|
| Diámetro Testicular | 36 | 0,13 | 0,10 | 5,62 | |
| Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) | | | | | |
| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
| Modelo. | 16,00 | 1 | 16,00 | 4,9 | 0,0337 |
| Temporada | 16,00 | 1 | 16,00 | 4,9 | 0,0337 |
| Error | 111,00 | 34 | 3,26 | | |
| Total | 127,00 | 35 | | | |

Cuadro 18- Análisis de varianza (ADEVA) peso.

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV | |
|--|--------|----------------|-------------------|-------|---------|
| PESO KG | 36 | 0,23 | 0,21 | 5,89 | |
| Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) | | | | | |
| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
| Modelo. | 58,78 | 1 | 58,78 | 10,24 | 0,003 |
| Temporada | 58,78 | 1 | 58,78 | 10,24 | 0,003 |
| Error | 195,22 | 34 | 5,74 | | |
| Total | 254 | 35 | | | |

**Cuadro 19-** Análisis de varianza (ADEVA) condición corporal.

| Variable | N | R ² | R ² Aj | CV | |
|--|------|----------------|-------------------|------|---------|
| C.CORPORAL | 36 | 0,18 | 0,16 | 5,84 | |
| Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III) | | | | | |
| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
| Modelo. | 0,21 | 1 | 0,21 | 7,65 | 0,0091 |
| Temporada | 0,21 | 1 | 0,21 | 7,65 | 0,0091 |
| Error | 0,93 | 34 | 0,03 | | |
| Total | 1,14 | 35 | | | |

Cuadro 20- Valores cuali-cuantitativos individuales de semen fresco en ambas temporadas (Media±DE).

| Individuo | VOL. (ml) | CONC. (10 ⁶ x ml) | ESPZ. TOTALES -106 | MM | MI (%) | VIVOS (%) | ANORM (%) |
|-----------|--------------|---------------------------------|--------------------------|---------|-----------|--------------|--------------|
| 1 | 1,7±0,7 | 1390±564 | 2608±769 | 4,0±1,3 | 59,7±32,2 | 72,6±24,9 | 4,0±6,9 |
| 2 | 1,0±0,9 | 2110±773 | 2201±666 | 4,9±1,7 | 98,9±42,8 | 96,1±33,2 | 10,6±9,3 |
| 3 | 1,5±0,3 | 1565±262 | 2235±656 | 4,1±0,7 | 75,7±14,6 | 75,9±3,4 | 5,5±2,9 |

