

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL**



**“ESTRATEGIAS PARA REDUCIR EL ESTRÉS CALÓRICO
Y SU EFECTO SOBRE CARACTERÍSTICAS SEMINALES
EN VERRACOS JÓVENES”**

Presentada por:

RAUL ALEJANDRO DOMINGUEZ OTOYA

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO ZOOTECNISTA**

Lima – Perú

2018

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**FACULTAD DE ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL**

**“ESTRATEGIAS PARA REDUCIR EL ESTRÉS CALÓRICO
Y SU EFECTO SOBRE CARACTERÍSTICAS SEMINALES
EN VERRACOS JÓVENES”**

Presentado por:

RAUL ALEJANDRO DOMINGUEZ OTOYA

Sustentado y aprobado ante el siguiente jurado

**Ing. Próspero Cabrera Villanueva
PRESIDENTE**

**Ing. Enrique Alvarado Malca
PATROCINADOR**

**Ing. José Cadillo Castro
MIEMBRO**

**Ing. Amalia Gallegos Cárdenas
MIEMBRO**

A mis padres:

Raúl y Guille

INDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	OBJETIVOS.....	2
2.1.	Objetivo general.....	2
2.2.	Objetivos específicos	2
III.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1.	El aparato reproductor del verraco.....	3
3.2.	El eje Hipotálamo-Hipófisis-Testículo	11
3.3.	Los espermatozoides.....	14
3.4.	La Espermatogénesis	15
3.5.	Ciclo del epitelio seminífero.....	18
3.6.	Maduración del espermatozoide en el epidídimo	20
3.7.	Valoración de la calidad seminal	21
3.8.	Factores que afectan la calidad espermática	27
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	35
4.1.	Lugar de ejecución.....	35
4.2.	Duración del estudio	35
4.3.	Materiales y equipos utilizados.....	36
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.4.	Temperatura del semen	48
4.5.	Volumen seminal	48
5.1.	Concentración espermática	50
5.2.	Motilidad espermática.....	50

5.3.	Vitalidad espermática	51
5.4.	Gota citoplasmática.....	51
5.5.	Viabilidad espermática	51
5.6.	Correlación entre temperatura ambiental y características seminales	52
VI.	CONCLUSIONES.....	54
VII.	RECOMENDACIONES	55
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
IX.	ANEXOS.....	62

INDICE TABLAS

Tabla 1:Comparación entre las frecuencias de las fases del ciclo espermatogénico y su duración en mamíferos.	19
Tabla 2: Efecto de la raza o cruce sobre las características seminales	28
Tabla 3:Efecto de la raza o cruce sobre las características seminales	28
Tabla 4: Influencia de la edad del semental en los parámetros de calidad del semen y dosis producidas por eyaculado.	29
Tabla 5: Variables independientes.....	46
Tabla 6: Variables dependientes.....	47
Tabla 7. Promedios de las características seminales evaluadas.....	49
Tabla 8. Correlación entre temperatura ambiental y las variables cuantitativas concernientes a calidad de semen evaluadas.	53

INDICE FIGURAS

Figura 1: Composición del parénquima testicular del verraco sexualmente maduro.	6
Figura 2: Temperaturas promedio en C° dentro del sistema escrotal del verraco.	7
Figura 3: Variación de la temperatura en los distintos componentes del sistema escrotal en verracos estresados a 40C°.	8
Figura 4: Regulación hormonal del eje Hipotálamo-Hipófisis-Testicular.	13
Figura 5: Asociación de células en cada una de las doce etapas del ciclo del epitelio seminífero del verraco.	18
Figura 6: Distribución de presión osmótica promedio de verracos.	25
Figura 7. Entrenamiento de verracos con maniquí movil.	36
Figura 8. Potro movil utilizado para entrenamiento y colección de semen.	37
Figura 9. Tratamiento 1: Baños de agua a verracos jóvenes.	38
Figura 10. Tratamiento 2: Utilización de ventiladores en los corrales de verracos jóvenes.	39
Figura 11. Técnica de colección de semen con potro móvil.	41
Figura 12. Caja temperada utilizada en el transporte de las muestras seminales.	41
Figura 13. Cámara de Neubauer para conteo de espermatozoides.	43

INDICE ANEXOS

Anexo 1: Características evaluadas en el verraco PD 6410	63
Anexo 2: Características evaluadas en el verraco PP 2408	64
Anexo 3: Características evaluadas en el verraco PD 6210	65
Anexo 4: Características evaluadas en el verraco PP 2406	66
Anexo 5: Características evaluadas en el verraco PD 6403	67
Anexo 6: Características evaluadas en el verraco PP 2407	68
Anexo 7: Prueba de Kruskall Wallis para temperatura seminal.....	70
Anexo 8: Pruebas de Tukey y Scheffe para volumen seminal.	71
Anexo 9: Prueba de Kruskall Wallis para concentración seminal.....	72
Anexo 10: Prueba d Tukey y Scheffe para motilidad espermática.....	73
Anexo 11: Prueba de Kruskall Wallis para vitalidad espermática.	74
Anexo 12: Prueba de Kruskall Wallis para gota citoplasmática.	75
Anexo 13: Prueba de Kruskall Wallis para gota citoplasmática distal.....	76
Anexo 14: Pruebas de Tukey y Scheffe para presencia de gota citoplasmática proximal. ..	77
Anexo 15: Prueba de Kruskall Wallis para viabilidad espermática.	78

I. INTRODUCCIÓN

El desempeño de los sementales se ve marcadamente influenciado por factores de origen genético o ambiental como la raza, la edad, el clima, etc. Por lo tanto, entender los aspectos básicos de la fisiología de los verracos y como se ven influenciados por estos factores es importante para lograr buenos parámetros reproductivos. En las granjas porcinas, dichos parámetros varían a lo largo del año y alcanzan los indicadores más bajos durante o inmediatamente después de los meses de verano, debido principalmente a que no se adoptan estrategias de manejo para los verracos bajo estas condiciones.

El cerdo doméstico posee una serie de mecanismos fisiológicos que permiten mantener su homotermia, estos mecanismos actúan con eficiencia dentro de un intervalo termoneutral delimitado por una temperatura ambiental mínima y una máxima, que varían según la edad del animal. En la costa peruana, la temperatura ambiental tiende a situarse por encima del intervalo termoneutral de los cerdos adultos durante los meses de verano. Debido a esto, los reproductores sufren de estrés calórico en esta época del año.

Se han realizado diversos estudios que señalan el efecto negativo del estrés térmico en la reproducción de los cerdos, principalmente sobre las características seminales de los verracos. Se demostró que la eficiencia espermatogénica se ve reducida en aproximadamente un 50% en verracos estresados y que producen mayor cantidad de espermatozoides anormales. Para minimizar esto se debe utilizar técnicas de manejo que permitan mantener a estos animales dentro de la temperatura de confort.

El objetivo de la presente investigación es comparar dos estrategias de manejo utilizados en granjas comerciales de cerdos, con el fin de disminuir los efectos negativos que el estrés calórico causa sobre la producción y calidad espermática, considerando la evaluación de la concentración espermática, porcentaje de motilidad espermática, porcentaje de espermatozoides vivos, muertos y anormales e integridad de la membrana espermática como las medidas indicadoras del manejo ambiental.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Comparar dos estrategias de manejo de la temperatura para disminuir el estrés calórico en verracos jóvenes.

2.2. Objetivos específicos

Evaluar características macroscópicas (Volumen) y microscópicas (Concentración, motilidad, vitalidad, anormalidades, viabilidad) de muestras seminales provenientes de verracos jóvenes, previa evaluación de temperatura y correlacionarlas con la temperatura ambiental.

Cuantificar el efecto del estrés térmico sobre las características seminales de verracos jóvenes durante los meses de verano.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. El aparato reproductor del verraco

El aparato reproductor de los verracos se compone de una variedad de diferentes estructuras que incluyen los testículos, un sistema tubular de almacenamiento y conducción, glándulas accesorias que participan en la formación del semen, y el pene, órgano copulador del verraco.

3.1.1. *Los testículos*

Son órganos ubicados en el interior del escroto, responsables de la producción de gametos masculinos (espermatogénesis) y de hormonas sexuales (esteroidogénesis). Cada una de estas dos funciones ocurre en compartimientos anatómicos diferentes, pero interrelacionados entre sí. La producción hormonal tiene lugar, mayoritariamente, en el tejido *conjuntivo intersticial*, mientras que la espermatogénesis tiene lugar en el interior de los *túbulos seminíferos* (Figura 1).

Los túbulos seminíferos

Son una intrincada red de conductos donde se producen los espermatozoides. Su epitelio está constituido por una túnica propia, las células de Sertoli y las células germinales (Williams, 2013).

La *túnica propia* está constituida a su vez por una membrana basal a la que se conectan, mediante fibras de colágeno y elastina, unas células denominadas peritubulares, que se disponen en capas y presentan características contráctiles. Su función es ayudar al transporte del contenido tubular mediante su contracción (Bernabé *et al.*, 2012).

Las *Células de Sertoli* son las células de sostén del epitelio seminífero. Desempeñan varias funciones importantes durante la espermatogénesis: Son las encargadas del apoyo y la nutrición de las células germinales en desarrollo, realizan la compartimentación del túbulo

seminífero por uniones estrechas para proporcionar protección, ofrecen un entorno especializado para el desarrollo de las células germinales, la liberación de espermátidas tardías hacia la luz tubular, la secreción de fluido, proteínas y varios factores de crecimiento, realizan fagocitosis de las células germinales en degeneración y del exceso de citoplasma de los espermatozoides liberados (França *et al.*, 2005). Estas células presentan receptores para testosterona y FSH, que actúan como transductores de estas señales hormonales hacia las células germinales, aunque los mecanismos implicados todavía no han sido esclarecidos (Arce *et al.*, 2006). Estas células también producen sustancias como la proteína fijadora de andrógenos y la inhibina. La inhibina alcanza la corriente sanguínea y ejerce una retroalimentación negativa en la secreción de FSH (Bernabé *et al.*, 2012).

Las *Células germinales* se multiplican en el epitelio germinal, presentando procesos de división celular. Comprenden las espermatogonias, espermaticitos I y II, espermátidas y espermatozoides (Marina, 2003), difieren en algunos aspectos del resto de las células generales del organismo, pues son las únicas con capacidad meiótica, su diferenciación es temprana en el embrión y están conectadas entre sí mediante puentes intercelulares, de manera que se pueden crear grupos celulares que se encuentran en la misma fase de desarrollo (Williams, 2013).

El tejido conjuntivo intersticial

Se encuentra situado entre los túbulos seminíferos, estando compuesto por macrófagos, linfocitos, tejido conjuntivo, vasos sanguíneos, vasos linfáticos y diferentes tipos celulares entre los que se encuentran las células de Leydig.

Las Células de Leydig son responsables de la producción de testosterona, la diferenciación sexual, el desarrollo y mantenimiento de los caracteres sexuales secundarios y el mantenimiento de la espermatogénesis (Arce *et al.*, 2006).

El testículo es isotérmico (Figura 2), esto quiere decir que la temperatura tiene poca variación en sus diferentes partes con aproximadamente 35.7°C (McNitt, et al., 1972). Sin embargo, debido a su ubicación externa, necesita de sistemas anatómicos para su termorregulación, formados por un complejo vascular de arterias y venas, llamado plexo pampiniforme y dos grupos de músculos: La túnica Dartos, que recubre el interior del escroto y controla su proximidad a los testículos. Ante la presencia de temperaturas frías, se contrae tirando el saco escrotal más cerca a los testículos para un mayor aislamiento y se relaja durante el clima cálido que permite al escroto retroceda en una posición distal; y el músculo Cremáster, que está situado en el cordón espermático. Se contrae durante el tiempo frío tirando el saco escrotal y testicular más cerca a la base del cuerpo y se relaja durante condiciones cálidas, permitiendo a los testículos volver a su posición normal. Ambos músculos tienen un suministro abundante de fibras nerviosas que responden a los sensores de temperatura en el sistema nervioso central. Debido a que los verracos no tienen testículos pendulares como toros, la túnica Dartos es más importante que el músculo Cremáster en la regulación de la temperatura testicular. En la mayoría de las especies, la temperatura de la sangre arterial baja entre 2 y 4°C antes de su entrada en los testículos (Williams, 2013).

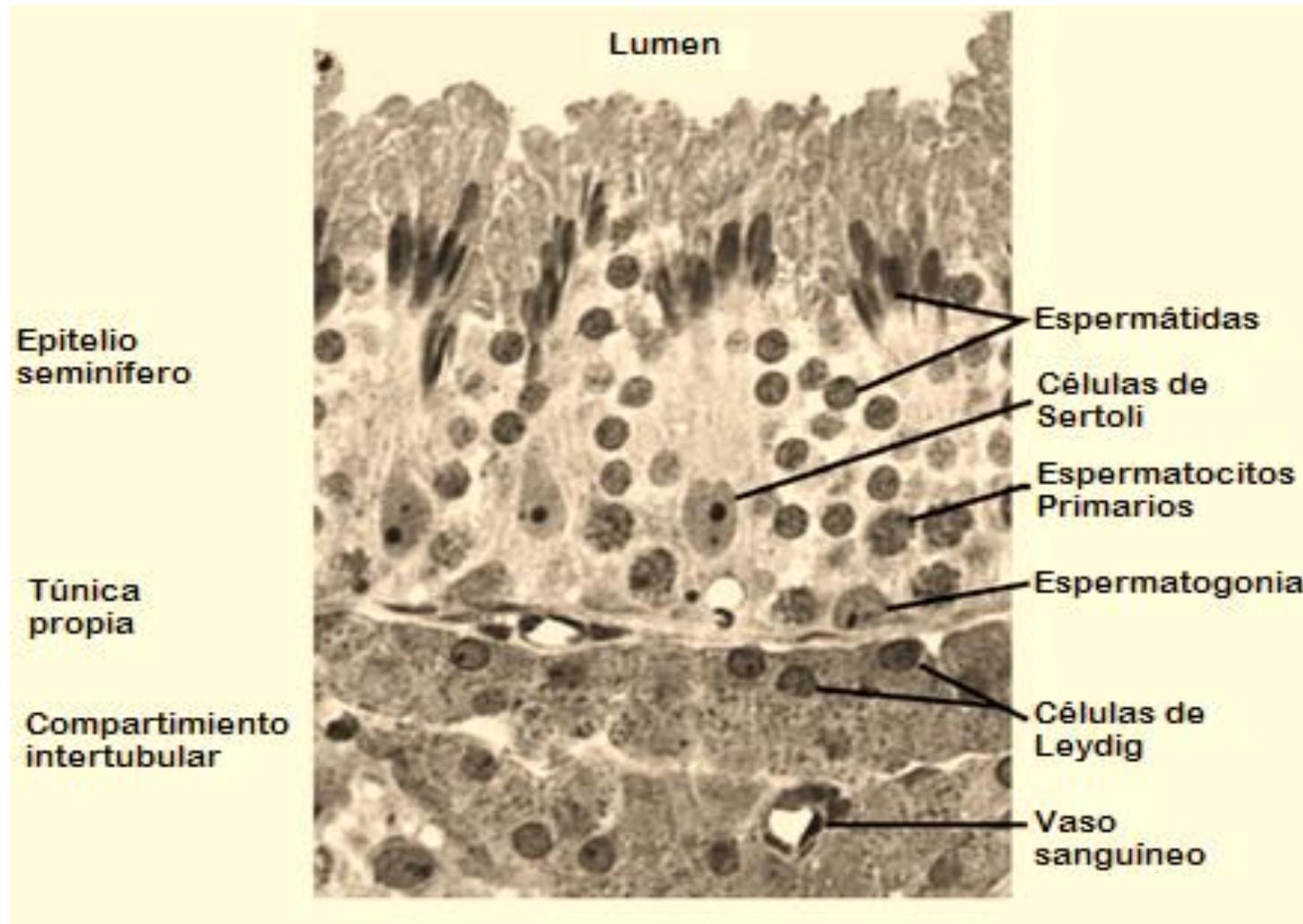


Figura 1: Composición del parénquima testicular del verraco sexualmente maduro.

FUENTE: França, *et al.*, 2005

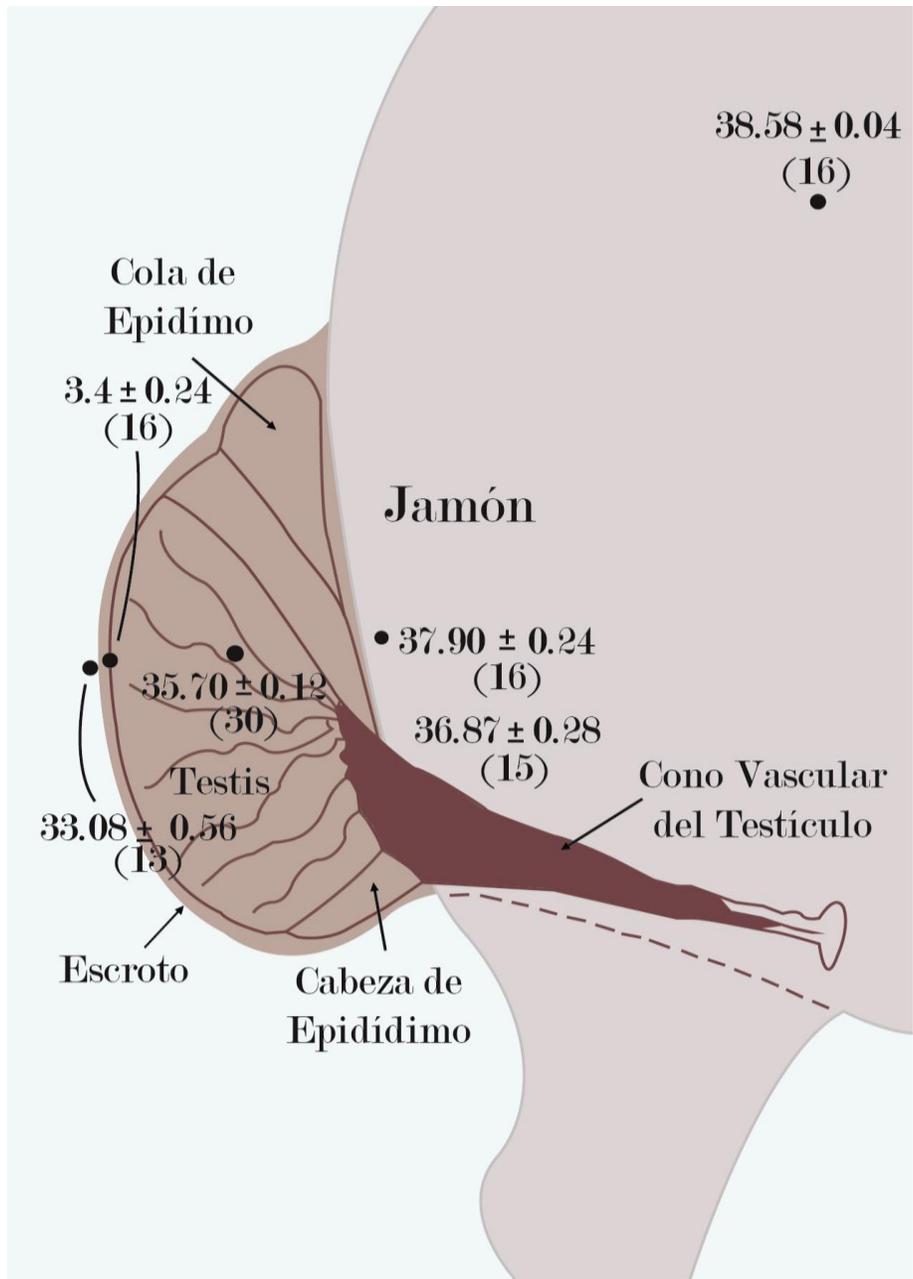


Figura 2: Temperaturas promedio en C° dentro del sistema escrotal del verraco.

FUENTE: McNitt, et al, 1972.

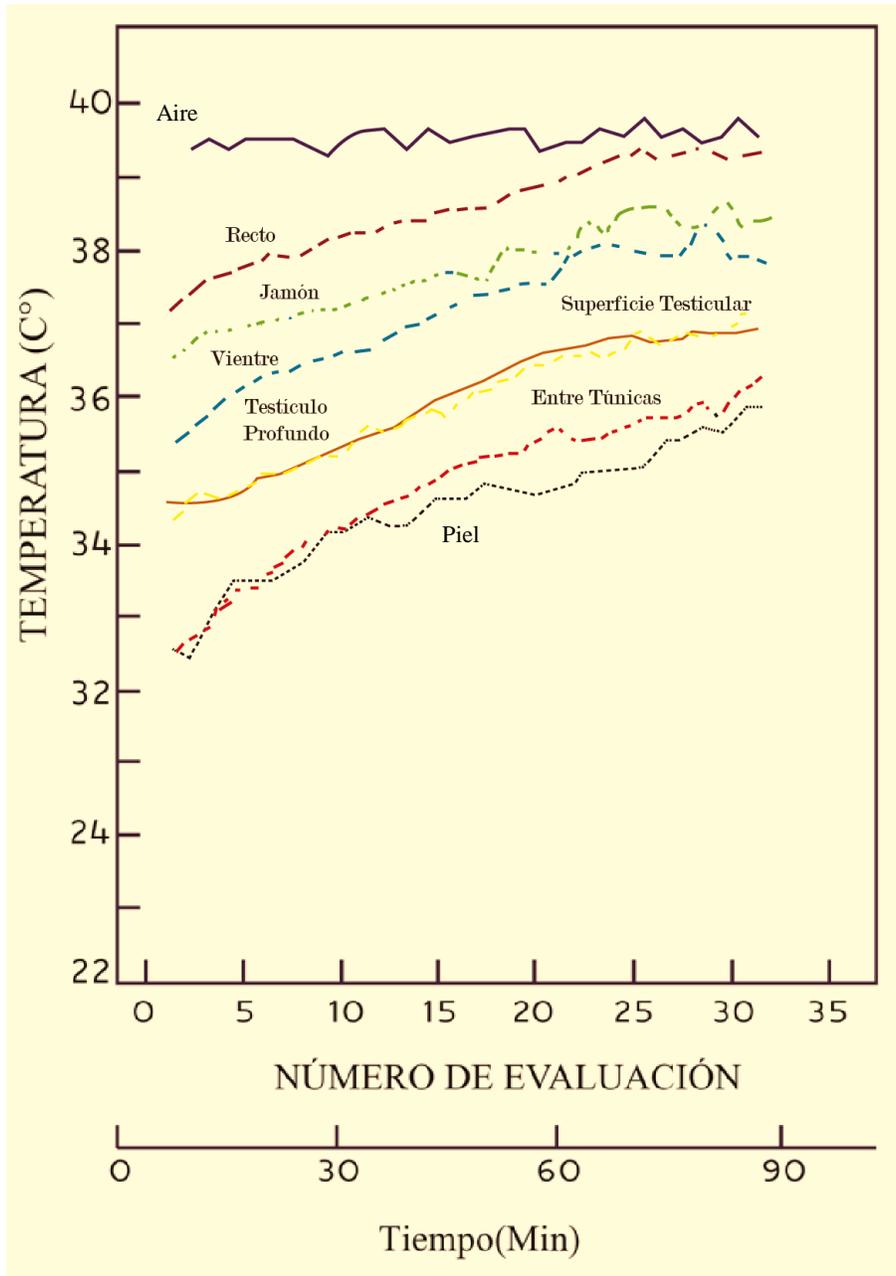


Figura 3: Variación de la temperatura en los distintos componentes del sistema escrotal en verracos estresados a 40C°.

FUENTE: McNitt, et al., 1972.

3.1.2. *El epidídimo*

Es un conducto largo, tortuoso y enrollado, que presenta longitud variable dependiendo de la especie: 40 m en el toro y verraco, y unos 70 m en el caballo. Los espermatozoides pueden estar almacenados en este conducto unos 10-15 días. Anatómicamente, podemos dividirlo en tres partes: cabeza, cuerpo y cola (Bernabé *et al.*, 2012).

Los espermatozoides se vuelven móviles y adquieren capacidad de fertilización en el cuerpo del epidídimo, debido a la secreción de factores por las células en esta región. El movimiento de los espermatozoides a través del epidídimo se piensa que es debido al flujo de fluido, la acción del epitelio estereociliado y contracciones de la capa muscular circular. Los espermatozoides no-eyaculados son eliminados progresivamente por excreción en la orina. Los espermatozoides que no se excretan en la orina son sometidos a un proceso de envejecimiento gradual. Durante el proceso de envejecimiento, se pierde primero la capacidad fertilizante y es seguida por una disminución de la motilidad. Además, se pueden encontrar espermatozoides en proceso de muerte, éstos aparecen a menudo formando "aglutinaciones" (Williams, 2013).

3.1.3. *Las glándulas anexas*

Son glándulas situadas en el trayecto de los conductos seminales. Sus secreciones forman parte del semen y favorecen el movimiento, nutrición, longevidad y vigor de los espermatozoides. Forman parte de las glándulas accesorias las glándulas vesiculares, la próstata y las glándulas bulbouretrales o de Cowper (Bernabé *et al.*, 2012).

Glándulas vesiculares

Se encuentran laterales a la parte terminal de cada conducto deferente. En el verraco, son grandes, lobuladas y relativamente difusas. A menudo parecen tener un color naranja. Son responsables de la mayoría del volumen líquido del plasma seminal. Además, segregan altos niveles de fructosa y ácido cítrico, así como inositol, ergotionina, varios aminoácidos y

glicerylfosforylcolina. La mayoría de estos compuestos se utiliza como sustratos de energía por espermatozoides eyaculados (Garner y Hafez, 1993. Citados por Williams, 2013) su secreción se evacua por un conducto que desemboca en la ampolla del conducto deferente (Bernabé *et al.*, 2012).

Glándula protática

Se encuentra al lado de las glándulas vesiculares, la mayoría de su cuerpo está incrustada en la capa muscular que rodea la uretra pélvica. Las secreciones de la próstata durante la eyaculación son principalmente alcalinas y contienen, entre otros, calcio y fosfatasa ácida. La función principal del fluido de la próstata es neutralizar las secreciones vaginales ácidas. Las secreciones de la próstata también se creían que dan al semen su olor característico (Williams, 2013).

Glándulas bulbouretrales o de Cowper

Son glándulas largas y cilíndricas, situadas a ambos lados de la uretra pélvica cerca del arco de la pelvis. Las glándulas bulbouretrales secretan la fracción gelatinosa tan característica de los eyaculados porcinos. Se han postulado muchas funciones para el componente de gel de semen, pero pocos han sido probados (Williams, 2013).

3.2. El eje Hipotálamo-Hipófisis-Testículo

La regulación hormonal de la espermatogénesis (Figura 4) está basada en un sistema integrado de varias glándulas denominado eje Hipotálamo – Hipófisis – Testículo (HHT). El control primario de dicho eje es ejercido por un decapeptido, la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) producida en el hipotálamo, que es vertida a la circulación portal hipotálamo – hipofisaria y estimula la síntesis y liberación de dos hormonas gonadotrópicas de naturaleza glicoproteica: La Hormona Folículo Estimulante (FSH) y la Hormona Luteinizante (LH), ambas son sintetizadas por una misma población celular: las células gonadotropas ubicadas en la hipófisis anterior o glándula pituitaria. Tanto la FSH como la LH, a través del torrente sanguíneo van a unirse a receptores específicos de las células de Leydig y de Sertoli respectivamente, ambos tipos celulares presentes en el testículo (Arce *et al.*, 2006, Álvarez, A. e Hilario, E. 2010)

La FSH va a controlar, entre otros factores, la entrada de las células germinales primordiales en el proceso espermatogénico y las divisiones mitóticas de las espermatogonias. Actúa a través de receptores asociados a la proteína G, situados solo en las células de Sertoli. El rendimiento en la producción de espermatozoides se eleva bajo su acción, evitando además la degradación de las espermatogonias primarias. Es necesaria durante el desarrollo para estabilizar las funciones de las células de Sertoli. En los testículos inmaduros, controla la proliferación de las células de Sertoli. Ya en la edad adulta, la espermatogénesis es dependiente de esta hormona. La secreción de esta hormona es controlada por retroalimentación negativa a través de la testosterona, el estradiol y de las inhibinas, unas hormonas testiculares, producidas por las células de Sertoli. Si se produce un descenso de la espermatogénesis, disminuye el nivel de inhibinas, y esta reducción se asocia con los niveles de FSH. También se controla mediante un mecanismo paracrino, mediado por las activinas (Álvarez e Hilario, 2010).

La LH regula el crecimiento y diferenciación de las células de Leydig, que se localizan en las regiones intertubulares del testículo, adyacentes a los vasos sanguíneos (Arce *et al.*, 2006). Se encarga de elevar los niveles testiculares de testosterona (Álvarez e Hilario, 2010).

La testosterona es un andrógeno producido por las células de Leydig, es liberada al torrente sanguíneo y actúa sobre el hipotálamo y la hipófisis. En estas glándulas actúa como regulador de la liberación tanto de la LH como de la FSH y de la GnRh cuando actúa sobre el hipotálamo. También actúa como regulador de la LH si actúa sobre la hipófisis, impidiendo su liberación. Actuando por retroalimentación negativa es un regulador importante de la espermatogénesis. Es esencial para el inicio y mantenimiento de la espermatogénesis. Actúa uniéndose a receptores de andrógenos (AR), que en los testículos se encuentran en las células de Sertoli, células tubulares y en las propias células de Leydig. Puede ser metabolizada en tejidos periféricos a dihidrotestosterona (DHT), un potente andrógeno, o a estradiol, un estrógeno. Estos andrógenos y estrógenos actúan de manera independiente a la secreción de la LH (Álvarez e Hilario, 2010).

Parece que el papel principal de los estrógenos seminales es estimular importantes eventos reproductivos en el tracto reproductor femenino durante la reproducción. Entre las funciones que ejercen los estrógenos seminales cuando ingresan al aparato genital femenino, se pueden citar la de favorecer el transporte espermático mediante la liberación de prostaglandina F_{2α} (PG F_{2α}) del endometrio, la de aumentar la frecuencia de las contracciones, y, además, la de influir en el momento de la ovulación, con el aumento de la liberación de PGF_{2α} intrafolicular (que llega a los ovarios desde la arteria uterina, tal vez por circulación linfática), consiguiéndose actividad enzimática y ruptura folicular (Strzezek *et al.*, 1999. Citado por Williams, 2013).

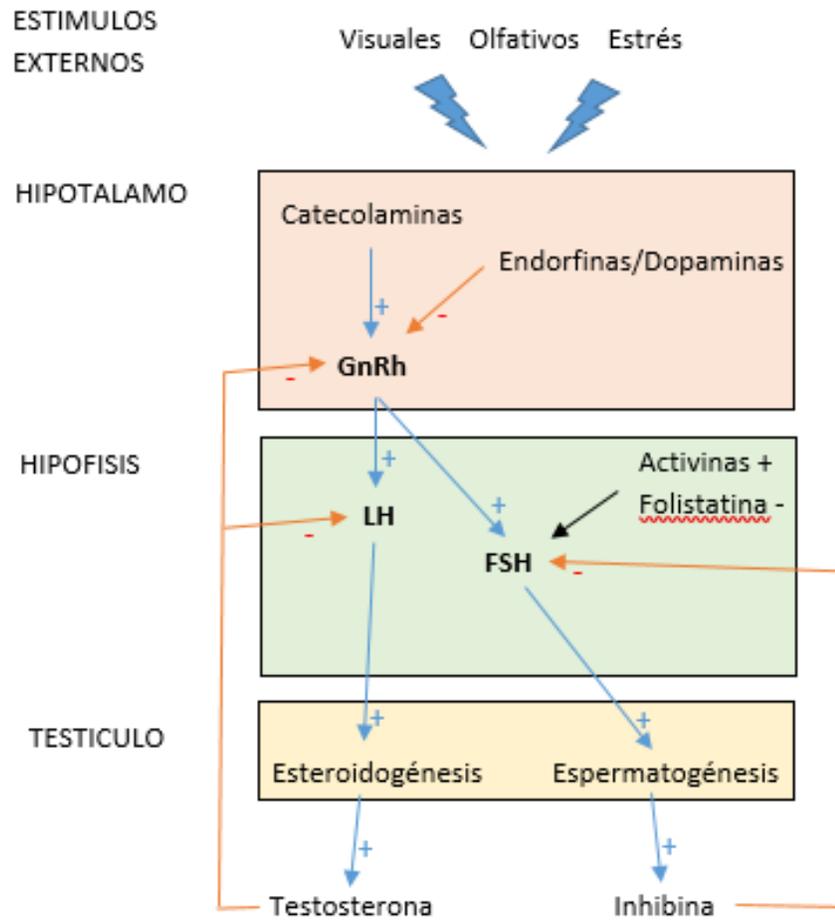


Figura 4: Regulación hormonal del eje Hipotálamo-Hipófisis-Testicular.

FUENTE: Arce *et al*, 2006

3.3. Los espermatozoides

3.3.1. Morfología

El espermatozoide es un gameto modificado con una longitud de $47\mu\text{m}$ en Landrace Alemán y está constituido por tres porciones esenciales: la cabeza, la parte intermedia y el flagelo (Bonet, 1987).

La cabeza es ovo-plana y mide unos $8.5\mu\text{m}$ de longitud por unos $4.5\mu\text{m}$ de diámetro y $0.35\mu\text{m}$ de grosor (Bonet, 1987), está constituida por el núcleo y el acrosoma (Bernabé *et al.*, 2012). El acrosoma, puede definirse como una vesícula limitada por membranas, que recubre el polo anterior de la cabeza, en forma de “gorra” o casquete. La base del núcleo está rodeada por la región post-acrosomal; que en los espermatozoides muertos esta región se tiñe con ciertos colorantes (como la eosina) y esta reacción sirve para valorar la calidad del eyaculado (Williams, 2013).

La pieza intermedia es una estructura relativamente corta y estrecha, entre la cabeza y el flagelo, presenta una longitud de unos $10\mu\text{m}$ por $0.7\mu\text{m}$ de diámetro (Bonet, 1987).

El flagelo, de unos $24\mu\text{m}$ por unos $0.6\mu\text{m}$ de diámetro, presenta una pieza terminal ahusada de unos $2.5\mu\text{m}$ de longitud (Bonet, 1987). Genera la fuerza propulsiva esencial para la penetración al ovocito. En esta porción del espermatozoide ocurren una serie de eventos metabólicos que le permiten al espermatozoide elaborar ATP y utilizarlo para la energía necesaria para la motilidad (Williams, 2013).

3.4. La Espermatogénesis

La espermatogénesis representa el proceso mediante el cual las células de la línea germinal (espermatogonias, espermatoцитos, espermátidas, etc.) experimentan un complejo proceso de proliferación y maduración que culmina en la producción de espermatozoides funcionales. Este proceso tiene lugar en el epitelio seminífero, una compleja estructura poliestratificada integrada por 4-8 capas de células germinales y por células de Sertoli que se extienden de manera radial entre la membrana basal del túbulo seminífero y la luz tubular. Los procesos de maduración-diferenciación se inician en la porción más periférica del túbulo seminífero y culminan en la luz tubular (Arce *et al.*, 2006).

En todos los mamíferos, comprende tres fases funcional y morfológicamente distintas: Fase espermatogonial o mitótica, fase espermatoцitaria o meiótica y fase espermiogénica o post-meiótica (França *et al.*, 2005). Posterior a estas fases ocurre la espermiación o liberación de los espermatozoides de su relación con la célula de Sertoli, quedando libres en la luz del túbulo seminífero para poder ser transportados a través de una red de túbulos hasta el epidídimo, donde adquirirán la movilidad traslativa (Marina, 2003).

Fase espermatogonial o mitótica.

Es la fase proliferativa de la espermatogénesis que da inicio poco antes de la pubertad. Las células germinales indiferenciadas llamadas gonocitos, se dividen por mitosis dando lugar a una renovación continua del epitelio germinal y forman espermatogonias que están en contacto con la membrana basal del túbulo seminífero. Las espermatogonias no se separan de forma completa tras la división celular, permaneciendo unidas entre sí por puentes citoplasmáticos intercelulares que persistirán durante todas las fases de la espermatogénesis y que probablemente sirvan para facilitar interacciones bioquímicas que permitan la maduración sincrónica de las células de la línea germinal (Arce *et al.*, 2006).

Durante el proceso de división, se distinguen tres tipos de espermatogonias: la espermatogonia tipo A, que permanece en el compartimiento basal del túbulo seminífero, las

espermatogonias intermedias y la espermatogonia B, que pasa al compartimiento luminal y se transforma en espermatocito primario (Marina, 2003).

Si bien todavía está en controversia el número de divisiones mitóticas entre la espermatogonia y el espermatocito primario, comúnmente se habla de 6 a 8 estadios. Esto significa que entre 32 y 128 espermatocitos primarios se forman a partir de una espermatogonia. Luego de la formación del espermatocito primario, no se forma más ADN (Williams, 2013).

La elevada capacidad de soporte de las células de Sertoli y la corta duración del ciclo espermatogénico son los principales factores responsables de la alta eficiencia espermatogénica del cerdo (França *et al.*, 2005).

Fase espermatocitaria o meiótica

Las divisiones de la etapa espermatocitaria son de tipo reduccional o meióticas. Comprende dos divisiones celulares, de espermatocito I a espermatocito II y de este a espermatida. Por lo tanto, de un espermatocito I, se forman cuatro espermatidas con carga cromosómica haploide (Marina, 2003).

Durante la meiosis, además de la reducción cromosómica a la mitad, se produce el “crossing-over” o intercambio génico entre los cromosomas homólogos heredados del padre y de la madre. El intercambio génico tiene lugar durante la fase paquiténica de la profase I. En la fase anterior, la de zigoteno, se produce el apareamiento de cromosomas homólogos de una forma muy precisa gracias a los complejos sinaptinémicos que permiten el intercambio de genes alelos. La rotura del DNA y su reparación son aspectos importantes dentro del proceso meiótico (Marina, 2003).

Fase espermiogénica o post-meiótica

En esta fase no hay división celular, solo diferenciación celular. La espermatida, célula redonda y haploide, se transforma en espermatozoide. Los cambios más evidentes son la transformación del aparato de Golgi en acrosoma, la elongación del núcleo pasando de redondo a elíptico; el desarrollo del flagelo espermático a partir del centriolo distal; y la eliminación del citoplasma. A ello hay que añadir la condensación de la cromatina, cambios metabólicos y la localización de las mitocondrias alrededor de la parte proximal (Marina, 2003).

Espermiación

Durante la mayor parte de la espermiogénesis los espermatozoides parecen tener sus cabezas conectadas a las células de Sertoli. En realidad, la membrana de la célula de Sertoli realmente se envuelve alrededor de la cabeza del espermatozoide. La comunicación y el intercambio de materiales entre el Sertoli y células de esperma en desarrollo se producen a través de puentes intercelulares. La liberación real de los espermatozoides en el lumen del túbulo seminífero se llama espermiación. Las espermatidas alargadas gradualmente son empujadas fuera de la célula de Sertoli en el lumen del túbulo seminífero hasta que sólo un pequeño tallo citoplasmático conecta a la cabeza de los espermatozoides al cuerpo residual en las células de Sertoli. La rotura da como resultado la formación de una gota citoplásmica en la región del cuello de los espermatozoides. Comúnmente se conocen como gotas citoplásmicas proximales. (Williams, 2013)

El ciclo espermatogénico se encuentra dividido en 4.5 agrupaciones de células. La duración de cada agrupación es de 8.6 ± 0.1 día. Por lo tanto, la duración total del espermatogénesis es de aproximadamente 38.7 días (Tabla 1) (França *et al.*, 2005).

3.5. Ciclo del epitelio seminífero

Al igual que al resto de los mamíferos, las células germinales de los cerdos están dispuestas en asociaciones específicas llamadas etapas (Figura 6), que son segmentarias (solo una etapa por sección transversal tubular) (França *et al.*, 2005) Esto se debe a que antes de que termine de madurar una onda de espermatozoides comienza la formación de otros nuevos, y así sucesivamente (Bernabé *et al.*, 2012). La secuencia de estos estados se denomina ciclo del epitelio seminífero y puede ser dividido en doce etapas (Frankenhuis *et al.*, 1982).

Etapas	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
	13	14	14	15	15	15	16	16				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	P*	P*	P*	P*	P*	P*	P*	P*	P*	P*	D*	M ₁ **
												M ₂
A ₃ / A ₄	A ₄ /In	In	In/B	B	B/PLS*	PLS*	L*	L*	Z*	Z*	P*	
			A ₁ / A ₂	A ₂	A ₂ / A ₃	A ₃						

Figura 5: Asociación de células en cada una de las doce etapas del ciclo del epitelio seminífero del verraco.

A₁, A₂, A₃ y A₄: espermatogonia tipo A; In: espermatogonia tipo intermedio; B: espermatogonia tipo B; PLS: espermatocitos preleptoteno; L: Leptoteno; Z: zigoteno; P: paquitenos; D: diploteno y diacinesis; M₁: Primera división meiótica; M₂: segunda división meiótica; 1-16: etapas del desarrollo de la espermátida.

* espermatozocito primario

** espermatozocito secundario

FUENTE: Frankenhuis, *et al.*, 1982

Tabla 1: Comparación entre las frecuencias de las fases del ciclo espermatogénico y su duración en mamíferos.

Especies	Pre-meiótica (%)	Meiótica (%)	Post-meiótica (%)	Longitud del ciclo (días)	Duración de la espermatogénesis (días)
Toro	60	12.8	27.2	13.5	60.8
Carnero	52.7	7.2	40.1	10.6	47.7
Chivo	49.1	10.7	40.2	10.6	47.7
Cerdo doméstico	28.3	11.7	60	8.6	38.7
Cerdo salvaje	35.2	14.4	50.4	9	40.5
Caballo	35	15.8	49.2	12.2	54.9
Conejo	48.4	11	40.6	10.9	49
Perro	37.4	11.5	51.1	13.6	61.2
Gato	45.5	17.6	36.9	10.4	46.8
Hombre	51.87	6.8	41.5	16	72

FUENTE: França, et al. 2005

3.6. Maduración del espermatozoide en el epidídimo

Los espermatozoides llegan a la cabeza del epidídimo sin capacidad de fertilización, sin embargo, adquieren esta capacidad en algún momento durante su tránsito hacia la cola del epidídimo (Figura 7). Se cree que las secreciones del epidídimo contienen factores de maduración al estimular cambios bioquímicos dentro de las células de esperma necesarias para la fertilización. Estos cambios incluyen el desarrollo del potencial de la motilidad progresiva hacia adelante; la alteración de los mecanismos metabólicos; la pérdida de la gota citoplásmica y los cambios en la membrana plasmática, el acrosoma y el material nuclear. (Williams, 2013).

Bonet (1987) identificó un 60% de espermatozoides que no habían completado su proceso de maduración debido al muy rápido tránsito epididimario a que se ven sometidos cuando el ritmo de extracciones es muy elevado. Dicho ritmo, si bien no influyó sustancialmente en la cantidad de espermatozoides, si afecta considerablemente a su calidad. Espaciar las extracciones en inseminación artificial o montas en un mínimo de dos a tres días y en un máximo de cinco a siete días ofrece una relación calidad cantidad que nos asegura un rendimiento prolífico óptimo del verraco.

Un nivel relativamente alto de testosterona es necesario para el mantenimiento de la maduración de los espermatozoides en el epidídimo (Garner y Hafez, 1987. Citado por Nakayama *et al.* 1991).

La duración del tránsito por el epidídimo es de 9 a 12 días, con una media de 10,2 días (Swierstra, 1968; França *et al.*, 2005)

3.7. Valoración de la calidad seminal

La capacidad fecundante del espermatozoide depende fundamentalmente de la concentración espermática, de la motilidad gamética y, en último término, de la proporción de gametos defectuosos o aberrantes (Bonet, 1987). La evaluación del semen y en especial de los espermatozoides, es de gran utilidad para hacer posible el óptimo aprovechamiento de sementales con características genéticas superiores. Al conocer la calidad del semen es posible establecer el número de dosis a preparar del eyaculado, evaluar al macho reproductor y predecir resultados reproductivos.

3.7.1. Temperatura seminal

La temperatura del semen es en promedio 1.6°C menor que la temperatura rectal. Durante la mayor parte del año la temperatura del semen es constante entre 36.0 y 37.6 °C (Hernández, 1998).

3.7.2. Volumen seminal

La medición de éste parámetro permite registrar la producción de semen del verraco, su valor se utiliza para calcular la concentración espermática en el eyaculado y para determinar el número de dosis a preparar. Algunas investigaciones reportan que el volumen seminal puede verse influido por la temperatura ambiental (Bonet, 1982), por otra parte, Wetterman et al (1979) sostiene que el volumen seminal no se ve alterado en cerdos expuestos a 34.5 C° durante 8 horas y 31 C° durante 16 horas, y obtuvo un volumen promedio de 233.5 ± 7.4. Otros autores analizaron el efecto de la raza sobre esta característica (Park y Yi, 2002; Wolf y Smital, 2009).

Hernao (2004) reportó 290.1 ml de volumen seminal en verracos que habitan en una zona de bosque húmedo tropical en Colombia. Hernandez (1988) determinó que el promedio de volumen seminal a lo largo del año es de 129.6 ml por eyaculado, con un mínimo valor de 111.8 y un máximo de 146.3. Caiza (2009) reportó valores de volumen seminal de 100, 130

y 70 ml en verracos jóvenes. Wolf y Smital (2009) encontraron que el volumen seminal de razas puras fue en promedio 260 ml y los animales cruzados 258 ml.

Según Knecht *et al* (2013), el incremento del fotoperiodo influye en el volumen seminal, encontrándose que las épocas con mayor fotoperiodo los verracos producen menor volumen de semen en comparación con las épocas donde el fotoperiodo desciende (244.25 ± 71.04 y 261.16 ± 75.2 respectivamente). Por el contrario, Sancho (2004) sostiene que el volumen de semen eyaculado por los verracos no se ve influenciado durante el incremento y disminución del fotoperiodo. A los 14 días de exposición a elevado fotoperiodo, el volumen obtenido fue de 180.00 ± 67.88 y 156.00 ± 37.92 en con bajo y alto fotoperiodo respectivamente.

3.7.3. Motilidad espermática

La evaluación de motilidad es la prueba más utilizada porque resulta patente de que la motilidad espermática es un elemento indispensable para que ocurra la fecundación. Consiste en evaluar subjetivamente el movimiento de los espermatozoides en una muestra de semen en condiciones adecuadas de temperatura. La observación al microscopio es la mejor y más barata forma de valorar la motilidad del semen. Hernández (1998) reportó que la motilidad progresiva del eyaculado a lo largo del año es de 68%, registrándose el valor más bajo en los meses de verano (57%). Caiza (2009) halló una motilidad de 70 % en verracos jóvenes y Wolf y Smital (2009) encontraron que la motilidad de razas puras fue en promedio 76.2% y los animales cruzados 74.8%.

El valor de motilidad puede verse influidos por la temperatura ambiental (Bonet, 1982). La motilidad en cerdos estresados por las altas temperaturas fue de 65.8% cuando fueron expuestos a 34.5 C° durante 8 horas y 31 C° durante 16 horas, mientras que los cerdos en confort fue 83.3%, se ha reportado una disminución de la motilidad espermática después de que los verracos estuvieron en un ambiente de alta temperatura llegando a tener 40% de motilidad después de seis semanas y retomó valores normales luego de 5 semanas post exposición (Wetterman et al, 1979). Corcuera *et al* (2012) comparó la motilidad de verracos en ambiente con temperatura controlada ($22 \pm 2\text{ C}^\circ$) y verracos estresados por las altas

temperaturas, la motilidad fue de 61.6 ± 3.2 y 57.8 ± 14.1 respectivamente. La motilidad espermática no varía cuando hay aumento o disminución del fotoperiodo (Sancho et al, 2004).

3.7.4. Vitalidad espermática

La vitalidad espermática se relaciona estrechamente con la de la movilidad progresiva. Sancho et al (2004) encontró $87.56 \pm 5.29\%$ de espermatozoides vivos cuando sometió a verracos Landrace a incrementos de fotoperiodo durante 14 días. Hernao (2004) reportó 91.9% de vitalidad espermática en verracos que habitan en una zona de bosque húmedo tropical en Colombia. Sancho et al (2004) sostiene que la frecuencia de espermatozoides vivos no varía cuando hay aumento o disminución del fotoperiodo, encontró $98.17 \pm 0.35 \%$ de espermatozoides vivos cuando sometió a verracos Landrace a incrementos de fotoperiodo durante 14 días.

3.7.5. Concentración espermática

La concentración de espermatozoides en un eyaculado es un indicador de la capacidad productora de gametos en los túbulos seminíferos y, aunque no parece estar relacionada con la fertilidad, afecta la tasa de dilución seminal y el número de dosis procesables de un eyaculado (Tardif et al., 1999; Citado por Hernao, 2004). Generalmente se estima haciendo uso de cámaras de conteo (Neubauer, etc.).

Hernandez (1998) reportó concentraciones de 493×10^6 por ml a lo largo del año evaluado, mientras que Hernao (2004) obtuvo $615,4 \times 10^6$ por ml de concentración seminal en verracos que habitan en una zona de bosque húmedo tropical en Colombia. Wolf y Smital (2009) encontraron que la concentración espermática de razas puras y animales híbridos fue en promedio 424×10^6 espermatozoides por ml. Knecht *et al* (2013) encontró en las épocas de mayor fotoperiodo una concentración espermática de $381.27 \pm 98.13 \times 10^6$ por ml y en épocas de menor fotoperiodo $369.70 \pm 90.57 \times 10^6$ por ml.

Según Sancho (2004), la concentración seminal eyaculado por los verracos se ve marcadamente influenciado durante el incremento y disminución del fotoperiodo. A los catorce días de exposición, la concentración fue de 426.31 ± 97.98 y 208.55 ± 57.91 en periodos con bajo y alto fotoperiodo respectivamente.

3.7.6. *Test de Hipoosmolaridad (HOST)*

El test de Hipoosmolaridad (Hypoosmotic Swelling test, HOST) consiste en someter espermatozoides a un medio de presión osmótica más baja que la fisiológica, lo que causa una entrada de agua en la célula en un intento de equilibrar la presión osmótica interna con la del medio externo. Para que esta respuesta se produzca, la membrana plasmática del espermatozoide debe estar íntegra y con los mecanismos de intercambio de fluidos funcionando correctamente. La entrada provoca en estas células un hinchamiento y enrollamiento del flagelo. Las células con la membrana física o funcionalmente dañadas no experimentarían cambios en la forma del flagelo (Pérez-Llanos et al, 2001). La osmolaridad encontrada por Schilling et al (1986) en verracos de 1 a 3 años de edad fue de 304 ± 7 mOsm (Figura 8).

Perez-Llano y col. (2001) utilizó una modificación del Tests de Hipoosmolaridad (HOST) que implicaba reducir el tiempo de incubación (5 vs 120 min.) y la presión osmótica (75 frente a 150 mOsm/L). La reducción excesiva de la osmolaridad del medio daría paso a falsas lecturas, ya que los flagelos se romperían y quedarían rectos. Hernao (2004) reportó 75.7 % al Test de HOST en verracos que habitan en una zona de bosque húmedo tropical en Colombia, mientras que Perez-Llanos *et al* (2001) reportó una disminución en dicho test cuando el semen es conservado por nueve días de 81.5 a 42.5 %. Según Schilling (1968), la osmolaridad del plasma parece ser principalmente una característica individual, y no se ve influenciada por la edad, raza, frecuencia de colección, estación, etc.

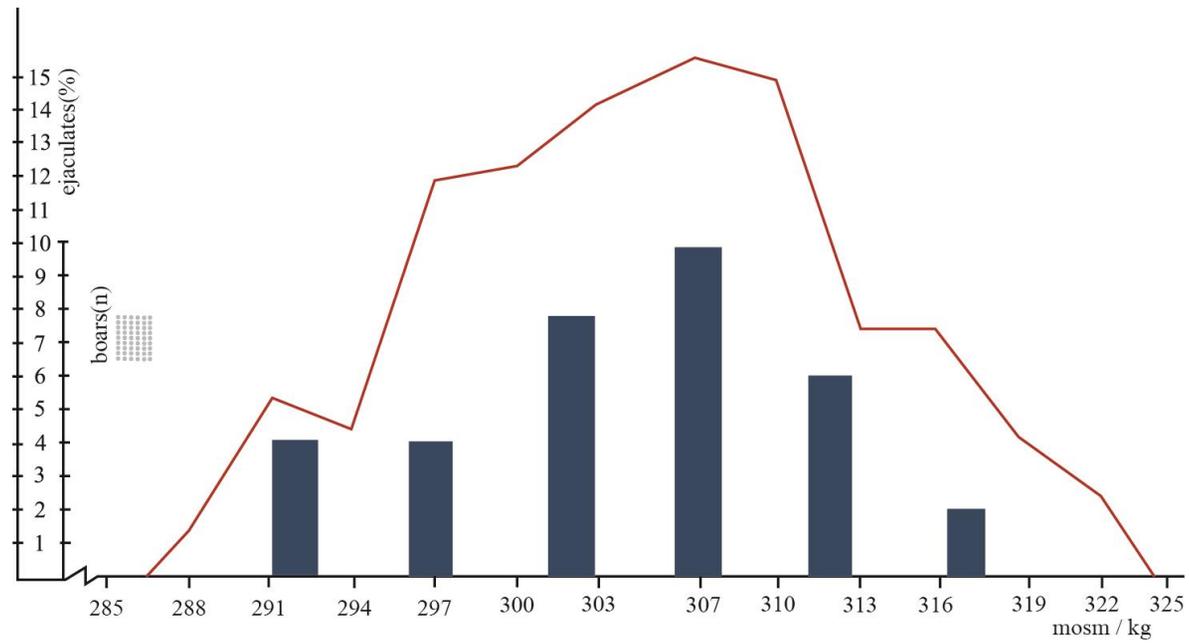


Figura 6: Distribución de presión osmótica promedio de verracos.

FUENTE: Schilling y Vengust, 1986.

3.7.7. *Espermatozoides inmaduros*

Las anomalías o malformaciones son divididas en dos grupos de acuerdo a su origen: Malformaciones primarias, que tienen su origen en el testículo durante la espermatogénesis o espermiogénesis, y las malformaciones secundarias, que ocurren a lo largo del epidídimo en el proceso de maduración (Briz *et al.*, 1996). Prácticamente todas las muestras de semen contienen células anormales siendo las más frecuentes las de colas curvadas, ausencia de acrosoma, lesiones en la cabeza, disposición incorrecta de la cola, presencia de gota citoplasmática y otras. Solamente cuando el número de células anormales sobrepasa el 20% se afecta la fertilidad del semen (Hughes, 1984: Citado por Von Boster, 2004). Lipenský *et al.*, 2010 evidenció que en los meses de verano el porcentaje de anomalías alcanza valores de hasta 25%, siendo la gota citoplasmática proximal la anomalía con mayor incidencia. Según Nakayama *et al.* (1991) el porcentaje de anomalías en el semen puede ser de $34.3 \pm 3.6\%$ en los meses de mayor temperatura, sin embargo, puede disminuirse inyectando a los verracos 250 o 500 mg de Enantato de Testosterona vía intramuscular a 9.7 y 12.9 % respectivamente.

Hernández (1998) reportó 11.8% de anomalías en el semen de verraco a lo largo de un año y Caiza (2009) reportó 5, 15 y 14% de espermatozoides con gota citoplasmática próxima, y 10, 8 y 5% con gota distal. Wolf & Smital (2009) no se encontraron diferencias entre animales puros y cruzados con respecto al número de espermatozoides anormales encontrando valores de 11.8 y 11.3% respectivamente y Bonet (1987) demostró que un verraco estresado por un ritmo de extracciones seminales muy elevado puede presentar más de 60% de gametos inmaduros, debido a su tránsito rápido por el epidídimo.

Torretta (2010) indica que el porcentaje de anomalías espermáticas totales es mayor en semen refrigerado que en semen fresco, debido a que la refrigeración provoca leves alteraciones en la morfología espermática, las cuales se pueden calificar, cuantificar y diferenciar de las propias del semen fresco mediante técnicas de evaluación microscópica de escasa complejidad. El semen fresco presentó 9,14% de espermatozoides anormales, mientras que en semen refrigerado 15,30% tuvo anomalías. Sin embargo, los porcentajes

de gota citoplasmática distal y proximal del semen refrigerado no mostraron diferencias significativas con respecto a los del semen fresco, lo cual era esperable ya que nunca son anomalías de origen secundario.

3.8. Factores que afectan la calidad espermática

3.8.1. Raza o cruce

En general, las características seminales y por lo tanto el desempeño reproductivo se ven influenciados por la raza y cruce del verraco.

Ciereszko y col. (2000) compararon las características seminales de verracos Large White, Pietrain y Pietrain x Duroc (Tabla 8). Los verracos de la raza Pietrain producen menor volumen seminal y número de espermatozoides al eyacular, pero mayor concentración que los verracos Large White. El cruce Pietrain x Duroc obtuvo valores intermedios. Dichos valores fueron confirmados por Wolf y Smital (2009) (Tabla 9).

Los verracos Pietrain producen semen con mayor volumen y número de espermatozoides por eyaculado, pero menor concentración que los verracos de la raza Duroc (Wolf y Smital. 2009).

Park y Yi (2002) demostraron que los verracos de la raza Large White producen mayor volumen seminal en comparación con los verracos Duroc. Sin embargo, la concentración espermática no tuvo diferencias significativas.

Tabla 2: Efecto de la raza o cruce sobre las características seminales

Características seminales	Large White	Pietrain	Pietrain x Duroc
Concentración ($\times 10^6$)	373.9 \pm 83.5	547.8 \pm 74.7	467.8 \pm 65.9
Volumen seminal (ml)	266.1 \pm 73.8	158.1 \pm 35.1	201.3 \pm 36.3
Número de espermatozoides por eyaculado ($\times 10^6$)	95.1 \pm 19.0	84.6 \pm 13.3	92.7 \pm 13.8

FUENTE: Ciereszko *et al*, 2000.

Tabla 3: Efecto de la raza o cruce sobre las características seminales

Raza o Cruce	Volumen (ml)	Concentración (10^3 sperm/mm ³)	Motilidad (%)	Anormales (%)	Nº total	Nº func.
Duroc (D)	-39.8	56.7	0.53	-1.95	-7.0	-2.7
Large White (LW)	29.4	-16.2	-16.2	-1.94	6.2	6.2
Pietrain (P)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
D x LW	-6.7	19.2	0.68	-3.03	0.6	3.7
D x P	-2.8	28.6	1.22	-3.86	5.8	7.8
LW x P	31.9	-17.7	0.57	-2.28	7.0	6.9

FUENTE: Wolf y Smital, 2009

3.8.2. Edad

La edad del verraco tiene un fuerte impacto en la producción seminal (Smital, 2008; Rocha *et al*, 2005; El volumen de semen producido aumenta hasta los dos años de edad aproximadamente y se mantiene más o menos constante a partir de esta edad en adelante. La concentración espermática aumenta hasta los 11 meses de edad, seguida de una disminución moderada hasta los 3 años de edad, donde presenta una relativa estabilización. La motilidad disminuye de manera constante con la edad. En contraste, el porcentaje de espermatozoides anormales aumenta con la edad del animal (Wolf & Smital, 2009).

Con relación a la edad óptima para utilizar a un semental, se observó que, aunque el volumen del eyaculado tiende a mantenerse conforme la edad avanza, la concentración disminuye y las anormalidades aumentan considerablemente, la edad máxima en la que un semental puede ser utilizado para la colección de semen es de 36 meses y su ritmo de colección en la edad adulta es de una vez cada 5 días (Rocha *et al*, 2005).

Tabla 4: Influencia de la edad del semental en los parámetros de calidad del semen y dosis producidas por eyaculado.

EDAD (MESES)	Volumen seminal	Concentración (millones / ml)
Menores de 12	197.72	322.20
De 12 a 18	212.32	405.30
De 18 a 24	274.28	386.70
De 24 a 30	263.25	358.30
De 30 a 36	247.23	330.20
Mayores de 36	253.58	349.50

FUENTE: Rocha *et al.*, 2005

3.8.3. Frecuencia de colección

La calidad espermática se ve influenciada por la frecuencia de colección (Bonet, 1987). El corto intervalo entre subsecuentes colecciones tiene un largo efecto negativo sobre la concentración espermática y en menor grado sobre el volumen seminal. Por el contrario, la motilidad espermática tiende a descender y el porcentaje de anormales a aumentar cuando se incrementa excesivamente el intervalo entre colecciones (Wolf & Smital, 2009). La alta frecuencia de colección de semen provoca un patrón alterado de secreción y reabsorción del líquido epididimario, afecta el desarrollo de la motilidad espermática y el desplazamiento de las gotas citoplasmáticas a lo largo del epidídimo. (Pruneda *et al*, 2005)

Bonet (1987) identificó un 60% de espermatozoides que no habían completado su proceso de maduración debido al muy rápido tránsito epididimario a que se ven sometidos cuando el ritmo de extracciones es muy elevado. Dicho ritmo, si bien no influyó sustancialmente en la cantidad de espermatozoides, si afectó considerablemente a su calidad.

Un nivel aceptable de volumen de semen se produce después de una pausa sexual de 3 días y los espermatozoides están restaurados después de 5-7 días (Smital, 2008). Por lo tanto, espaciar las extracciones en un mínimo de dos a tres días y en un máximo de cinco a siete días ofrece una relación calidad/cantidad que nos asegura un rendimiento prolífico óptimo del verraco (Bonet, 1987).

Pruneda *et al* (2005) sometieron a un grupo de verracos a un ritmo diario de colecciones durante cuatro días, el volumen de la fracción rica fue de 30.00 ± 3.60 ml y la concentración fue de $46.70 \pm 11.70 \times 10^6$ espermatozoides por mililitro, mientras que en los verracos sin estrés el volumen de la fracción rica fue de 61.00 ± 4.0 ml y la concentración fue de $546.00 \pm 21.78 \times 10^6$ espermatozoides por mililitro

3.8.4. *Clima*

Estudios publicados han demostrado que la estación del año afecta significativamente las características de los eyaculados. El semen recogido durante la primavera generalmente tiene mayor volumen, mientras que la concentración de esperma más alta y el recuento de espermatozoides se observaron en los eyaculados recogidos en el otoño y el invierno (Szostak y Przykaza, 2016). En general, una gran variación y baja calidad seminal han sido observadas en verracos durante los meses de alta temperatura (Corcuera *et al*, 2002; Ciereszko, 2000; Smital, 2008; Schulzea, 2014; Kunavongkrit *et al*, 2005; Tonioli, 2014), resultando en menos dosis de inseminación obtenidas por eyaculación (Szostak y Przykaza, 2016).

El clima es uno de los componentes ambientales que ejerce un efecto pronunciado sobre el bienestar animal, y, por consiguiente, en la producción y la productividad de los verracos (Pereira, 2005; Citado por Tonioli, 2014). Los porcinos son muy sensibles a la temperatura del ambiente. Los reproductores no son sensibles al frío, pero sí al calor excesivo, dado que no pueden disipar el calor con facilidad, pues no poseen glándulas sudoríparas (Castro 2002. Citado por Von Borstel, 2004) por lo tanto su capacidad de sudoración de los cerdos es limitada en situaciones de estrés térmico (Mc Nitt *et al.*, 1972). El calor y la humedad pueden resultar en estrés térmico, especialmente si se acompaña de un incremento de la temperatura, ocasionando una disminución en la ingesta de alimentos y la interferencia en la espermatogénesis (Kunavongkrit *et al*, 2005; Citado por Tonioli, 2014).

West en 1999 (Citado por Hansen, 2009) definió el estrés calórico como el resultado de la incapacidad del animal para disipar el calor suficiente para mantener su homotermia. En el año 2000, Machado Filho y Hotzel, (Citados por Tonioli, 2014), lo definieron como una reacción del cuerpo a cualquier cambio en un intento de mantener homeostasis y, en el caso de la tensión térmica, realizar la termorregulación. Hansen (2009) lo define como un entorno que actúa para elevar la temperatura corporal por encima de la temperatura de confort.

El estrés calórico tiene efectos perjudiciales sobre las funciones nutricionales, fisiológicas reproductivas debido a cambios homeocinéticos. (Takahashi, 2012). Un ejemplo es la

redistribución del flujo sanguíneo desde el núcleo del cuerpo hasta la periferia para aumentar la pérdida de calor sensible, otro mecanismo de es la reducción de la ingesta durante el estrés por calor, reducir la ingesta de alimentos disminuye la producción de calor metabólico, pero también puede conducir a cambios en el equilibrio energético y la disponibilidad de nutrientes que pueden tener grandes efectos reproductivos (Hansen, 2009).

El estrés térmico provoca una disminución inicial de las concentraciones circulantes de testosterona que duran dos semanas, pero que las concentraciones se restauran (Hansen, 2009), esto debido posiblemente a un efecto negativo sobre secreción adrenal de corticosteroides (Juniewicz & Johnson, 1981). Otro trabajo establece que, en verracos sometidos a un ambiente a 35 ° C durante 24 h, no hay cambios en las concentraciones de testosterona en la sangre (Stone y Seamark, 1984. Citados por Setchell, 1988).

El estrés térmico afecta el peso, histología, fisiología, bioquímica y endocrinología del testículo (Setchell, 1998), se ha evidenciado alteraciones testiculares como dermatitis escrotal, edema escrotal, y el aumento de periorquitis (Tonioli, 2014), por lo tanto, la hipertermia testicular tiene un efecto perjudicial sobre sus funciones, como la inhibición de la espermatogénesis (Takahashi, 2012). Lipensky (2010), encontró que al calor tiene el efecto negativo sobre la morfología de los espermatozoides y afecta significativamente su calidad y, posteriormente, la calidad de la dosis de inseminación artificial. Los espermatozoides con gotas citoplasmáticas distales son más frecuentes (Lipensky et al, 2010).

Las acciones de calor en el testículo pueden ser directas sobre tipos específicos de células dentro del testículo, pero también hay efectos indirectos, resultantes de los cambios celulares que ocurren en el testículo causada por el calentamiento (Setchell, 1998). Las células que son más susceptibles al daño son los espermatoцитos y las espermátidas, aunque las espermatogonias B también pueden ser dañadas. El estrés oxidativo es una de las principales causas de daño térmico de las células espermatogénicas y conduce a la apoptosis y rupturas de la cadena de ADN (Hansen, 2009).

Wettermann (1976) menciona que características como el volumen de semen y la libido no se ven alterados, sin embargo, Stone (1982) demostró que la motilidad espermática y el volumen seminal disminuyen cuando la temperatura ambiental excede los 30°C, y que la cantidad de espermatozoides anormales incrementa. Es por ello que, se debe crear condiciones adecuadas para los verracos de acuerdo a las características climáticas, principalmente en los meses de verano. La utilización de estrategias para controlar la temperatura de los verracos puede ayudar a reducir el estrés calórico y dar lugar a una mejor producción de semen (Kunavongkrit *et al*, 2005).

Rocha *et al* (2005) observó que en los meses de mayor calor, la cantidad de dosis producidas se reduce proporcionalmente, sin embargo, se observó que esta reducción se manifiesta de 6 a 8 semanas después de iniciada la época de calor. Las características del semen no son afectadas inmediatamente por cambios en la temperatura testicular porque las células espermáticas dañadas no entran en los eyaculados durante algún tiempo después del estrés por calor (Hansen, 2009). Christenson (1973) demostró que hay espacio de 15 días desde la exposición a altas temperaturas ambientales y la disminución real de la fertilidad y los valores normales se alcanzan unos 60 días después de la exposición inicial como resultado del ciclo espermático y el tránsito a través del epidídimo (Sancho, 2004). Wetterman *et al* (1979) determinó que el porcentaje de motilidad espermática disminuye y no retorna a sus valores normales hasta cinco semanas después de la exposición a altas temperaturas. La producción diaria de espermatozoides de los verracos estresados por el calor disminuye a los días 33 a 38 de exposición a altas temperaturas y promedió el 54% del espermatozoides total eyaculado por los verracos control. A los 30 días después del cruce sólo el 59% de las cerdas estaban preñadas, en comparación con el 82% de las cerdas cruzadas con los verracos sin estrés, por lo tanto, existe una moderada correlación negativa, entre temperatura ambiental y número de dosis obtenidas de cada semental (Rocha *et al*, 2005).

Los resultados de los estudios realizados por Ogbu (2014) indican que la capacidad reproductiva de los verracos podría verse comprometida debido a la exposición a la radiación solar directa. El bajo rendimiento reproductivo (baja fertilidad y tasa de concepción, alta mortalidad fetal y falla reproductiva general) de cerdos exóticos criados en los trópicos

húmedos calientes podría deberse al estrés térmico. Para lograr una tolerancia térmica mejorada, manteniendo al mismo tiempo una alta productividad, los genotipos que toleran temperaturas ambientales más altas deben seleccionarse de la población local y utilizarse en cruzamientos con razas de alta producción.

La cantidad de horas luz influyen en las funciones endocrinas del verraco. La concentración de testosterona disminuye con las horas luz. La libido guarda una relación directa con la testosterona, por lo tanto, disminuye con el aumento de las horas luz. (Williams, 2000; Citado por Caiza, 2009). Knetch y col. (2013) mencionan que la reacción de los verracos al fotoperiodo es dependiente de la raza, demostraron que el cruce Duroc x Pietrain son más susceptibles que los machos de línea materna. Sancho, et al. 2004 sostiene que la calidad del esperma de machos Landrace disminuye durante fotoperiodos decrecientes, en comparación con el aumento de fotoperíodos. A los 14 días de exposición a elevado fotoperiodo, el volumen obtenido fue de 180.00 ± 67.88 y 156.00 ± 37.92 en con bajo y alto fotoperiodo respectivamente. se ha reportado una disminución de la motilidad espermática después de que los verracos estuvieron en un ambiente de alta temperatura llegando a tener 40% de motilidad después de seis semanas y retomó valores normales luego de 5 semanas post exposición (Wetterman et al, 1979).

La temperatura ambiente ideal es 30 a 32 ° C en lechones con un máximo de dos semanas de vida; de 25 a 28 ° C en lechones de tres a cuatro semanas; y 15 a 18 ° C para animales con más de cuatro semanas de vida, incluyendo a los reproductores (Mendes, 2005; Citado por Tonioli, 2014). Las bajas temperaturas no interfieren con el desarrollo testicular, producción de espermatozoides o la calidad del semen (Swierstra, 1970). Por lo tanto, no afecta la reproducción (Kunavongkrit *et al.*, 2005).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Lugar de ejecución

4.1.1. Del estudio

El presente estudio, se llevó a cabo en las instalaciones de la Unidad Experimental en Cerdos (U.E.C), de la Facultad de Zootecnia de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM); ubicada en el distrito de La Molina, departamento de Lima.

4.1.2. Ubicación geográfica

- Latitud	12° 4' 24''
- Longitud	76° 56' 10''
- Altitud	241 m.s.n.m.

4.1.3. Clima

- Temperatura promedio	30°C (25°C mín., 33°C máx.)
- Humedad	71% (64% mín., 89% máx.)

4.2. Duración del estudio

El estudio tuvo una duración de 9 meses. Correspondiente a una primera fase en gabinete y campo, que incluyó: (a) la búsqueda de información, (b) la aprobación del proyecto de tesis y (c) entrenamiento de los verracos. Una segunda fase en campo que correspondió: (a) la parte experimental. Y por último una tercera fase, que incluyó: (a) ordenamiento y análisis de datos.

4.3. Materiales y equipos utilizados

4.3.1. De los animales

Se evaluaron tres verracos puros (Pietrain Belga) y tres cruzados (Pietrain x Duroc) de 10 meses de edad, nacidos en la Unidad Experimental de Cerdos de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UEC-UNALM).

Los animales fueron entrenados a partir de los seis meses de edad para la colección del semen. El entrenamiento se realizó en sus corrales y se utilizó un maniquí móvil, debido a la distancia entre el área de investigación y el centro de Inseminación Artificial de la UEC-UNALM. El proceso se realizó intenciariamente en un periodo de 15 y 30 días para los cruzados y puros respectivamente.

Los animales fueron alimentados diariamente con 2.5 Kg de alimento balanceado y libre acceso al agua.



Figura 7. Entrenamiento de verracos con maniquí móvil.

4.3.2. De las instalaciones

Cada verraco se alojó en un corral de 2.1 x 3.6 metros con piso de cemento, cuenta con comedero y un bebedero tipo chupón. Dicho corral estaba ubicado en el área de investigación de la Unidad Experimental de Cerdos de la UNALM.

Se contó con un potro móvil que se utilizó en cada corral para el entrenamiento y la colección de muestras seminales.



Figura 8. Potro móvil utilizado para entrenamiento y colección de semen.

4.3.3. De los tratamientos

Grupo Control: Los reproductores estuvieron expuestos a las condiciones climáticas propias del área de investigación (30.7°C promedio, 33°C máx., 25°C mín.).

Tratamiento 1 (T1): Los verracos se encontraron bajo un régimen de baños diarios en las horas de más altas temperaturas (10 a.m. – 4 p.m.). Se consideró una frecuencia de una hora entre baños por un periodo de un minuto aproximadamente. El promedio de temperatura del agua fue de 21.6°C.

Tratamiento 2 (T2): El corral del verraco contó con un ventilador en las horas de mayor temperatura (10 a.m. – 4 p.m.), fuera de este periodo se mantenían apagados.



Figura 9. Tratamiento 1: Baños de agua a verracos jóvenes.



Figura 10. Tratamiento 2: Utilización de ventiladores en los corrales de verracos jóvenes.

4.3.4. Definiciones operacionales

Colección de eyaculado

Las colecciones seminales se realizaron en los corrales de los verracos, se utilizó un potro móvil regulable y una alfombra en el piso para evitar que los animales se resbalen al momento de saltar, todo esto con el fin de evitar el estrés que significaría el traslado de los animales hasta el centro de Inseminación Artificial.

Las muestras de semen fueron colectadas mediante la técnica de mano enguantada en termos de boca ancha cubiertos con una gasa estéril para evitar el ingreso de la fracción grumosa. Posteriormente se transportaron al laboratorio dentro de una caja temperada, para su posterior evaluación.

Las colecciones se realizarán semanalmente según lo recomendado por Bonet (1987) para evitar el efecto de la frecuencia de extracción sobre la calidad seminal.

Las colecciones se realizaron entre las 7 y 9 de la mañana, el tiempo de colección vario entre 5 a 10 minutos.



Figura 11. Técnica de colección de semen con potro móvil.



Figura 12. Caja temperada utilizada en el transporte de las muestras seminales.

Evaluación de la temperatura y volumen seminal

Las muestras de semen recién colectadas eran trasladadas al laboratorio de inseminación artificial para su evaluación inicial. Se procedió a evaluar la temperatura del semen con un termómetro digital y luego se midió el volumen total en una probeta graduada.

Evaluación de la motilidad espermática

Las muestras fueron colocadas en portaobjetos y analizadas bajo el microscopio, se realizó una medida subjetiva de la motilidad espermática de semen puro considerando un rango de 0 a 100%.

Evaluación de la concentración espermática

Se diluyó semen fresco con solución formolada en una proporción de 1:100 con el fin de inmovilizar a los espermatozoides y facilitar el conteo. Se colocó la muestra en ambos lados de la cámara Neubauer. Se promedió el número de espermatozoides contados en ambos lados de la cámara y el valor obtenido se utilizó para calcular la concentración, haciendo uso de la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración (\# esp / ml)} = (N \times 5 \times 100 \times 10 \times 10^3)$$

Donde:

N: Número de espermatozoides contados en cinco cuadrados de la cámara.

5: Para totalizar el número de cuadrados de la cámara (25 cuadrados)

100: Dilución del semen 1/100

10: El volumen evaluado en la cámara es 0.1 mm³

10³: Corrección a ml.

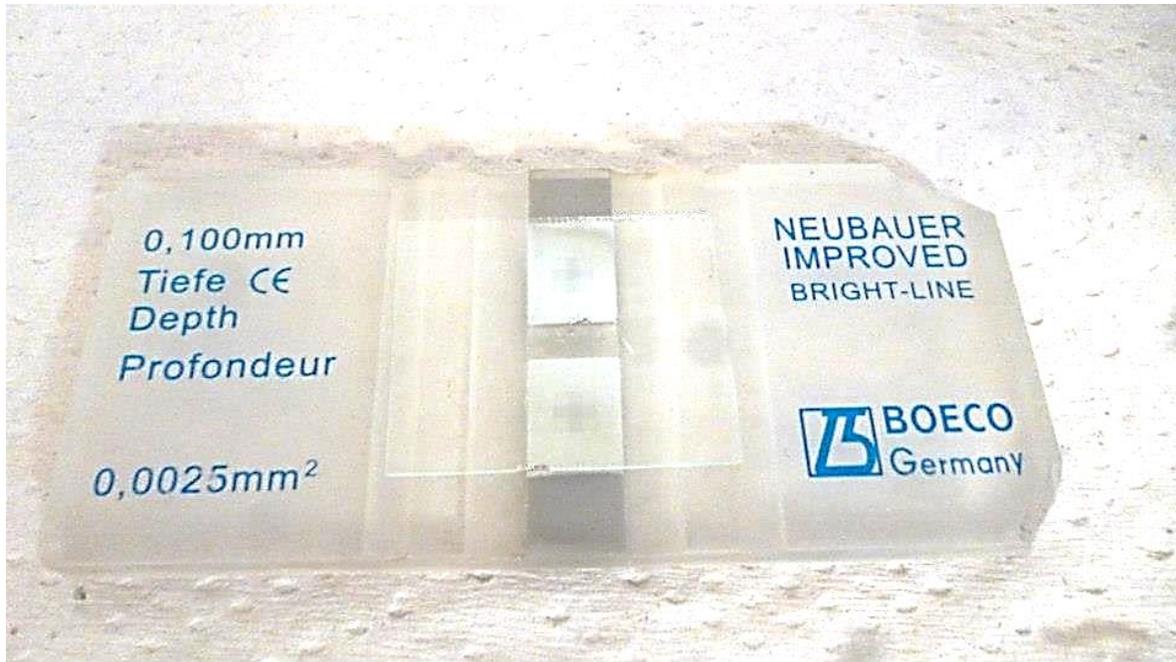


Figura 13. Cámara de Neubauer para conteo de espermatozoides.

Determinación de vitalidad espermática

El número de espermatozoides vivos se determinó mediante la técnica de tinción con eosina y nigrosina, por conteo de 200 espermatozoides en el campo de visión.

Se tomó una gota de suspensión espermática y se mezcló con una gota de eosina y dos de nigrosina sobre un extremo del portaobjetos temperado. Luego se realizó un frotis fino con otro portaobjetos temperado y fue secado al aire. Se clasificó como vivos los espermatozoides translúcidos y como muertos los coloreados parcial o totalmente.

$$\% \text{ esp. vivos} = \# \text{ esp. translúcidos} / \# \text{ total de esp.} \times 100$$

Determinación de espermatozoides con gota citoplasmática

Para la observación morfológica de los espermatozoides se tomó una muestra de semen y se colocó sobre un portaobjetos temperado, posteriormente se diluyó con una gota de eosina y

nigrosina. La muestra obtenida se observó en el microscópico y se contó un total de cien espermatozoides, donde se identificaron a los espermatozoides anormales con presencia de gota citoplasmática en la cola. El porcentaje se calculó haciendo uso de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ esp. con gota citoplasmática} = \# \text{ esp. con gota citoplasmática} / \# \text{ total de esp.} \times 100$$

Evaluación de la viabilidad espermática

Se realizó el test de Host con una solución hipoosmótica de 100 mOsm/l, constituida por 49 mg de citrato de sodio y 90 mg de fructosa en 10 ml de agua destilada.

Se colocó en un tubo de ensayo la muestra de semen y la solución hipoosmótica en relación 1:2. En el momento de la evaluación se añadió solución formolada para detener la motilidad espermática. Las muestras de semen con solución hipoosmótica fueron mantenidas en tubos cerrados y en una conservadora a 17°C hasta pasar 24 horas de su colección, momento en que se realizaron las evaluaciones. Se consideraron positivos aquellos espermatozoides en los que se observó cualquier grado de torsión helicoidal de la cola (“swelling”). Se realizó el conteo de un total de 200 espermatozoides por cada muestra.

$$\% \text{ viabilidad} = \# \text{ esp. con cola doblada} / \# \text{ total de esp.} \times 100$$

4.3.5. *Análisis estadístico*

Se realizó un diseño al azar con unidades experimentales múltiples (muestras seminales) por tratamiento, siendo las variables: volumen del eyaculado, concentración espermática, porcentaje de vivos y muertos, porcentaje de motilidad y grado de aglutinación, porcentaje de anomalías y porcentaje de espermatozoides con membrana íntegra.

Se utilizaron las pruebas de Tukey y Scheffe para las variables que cumplieron con el criterio de normalidad, la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para las variables que no

cumplieron con el criterio de normalidad y la prueba exacta de Fisher para las variables cualitativas.

Las variables analizadas se especifican en las Tablas 10 y 11.

Formulación de hipótesis

Ho: Las diferencias de temperatura ambiental no alteran las características seminales de los verracos.

Ha: Las temperaturas altas modifican las características seminales.

Tabla 5: Variables independientes

Variable	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medición
<i>Tratamiento</i>	Cualitativa	Nominal	Tratamiento 1
	Politómica		Tratamiento 2
			Tratamiento 3
<i>Individuo de experimentación</i>		Nominal	PD 6410
			PP 2408
	Cualitativa		PD 6210
	Politómica		PP 2406
			PD 6403
			PP 2407

FUENTE: Elaboración propia.

Tabla 6: Variables dependientes

Variable	Tipo de variable	Escala de medición	Unidad de medición
<i>Temperatura del eyaculado</i>	Cuantitativa continua	Intervalo	°C
<i>Volumen seminal</i>	Cuantitativa continua	Razón	mL
<i>Concentración espermática</i>	Cuantitativa continua	Razón	%
<i>Motilidad espermática</i>	Cuantitativa continua	Razón	%
<i>Grado de aglutinación</i>	Cualitativa politómica	Ordinal	Ausente, Bajo, Medio, Alto
<i>Vitalidad espermática</i>	Cuantitativa continua	Razón	%
<i>Gota citoplasmática</i>	Cuantitativa continua	Razón	%
<i>Gota citoplasmática proximal</i>	Cuantitativa continua	Razón	%
<i>Gota citoplasmática distal</i>	Cuantitativa continua	Razón	%
<i>Viabilidad espermática</i>	Cuantitativa continua	Razón	%

FUENTE: Elaboración propia.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.4. Temperatura del semen

Las temperaturas seminales promedio obtenidas fueron 36.19; 35.97 y 35.85 °C para el grupo control, tratamiento 1 y tratamiento 2 respectivamente. No se evidenció diferencias estadísticas entre las medianas en los tres grupos, sin embargo, se puede apreciar un ligero descenso de temperatura en los tratamientos con baños de agua y con ventilación artificial en comparación al grupo control y los resultados de Hernández (36.0-37.6°C). Probablemente el descenso de temperatura está relacionado al momento de la colección y no con alguna alteración biológica.

4.5. Volumen seminal

Los volúmenes promedio obtenidos fueron 144.75, 194.25 y 172.29 ml para el grupo control, tratamiento 1 y tratamiento 2 respectivamente. Se determinó que los verracos estresados por las altas temperaturas (grupo control) presentaron volúmenes seminales significativamente menores que los verracos con los tratamientos 1 y 2, sin embargo, no se evidenció diferencias significativas entre ambos tratamientos. Los resultados indican que el volumen seminal se ve influenciado por la temperatura ambiental, esto coincide con lo establecido por Bonet (1982), sin embargo, difiere a lo reportado por Wetterman (1976), quien sostiene que no hay ningún efecto del ambiente sobre el volumen seminal.

Los volúmenes recolectados en el presente experimento son menores a los reportados por Wettermann (233.5 ± 7.4 ml) y Hernao (290.1ml) debido principalmente a la edad de los verracos, mientras que son similares a los de Sancho en periodos de alto fotoperiodo (156± 37.92), como los que se realizaron el presente experimento. No se evidenció diferencia por la raza de los verracos, lo que coincide con Wolf y Smital (2009).

Tabla 7. Promedios de las características seminales evaluadas.

CARACTERÍSTICAS SEMINALES	Control			T1			T2		
	PD 6410	PP 2408	PROM	PD 6210	PP 2406	PROM	PD 6407	PP 2407	PROM
Temperatura seminal (C°)	35.75	36.63	36.19	36.06	35.88	35.97	35.69	36.02	35.85
Volumen seminal (ml)	137.50	152.00	144.75	200.13	188.38	194.25	174.38	170.20	172.29
Concentración espermática	298.21	449.38	373.79	302.94	556.56	429.75	493.13	414.82	453.97
Motilidad espermática (%)	80.00	79.38	79.69	86.25	83.13	84.69	88.13	83.04	85.58
Grado aglutinación	1.75	1.50	1.63	1.88	2.25	2.06	0.75	1.69	1.22
Vitalidad espermática (%)	84.44	84.13	84.28	92.35	91.67	92.01	93.13	88.86	90.99
Gota citoplasmática (%)	3.05	5.41	4.23	3.19	3.49	3.34	2.69	3.63	3.16
Gota citoplasmática proximal (%)	0.68	0.99	0.83	0.94	0.91	0.93	0.44	0.82	0.63
Gota citoplasmática distal (%)	2.37	4.43	3.40	2.25	2.58	2.41	2.25	2.81	2.53
Viabilidad espermática (%)	70.91	65.73	68.32	77.33	67.68	72.50	83.57	72.29	77.93

FUENTE: Elaboración propia.

5.1. Concentración espermática

Las concentraciones espermáticas promedio obtenidas fueron 373.79×10^6 , 429.75×10^6 y 452.97×10^6 por ml para el grupo control, tratamiento 1 y tratamiento 2 respectivamente (Figura 11). Los valores encontrados son menores a los reportados por Hernandez (493×10^6 por ml) y Hernao (615×10^6 por ml) pero similares a los reportados por Wolf & Smital (2009), no encontrando diferencias entre animales puros y cruzados. El grupo control presento volúmenes semejantes a los encontrados por Knecht (2013) y Sancho (2004) en épocas de mayor fotoperiodo ($382.12 \pm 98.13 \times 10^6$). Otro factor a considerar es que la raza Duroc y sus cruces presentan mayor concentración espermática que las otras razas. (Wolf & Smital, 2009, Ciereszko, 2000) aunque algunos autores no demostraron diferencias en la concentración espermática (Park y Yi, 2002).

Se observó la correlación negativa entre el volumen seminal y la concentración espermática, lo que coincide con lo establecido por Ciereszko *et al* (2000). Se puede observar que el grupo control presentó menor volumen seminal y menor concentración espermática. Esto puede deberse a que el impacto en la producción de espermatozoides sea mayor que en el volumen seminal. Según Wetterman y Desjardins (1979) la producción de semen puede disminuir hasta un 50% menos en comparación a que un verraco no estresado.

5.2. Motilidad espermática

Los valores motilidad espermática promedio obtenidos en la presente investigación fueron 79,69%, 84,69% y 85,58% para el grupo control, tratamiento 1 y tratamiento 2 respectivamente (Figura 12). Los verracos estresados por las altas temperaturas (grupo control) presentaron menor motilidad espermática que los verracos con los tratamientos 1 y 2. Sin embargo, no se evidenció diferencias significativas entre ambos tratamientos. Si bien es cierto, los resultados coinciden con los de Stone (1982) con verracos a más de 30°C de temperatura ambiental y Bonet (1982), que evidenciaron una disminución de motilidad en verracos estresados. Los datos son mayores a lo mostrados por Hernández (57%) en los meses de verano y fueron ligeramente superiores a los hallados por Caiza en verracos jóvenes

(70%). Wetterman (1979) sostiene que la reducción de la motilidad puede llegar hasta 40 %, sin embargo, los valores no llegaron a dicho extremo.

5.3. Vitalidad espermática

Los valores obtenidos de vitalidad espermática fueron 84.28%, 92.01% y 90.99% para el grupo control, tratamiento 1 y tratamiento 2 respectivamente. Se observa un menor número de espermatozoides vivos en el grupo control en comparación a los tratamientos. Sin embargo, no se encuentran diferencias estadísticas entre los resultados. Los datos son similares a los reportados por Sancho (87.56%) y Hernao (91.9%).

5.4. Gota citoplasmática

El porcentaje de gotas citoplasmáticas fueron 4.23%, 3.34% y 3.16% para el grupo control, tratamiento 1 y tratamiento 2 respectivamente (Figura 12). Los valores para morfología espermática inmadura fueron similares a los reportados por Torreta *et al* (2010), donde se observó mayor incidencia de gotas distales y difiere a los de Caiza (2009) donde encontró mayor presencia de gotas proximales. No se descarta la posibilidad de presentación de un efecto nocivo de la alta temperatura sobre la espermatogénesis, generando un aumento en el porcentaje de anomalías espermáticas.

Las anomalías encontradas se vieron incrementadas en los verracos estresados por las altas temperaturas, tal como lo establece Stone (1982) cuando la temperatura ambiental excede los 30°C, lo que conlleva a una reducir el número de dosis obtenidas por eyaculado (Rocha et al (2005).

5.5. Viabilidad espermática

La reacción de los espermatozoides ante una solución hipoosmótica es un indicador de la funcionalidad bioquímica de la membrana, necesaria durante la fertilización, la capacitación, la reacción acrosómica y la unión del espermatozoide al óvulo (Correa y Zavos, 1994. Citado

por Hernao *et al.* 2004). Los valores obtenidos en la reacción hipoosmótica fueron 68.32%, 72.5% y 77.93% para el grupo control, tratamiento 1 y tratamiento 2 respectivamente (Figura 15), estos valores fueron ligeramente menores a los reportado por Pérez Llanos en el 2001 (81.5%), sin embargo, los tratamientos 1 y 2 fueron similares a los que obtuvo Hernao (75.7%). Esto puede deberse a que los tratamientos fueron efectivos en reducir el estrés calórico en los verracos y mantener este parámetro dentro de los rangos normales, mientras que el grupo control obtuvo el más bajo valor a causa del estrés.

5.6. Correlación entre temperatura ambiental y características seminales

Se observa la correlación que existe entre la temperatura ambiental y las principales características seminales de los verracos evaluados. Esto puede deberse a que el aumento de la temperatura ambiental en los meses de verano originó un incremento la temperatura testicular en los verracos (McNitt, *et al.*, 1972) porque no se encontraban en su temperatura de confort (15.18°C), reduciendo los niveles de testosterona y afectando principalmente los estadios terminales de la espermatogénesis (Wetterman & Desjardins, 1979), con esto, la producción espermática se vio perjudicada (Kunavongkrit, *et al.*, 2005).

Tabla 8. Correlación entre temperatura ambiental y las variables cuantitativas concernientes a calidad de semen evaluadas.

Variable	Temperatura ambiental	Temperatura seminal	Volumen seminal	Concentración espermática	Motilidad espermática	Vitalidad espermática	Gota citoplasmática	GCP	GCD	Vitalidad espermática
Temperatura ambiental	1.0000									
Temperatura seminal	0.3313*	1.0000								
Volumen seminal	-0.3590*	0.1753	1.0000							
Concentración espermática	0.0798	-0.0024	-0.0678	1.0000						
Motilidad espermática	-0.2636	-0.1498	0.2493	0.0496	1.0000					
Vitalidad espermática	-0.5122*	-0.1924	0.3227*	0.0473	0.7558*	1.0000				
Gota citoplasmática	-0.3731*	-0.1325	-0.0957	-0.1228	-0.2501	-0.0802	1.0000			
GCP	-0.4624*	-0.2082	0.1194	-0.2700	-0.2763	0.0102	0.7965*	1.0000		
GCD	-0.2530	-0.0757	-0.2044	0.0124	-0.2325	-0.1543	0.9152*	0.5259*	1.0000	
Viabilidad espermática	-0.0808	-0.2076	0.1617	0.0394	0.4141*	0.2030	-0.4540*	-0.3902*	-0.3772*	1.0000

La primera columna muestra los índices de correlación, solo los que son estadísticamente significativos ($p < 0.05$) están marcados con un asterisco. Por tanto, temperatura y volumen del semen, gota citoplasmática presentan una correlación baja con temp ambiental, y Porcentaje de espermatozoides vivos y gota citoplasmática proximal presentan una correlación modera

VI. CONCLUSIONES

El análisis de los resultados obtenidos en el presente trabajo permite llegar a las siguientes conclusiones:

1. Ambos tratamientos reportaron mejores índices de calidad espermática que el grupo control. Sin embargo, las muestras del tratamiento 2 mostraron mayor viabilidad que el tratamiento 1.
2. Para el grupo control, tratamiento 1 y tratamiento 2, la temperatura seminal fue de 36.19, 35.97 y 35.85 °C, el volumen seminal 144.57, 194.25 y 172.29 ml, la concentración 373.79, 429.75 y 453.97 x 10⁶ por ml, la motilidad 79.69, 84.69 y 85.58 %, la vitalidad 84.28, 92.01 y 90.99 %, Gota Citoplasmática Distal 0.83, 0.93 y 0.63 %, Gota Citoplasmática proximal 3.4, 2.4 y 2.5 y la viabilidad 68.32, 72.50 y 77.93 % respectivamente.
3. En el grupo control, las características más influenciadas son: El volumen seminal (144.57 ml), la concentración espermática (373.79 x 10³ por mm³), motilidad (79.69%) y viabilidad espermática (68.32%).
4. La temperatura, el volumen del semen y el porcentaje de espermatozoides con gota citoplasmática presentan una correlación baja con la temperatura ambiental (0.3313, -0.3590, -0.3731), mientras que el porcentaje de espermatozoides vivos y con presencia de GCP presentan una correlación moderada. (-0.5122, -0.4624).

VII. RECOMENDACIONES

En vista de las variaciones de temperatura medio ambiental (Cambio climático), es necesario utilizar las estrategias evaluadas para disminuir los efectos el estrés calórico en los meses de verano.

Es recomendable utilizar termómetros ambientales en los corrales de verracos para utilizar los tratamientos recomendados cuando se sobrepasa la temperatura de confort (máx. 18°C) y complementar con otras técnicas de manejo (nutricionales, manejo de cortinas, etc.).

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acosta, MJ; Perdigón, R; Rueda, M; Arias, T. 2012. Evaluación de la efectividad de verracos clasificados con un índice de calidad seminal. Revista computarizada de Producción Porcina 19(2): 115-118.

Álvarez, A; Hilario, E. 2010. Revisiones en biología celular (en línea). España. Universidad del país Vasco. Consultado 4 ene. 2015. Disponible en:

<http://es.slideshare.net/milagros carrillotorres/revisiones-en-biologa-celular-y-molecular>

Arce, V; Catalina, P; Mallo, F. 2006. Endocrinología (en línea). España: Universidad Santiago de Compostela - Universidad de Vigo. Consultado 4 ene. 2015. Disponible en:

[https://www.researchgate.net/profile/Africa_Gonzalez-](https://www.researchgate.net/profile/Africa_Gonzalez-Fernandez/publication/233794653_Neuroinmunoendocrinologia_y_enf_autoinmunes/links/0fcfd50b906da79dec000000.pdf)

[Fernandez/publication/233794653_Neuroinmunoendocrinologia_y_enf_autoinmunes/links/0fcfd50b906da79dec000000.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Africa_Gonzalez-Fernandez/publication/233794653_Neuroinmunoendocrinologia_y_enf_autoinmunes/links/0fcfd50b906da79dec000000.pdf)

Bernabé, A; Navarro, J; Pallarés, F. 2012. Citología e Histología Veterinaria (en línea). Murcia. Universidad de Murcia. Consultado el 10 sep. 2015. Disponible en:

<http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/citologia-e-histologia-veterinaria>

Bonet, S. 1987. Estudio de un verraco estresado por la frecuencia de recogidas en inseminación artificial. Scientia gerundensis 13: 35-40.

Caiza, D. 2009. Manejo del verraco para la obtención y procesamiento de semen de porcino e inseminación artificial. Tesis Ing. Agro. Quito. Escuela Politécnica Nacional. 119 p.

Ciereszko, A; Ottobreb, JS; Glogowska, J. 2000. Effects of season and breed on sperm acrosin activity and semen quality of boars. *Animal Reproduction Science* 64: 89-96.

Corcuera, BD.; Hernandez-Gil, R; De Alba Romero, C; Martín, S. 2002. Relationship of environment temperature and boar facilities with seminal quality. *Livestock Production* 74: 55-62.

França, L; Avelar, G; Almeida, F. 2005. Spermatogenesis and sperm transit through the epididymis in mammals with emphasis on pigs. *Theriogenology* 63: 300-318.

Frankenhuis, MT; Kramer, MF; De Rooij, DJ. 1982. Spermatogenesis of the boar. *The Veterinary Quarterly* 4(2): 57-61.

Hansen, PJ. 2009. Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 364: 3341- 3350.

Hernandez, J. 1998. Variación anual de la calidad de semen de porcino y su relación con parámetros productivos. Tesis Mag. Sc. Universidad Autónoma de Nuevo León. Marín, N.L. 92 p.

Hernao, G; Trujillo, L; Buriticá, M; Sierra, C; Correa, G; Gonzales, O. 2004. Efecto del clima sobre las características seminales de porcinos en una zona de bosque húmedo tropical (en línea). Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Consultado el 5 abr. 2015.

Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v57n2/a01v57n2.pdf>

Juniewicz, PE; Johnson, BH; 1981. Influence of adrenal steroids upon testosterone secretion by the boar testis. *Biology of Reproduction* 25: 725-733.

Knecht, D; Sorodon, S; Szulc, K; Duzinski, K. 2013. The effect of photoperiod on selected parameters of boars. *Livestock Science* 157: 364-371.

Kunavongkrit, A; Suriyasomboon, A; Lundeheimc, N; Heard, TW; Einarsson, S. 2005. Management and sperm production of boars under differing environmental conditions. *Theriogenology* 63: 657-667.

Lipenský, J; Lustyková, A; Čeřovský, J. 2010. Effect of season on boar sperm morphology. *Journal Central European Agriculture* 11(4): 465-468.

Nakayama. H.; Hidaka, R; Ashizawa, K. 1991. Effects of testosterone injection on the semenquality in boars during high ambient temperature. *Animal Reproduction Science* 25: 73-82.

McNitt, JI; Tanner, CB; First, NL. 1972. Thermoregulation in the scrotal system of the boar. I. Temperature distribution. *Journal of Animal Science* 43(1): 112-116.

McNitt, JI; Tanner, CB; First, NL. 1972. Thermoregulation in the scrotal system of the boar. II. Evaporative heat exchange. *Journal of Animal Science* 34(1): 117-121.

Ogbu, C; Elile, F; Ugwu, S; Macheb N. 2014. Libido and ejaculate characteristics of boars exposed to direct solar radiation. *J. Anim. Plant. Sci.* 24(1): 43-49.

Park C.S. y Yi Y.J. 2002. Comparison of semen characteristics, sperm freezability and testosterone concentration between Duroc and Yorkshire boars during seasons. *Animal Reproduction Science* 73: 53-61.

Pruneda, A; Pinart, E., Dolors, M; Sancho, S; García-Gil, N; Badia, E; Kádár, E; Bassol, J; Bussalleu, E; Yeste, M; Bonet, S. 2005. Effects of a high semen-collection frequency on the quality of sperm from ejaculates and from six epididymal regions in boars. *Animal Reproduction Science* 25: 73-82.

Rocha, G; Castañeda, J; Valencia, JJ. 2005. Factors affecting production of semen doses in porcine artificial insemination centers. *Rev. AIA.* 9(3), 33-43.

Sancho S; Pinart E; Briz M; Garcia-Gil N; Badia E; Bassols J; Ka'da' r E; Pruneda A; Bussalleu E; Yeste M; Coll M.G; Bonet S. 2004. Semen quality of postpubertal boars during increasing and decreasing natural photoperiods. *Theriogenology* 64: 1271-1282.

Schilling, E., Vengust, M. 1986. Osmotic pressure of boar semen. *Zuchthyg.* 21:33-34.

Schulzea, M; Budera, S; Rüdiger, K; Beyerbach, M; Waberskib, D. 2014. Influences on semen traits used for selection of young AI boars. *Animal Reproduction Science* 148: 164-170.

Setchell, BP. 1998. The parkes lecture Heat and the testis. *J. Reprod. Fertil.* 114: 179-194.

Smital, J. 2008. Effects influencing boar semen. *Animal Reproduction Science* 110: 335-346

Stone, BA. 1982. Heat induced infertility of boars: The inter-relationship between depressed sperm output and fertility and an estimation of the critical air temperature above which sperm output is impaired. *Animal Reproduction Science* 4: 283-299.

Swierstra, EE. 1968. Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar; duration of spermatozoan transit through the epididymis. *Anat. Rec.* 161: 171-186.

Swierstra, EE. 1970. The effect of low ambient temperatures on sperm production, epididimal sperm reserves, and semen characteristics of boars. *Biology of Reproduction* 2: 23-28.

Szostak, B; Przykaza, L. 2016. The effect of season on semen parameters in crossbred boars and phenotypic correlations between semen characteristics in different seasons. *Journal of Central European Agriculture* 17 (2): 252-259.

Takahashi, M. 2012. Heat stress on reproductive function and fertility in mammals. *Reprod. Med. Biol.* 11: 37-47.

Tonioli, R; Guimarães, D; Santos, L; Cantanhêde; Bandeira, T; Dias, T. 2014. Influence of heat stress on the reproduction and production of male pigs. *Ciência Animal* 24 (2): 28-40.

Torretta, ME; Rabaglino, MB; Ferrero, S. 2010. Caracterización cuali-cuantitativa de patologías espermáticas estudio comparativo de la incidencia de anomalías espermáticas en semen porcino fresco y refrigerado. *REDVET* 11(12): 1-20.

Wetterman, RP; Desjardins, C. 1979. Testicular function in boar exposed to elevated temperature. *Biology of Reproduction* 20: 235-241.

Wettermann, RP; Wells, ME; Omtvedt, IT; Pope, CE; Turman, EJ. 1976. Influence of elevated ambient temperature on reproductive performance of Boars. *Journal of Animal Science* 42 (3): 664-669.

Wetterman, RP; Wells, ME; Johnson, R. 1979. Reproductive characteristics of boars during and after exposure to increased ambient temperature. *Journal of Animal Science* 49(6): 1501-1505.

Williams, S., 2013. Eficiencia reproductiva del verraco. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 37(2): 200-206.

Wolf, J; Smital, J. 2009. Quantification of factors affecting semen traits in artificial insemination does from animal model analyses. *Journal of Animal Science* 87: 1620-1627.

IX. ANEXOS

Anexo 1: Características evaluadas en el verraco PD 6410

CARACTERÍSTICAS SEMINALES	N° MUESTRA								PROM
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Temperatura seminal (C°)	37.00	36.00	37.00	35.00	36.00	35.00	35.00	35.00	35.75
Volumen seminal (ml)	144.00	144.00	180.00	124.00	156.00	123.00	119.00	110.00	137.50
Concentración espermática	315.00	290.00	326.00	297.50	326.20	302.00	284.00	245.00	298.21
Motilidad espermática (%)	80.00	75.00	80.00	75.00	85.00	85.00	80.00	80.00	80.00
Grado aglutinación	3.00	0.00	2.00	1.00	2.00	2.00	2.00	2.00	1.75
Vitalidad espermática (%)	83.00	79.30	86.00	83.00	86.20	87.00	86.00	85.00	84.44
Gota citoplasmática (%)	0.60	2.20	2.55	2.25	2.20	5.20	5.50	3.90	3.05
Gota citoplasmática proximal (%)	0.10	0.30	0.85	0.80	0.30	0.70	1.50	0.90	0.68
Gota citoplasmática distal (%)	0.50	1.90	1.70	1.45	1.90	4.50	4.00	3.00	2.37
Viabilidad espermática (%)	70.60	73.70	72.00	73.50	70.10	69.40	69.00	69.00	70.91

FUENTE: Elaboración propia.

Anexo 2: Características evaluadas en el verraco PP 2408

CARACTERÍSTICAS SEMINALES	N° MUESTRA								PROM
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Temperatura seminal (C°)	38.00	37.00	36.00	36.00	36.00	37.00	37.00	36.00	36.63
Volumen seminal (ml)	150.00	150.00	100.00	166.00	132.00	120.00	218.00	180.00	152.00
Concentración espermática	480.00	590.00	587.50	372.00	542.50	285.00	385.00	353.00	449.38
Motilidad espermática (%)	75.00	70.00	85.00	80.00	80.00	80.00	85.00	80.00	79.38
Grado aglutinación	2.00	0.00	3.00	2.00	1.00	2.00	0.00	2.00	1.50
Vitalidad espermática (%)	80.00	70.00	90.00	85.00	86.00	88.00	88.00	86.00	84.13
Gota citoplasmática (%)	3.50	5.20	4.80	5.70	6.40	6.20	5.70	5.80	5.41
Gota citoplasmática proximal (%)	0.40	1.00	0.50	1.20	1.20	1.30	1.00	1.30	0.99
Gota citoplasmática distal (%)	3.10	4.20	4.30	4.50	5.20	4.90	4.70	4.50	4.43
Viabilidad espermática (%)	63.40	68.00	65.40	67.00	64.00	68.00	65.00	65.00	65.73

FUENTE: Elaboración propia.

Anexo 3: Características evaluadas en el verraco PD 6210

CARACTERÍSTICAS SEMINALES	N° MUESTRA								PROM
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Temperatura seminal (C°)	37.50	37.00	35.00	35.00	36.00	36.00	36.00	36.00	36.06
Volumen seminal (ml)	218.00	182.00	176.00	230.00	216.00	203.00	198.00	178.00	200.13
Concentración espermática	367.50	300.00	575.00	195.00	211.00	205.00	225.00	345.00	302.94
Motilidad espermática (%)	85.00	85.00	90.00	85.00	85.00	80.00	85.00	95.00	86.25
Grado aglutinación	2.00	3.00	2.00	2.00	2.00	1.00	2.00	1.00	1.88
Vitalidad espermática (%)	90.00	85.00	96.80	92.00	91.00	92.00	93.00	99.00	92.35
Gota citoplasmática (%)	0.80	1.70	2.00	4.35	4.70	4.10	4.10	3.80	3.19
Gota citoplasmática proximal (%)	0.20	0.30	0.50	1.25	1.50	1.30	1.60	0.90	0.94
Gota citoplasmática distal (%)	0.60	1.40	1.50	3.10	3.20	2.80	2.50	2.90	2.25
Viabilidad espermática (%)	72.68	83.22	78.40	80.20	78.60	76.50	75.00	74.00	77.33

FUENTE: Elaboración propia.

Anexo 4: Características evaluadas en el verraco PP 2406

CARACTERÍSTICAS SEMINALES	N° MUESTRA								PROM
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Temperatura seminal (C°)	38.00	35.00	35.00	35.00	36.00	36.00	36.00	36.00	35.88
Volumen seminal (ml)	190.00	175.00	116.00	168.00	194.00	289.00	186.00	189.00	188.38
Concentración espermática	597.50	625.00	625.00	510.00	560.00	465.00	535.00	535.00	556.56
Motilidad espermática (%)	85.00	80.00	85.00	85.00	80.00	85.00	85.00	80.00	83.13
Grado aglutinación	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	3.00	3.00	2.00	2.25
Vitalidad espermática (%)	89.36	89.00	96.00	89.80	91.20	94.00	92.00	92.00	91.67
Gota citoplasmática (%)	3.00	3.30	3.20	3.90	3.90	3.60	4.00	3.00	3.49
Gota citoplasmática proximal (%)	0.20	1.10	0.70	1.00	1.20	1.10	1.30	0.70	0.91
Gota citoplasmática distal (%)	2.80	2.20	2.50	2.90	2.70	2.50	2.70	2.30	2.58
Viabilidad espermática (%)	65.30	65.70	67.20	84.00	66.30	64.20	63.50	65.20	67.68

FUENTE: Elaboración propia.

Anexo 5: Características evaluadas en el verraco PD 6403

CARACTERÍSTICAS SEMINALES	N° MUESTRA								PROM
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Temperatura seminal (C°)	36.50	36.00	35.00	35.00	35.00	36.00	36.00	36.00	35.69
Volumen seminal (ml)	172.00	172.00	182.00	186.00	186.00	180.00	163.00	154.00	174.38
Concentración espermática	320.00	420.00	500.00	540.00	545.00	530.00	520.00	570.00	493.13
Motilidad espermática (%)	90.00	95.00	90.00	90.00	80.00	85.00	85.00	90.00	88.13
Grado aglutinación	2.00	0.00	0.00	1.00	0.00	1.00	1.00	1.00	0.75
Vitalidad espermática (%)	98.00	98.00	95.00	90.00	84.00	91.00	92.00	97.00	93.13
Gota citoplasmática (%)	1.00	1.50	1.90	2.30	3.70	3.90	3.40	3.80	2.69
Gota citoplasmática proximal (%)	0.00	0.20	0.20	0.40	0.70	0.90	0.30	0.80	0.44
Gota citoplasmática distal (%)	1.00	1.30	1.70	1.90	3.00	3.00	3.10	3.00	2.25
Viabilidad espermática (%)	83.58	88.30	86.50	85.20	82.60	81.40	81.00	80.00	83.57

FUENTE: Elaboración propia.

Anexo 6: Características evaluadas en el verraco PP 2407

CARACTERÍSTICAS SEMINALES	N° MUESTRA								PROM
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Temperatura seminal (C°)	39.00	36.00	36.00	35.00	38.00	36.00	36.00	36.00	36.50
Volumen seminal (ml)	188.00	180.00	156.00	200.00	200.00	165.00	144.00	158.00	173.88
Concentración espermática	668.00	600.00	607.50	552.00	462.50	530.00	620.00	652.00	586.50
Motilidad espermática (%)	80.00	80.00	85.00	85.00	85.00	85.00	85.00	80.00	83.13
Grado aglutinación	2.00	3.00	1.00	0.00	0.00	1.00	2.00	2.00	1.38
Vitalidad espermática (%)	84.00	80.00	90.00	90.00	90.60	91.00	90.00	90.00	88.20
Gota citoplasmática (%)	2.50	2.90	3.17	3.20	2.60	2.70	3.40	3.50	3.00
Gota citoplasmática proximal (%)	0.30	0.80	0.10	0.40	0.70	0.50	0.90	0.40	0.51
Gota citoplasmática distal (%)	2.20	2.10	3.07	2.80	1.90	2.20	2.50	3.10	2.48
Viabilidad espermática (%)	80.40	91.50	81.10	81.20	76.80	76.20	79.40	80.40	80.88

FUENTE: Elaboración propia.

Anexo 7: Prueba de Kruskal Wallis para temperatura seminal.

Hipótesis:

H_0 : Las medianas en los 3 grupos son iguales.

H_1 : Al menos uno de los grupos tiene mediana distinta.

Tratamiento	Obs	Rank Sum
Control	16	426.50
Tratamiento 1	16	365.50
Tratamiento 2	16	384.00

$\text{Chi-cuadrado} = 0.624$

$\text{Probabilidad} = 0.732$

El valor calculado es 0.732, se decide no rechazar la H_0 ; por tanto, los datos no proporcionan evidencia suficiente para concluir que las medianas difieren estadísticamente ($p > 0.05$).

Anexo 8: Pruebas de Tukey y Scheffe para volumen seminal.

Hipótesis:

H0: Las medias de los grupos no son diferentes.

H1: Las medias de los grupos son diferentes.

	(I) Tratamiento ambiental	(J) Tratamiento ambiental	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD	Control	Tratamiento 1	-49,50*	10,370	,000	-74,69	-24,31
Tukey		Tratamiento 2	-29,38*	10,370	,019	-54,57	-4,18
	Tratamiento 1	Control	49,50*	10,370	,000	24,31	74,69
		Tratamiento 2	20,12	10,370	,140	-5,07	45,32
	Tratamiento 2	Control	29,38*	10,370	,019	4,18	54,57
		Tratamiento 1	-20,12	10,370	,140	-45,32	5,07
Scheffe	Control	Tratamiento 1	-49,50*	10,370	,000	-75,82	-23,18
		Tratamiento 2	-29,38*	10,370	,025	-55,69	-3,06
	Tratamiento 1	Control	49,50*	10,370	,000	23,18	75,82
		Tratamiento 2	20,12	10,370	,165	-6,19	46,44
	Tratamiento 2	Control	29,38*	10,370	,025	3,06	55,69
		Tratamiento 1	-20,12	10,370	,165	-46,44	6,19

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 860,274.

**. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.*

Anexo 9: Prueba de Kruskal Wallis para concentración seminal.

Hipótesis:

H0: Las medianas en los 3 grupos son iguales.

H1: Al menos uno de los grupos tiene mediana distinta.

Tratamiento	Obs	Rank Sum
Control	16	279.00
Tratamiento 1	16	370.00
Tratamiento 2	16	527.00

Chi-cuadrado = 10.038

Probabilidad = 0.0066

El valor calculado es 0.0066, se decide rechazar la H0; por tanto, los tratamientos no son todos iguales, es decir, al menos uno de los tratamientos tiene mediana distinta a los otros ($p < 0.05$).

Anexo 10: Prueba d Tukey y Scheffe para motilidad espermática.

Hipótesis:

H0: Las medias de los grupos no son diferentes.

H1: Las medias de los grupos son diferentes.

	(I) Tratamiento ambiental	(J) Tratamiento ambiental	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD	Control	Tratamiento 1	-5,00*	1,391	,002	-8,38	-1,62
Tukey		Tratamiento 2	-5,94*	1,391	,000	-9,32	-2,56
	Tratamiento 1	Control	5,00*	1,391	,002	1,62	8,38
		Tratamiento 2	-,94	1,391	,780	-4,32	2,44
	Tratamiento 2	Control	5,94*	1,391	,000	2,56	9,32
		Tratamiento 1	,94	1,391	,780	-2,44	4,32
Scheffe	Control	Tratamiento 1	-5,00*	1,391	,004	-8,53	-1,47
		Tratamiento 2	-5,94*	1,391	,001	-9,47	-2,41
	Tratamiento 1	Control	5,00*	1,391	,004	1,47	8,53
		Tratamiento 2	-,94	1,391	,798	-4,47	2,59
	Tratamiento 2	Control	5,94*	1,391	,001	2,41	9,47
		Tratamiento 1	,94	1,391	,798	-2,59	4,47

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 15,476.

**. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.*

Anexo 11: Prueba de Kruskal Wallis para vitalidad espermática.

Hipótesis:

H0: Las medianas en los 3 grupos son iguales.

H1: Al menos uno de los grupos tiene mediana distinta.

Tratamiento	Obs	Rank Sum
Control	16	187.50
Tratamiento 1	16	529.00
Tratamiento 2	16	459.50

Chi-cuadrado = 20.773

Probabilidad = 0.0001

El valor calculado es 0.0001, se decide rechazar la H0; por tanto, los tratamientos no son todos iguales, es decir, al menos uno de los tratamientos tiene mediana distinta a los otros ($p < 0.05$).

Anexo 12: Prueba de Kruskal Wallis para gota citoplasmática.

Hipótesis:

H0: Las medianas en los 3 grupos son iguales.

H1: Al menos uno de los grupos tiene mediana distinta.

Tratamiento	Obs	Rank Sum
Control	16	495.50
Tratamiento 1	16	398.00
Tratamiento 2	16	282.50

Chi-cuadrado = 7.251

Probabilidad = 0.0266

El valor calculado es 0.0266, se decide rechazar la H0; por tanto, los tratamientos no son todos iguales, es decir, al menos uno de los tratamientos tiene mediana distinta a los otros ($p < 0.05$).

Anexo 13: Prueba de Kruskal Wallis para gota citoplasmática distal.

H0: Las medianas en los 3 grupos son iguales.

H1: Al menos uno de los grupos tiene mediana distinta.

Tratamiento	Obs	Rank Sum
Control	16	502.50
Tratamiento 1	16	341.00
Tratamiento 2	16	332.50

Chi-cuadrado = 5.852

Probabilidad = 0.0536

El valor calculado es 0.0536, se decide no rechazar la H0; por tanto, los datos no proporcionan evidencia suficiente para concluir que las medianas difieren estadísticamente ($p > 0.05$).

Anexo 14: Pruebas de Tukey y Scheffe para presencia de gota citoplasmática proximal.

Hipótesis:

H0: Las medias de los grupos no son diferentes.

H1: Las medias de los grupos son diferentes.

	(I) Tratamiento ambiental	(J) Tratamiento ambiental	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	Control	Tratamiento 1	-,0906	,13974	,794	-,4301	,2489
		Tratamiento 2	,3625*	,13974	,034	,0230	,7020
	Tratamiento 1	Control	,0906	,13974	,794	-,2489	,4301
		Tratamiento 2	,4531*	,13974	,006	,1136	,7926
	Tratamiento 2	Control	-,3625*	,13974	,034	-,7020	-,0230
		Tratamiento 1	-,4531*	,13974	,006	-,7926	-,1136
Scheffe	Tratamiento 1	Tratamiento 2	-,0906	,13974	,811	-,4452	,2640
		Tratamiento 3	,3625*	,13974	,044	,0079	,7171
	Tratamiento 2	Tratamiento 1	,0906	,13974	,811	-,2640	,4452
		Tratamiento 3	,4531*	,13974	,009	,0985	,8077
	Tratamiento 3	Tratamiento 1	-,3625*	,13974	,044	-,7171	-,0079
		Tratamiento 2	-,4531*	,13974	,009	-,8077	-,0985

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = ,156.

**. La diferencia de medias es significativa en el nivel .05.*

Anexo 15: Prueba de Kruskal Wallis para viabilidad espermática.

Hipótesis:

H0: Las medianas en los 3 grupos son iguales.

H1: Al menos uno de los grupos tiene mediana distinta.

Tratamiento	Obs	Rank Sum
Control	16	221.00
Tratamiento 1	16	339.00
Tratamiento 2	16	616.00

Chi-cuadrado = 26.220

Probabilidad = 0.0001

El valor calculado es 0.0001, se decide rechazar la H0; por tanto, los tratamientos no son todos iguales, es decir, al menos uno de los tratamientos tiene mediana distinta a los otros ($p < 0.05$).