

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

**EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE TONIFICACIÓN SOBRE LA
CALIDAD DE SEMEN Y DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE LOS VERRACOS
DEL PROYECTO PORCINO DE DICTA, COMAYAGUA.**

POR:

ERICK ROLANDO ARRIAGA VILLANUEVA

TESIS



CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A.

DICIEMBRE, 2024

**EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE TONIFICACIÓN SOBRE LA
CALIDAD DE SEMEN Y DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE LOS VERRACOS
DEL PROYECTO PORCINO DE DICTA, COMAYAGUA.**

**POR:
ERICK ROLANDO ARRIAGA VILLANUEVA**

JOSE FRANCISCO AGUIRIANO, M. Sc.

Asesor Principal:

TESIS PRESENTADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO.

CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C.A.

DICIEMBRE, 2024

DEDICATORIA

A mi familia y principalmente a mi padre y madre que han sido el mejor ejemplo y apoyo en mi formación como persona y profesional.

AGRADECIMIENTOS

A mi madre Norma Elida Villanueva Diaz **y mi padre** Héctor Rolando Arriaga por ser un apoyo incondicional durante toda mi vida y a lo largo de mi formación académica.

A mis asesores, Dr. José Francisco Aguiriano, Dr. Lisandro Zelaya y Dr. Carlos Manuel Ulloa por apoyarme en esta etapa final de mi formación académica.

A la institución DICTA, que me brindo los espacios académicos para que esta investigación se desarrollara.

A los docentes que contribuyeron a mi formación para que llegara a este punto, por transmitir sus conocimientos, siempre los llevare conmigo.

CONTENIDO

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.....	13
II. OBJETIVOS	14
2.1. Objetivo general	14
2.2. Objetivos específicos.....	14
III. HIPOTESIS	15
3.1. Hipótesis Alterna	15
3.2. Hipótesis nula	15
IV. REVISIÓN DE LITERATURA	15
4.1. Descripción del Centro de Desarrollo de Producción Porcina	15
4.2. Importancia de la Calidad del Semen en la Reproducción Porcina.....	15
4.2.1. Fósforo.....	15
4.2.2. Selenio	16
4.2.3. Vitaminas AD3E y B12.....	16
4.3. Estudios Comparativos y Aplicaciones en Verracos	17
4.4. Andrología porcina	18
4.5. Órganos sexuales primarios.....	18
4.5.1. Testículos.....	18
4.5.2. Escroto	19
4.6. Órganos sexuales secundarios	19
4.6.1. Epidídimo	19
4.6.2. Conducto deferente.....	19
4.6.3. Vesículas seminales.....	20
4.6.4. Próstata	20
4.6.5. Pene	20
4.6.6. Prepucio	21
4.7. Producción espermática.....	21
4.8. Eyaculado y sus fracciones.....	21

4.8.1. Fracción pre espermática.....	21
4.8.2. Fracción espermática o rica en espermatozoides.....	22
4.8.3. Fracción post espermática	22
4.9. Calidad seminal	22
4.10. Evaluación macroscópica	23
4.10.1. Volumen	23
4.10.2. Color	23
4.10.3. Olor.....	23
4.10.4. pH	23
4.10.5. Evaluación microscópica.....	23
4.10.6. Vitalidad	24
4.10.7. Motilidad	24
4.11. Anomalías Espermáticas.	25
4.11.1. Endosmosis celular	26
4.11.2. Aglutinación.	26
4.12. Morfología espermática.....	26
4.13. Concentración.....	27
V. MATERIALES Y MÉTODO.....	28
5.1. Descripción del área de la investigación	28
5.3. Materiales y equipos.....	29
5.3. Recurso humano	29
5.4. Método.....	29
5.4.1 Procedimiento de extracción.	30
5.6. Variables evaluadas	31
5.6.1. Volumen	31
5.6.2. Concentración espermática.....	31
5.6.3. Motilidad espermática	32
5.6.4. Morfología espermática.....	32
5.7. Valoración de actitud reproductiva de los verracos.....	33
5.7.1. Libido	33
5.8. Valoración de eficacia de ambos protocolos de tonificación	34
5.8.1. Eficacia de protocolos	34
5.9. Análisis estadístico.	34
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35

6.1. El efecto de los protocolos de tonificación sobre la calidad espermática	35
6.1.1. Volumen	35
6.1.2. Concentración espermática.....	36
6.3. Morfología.....	37
6.4. Porcentaje de motilidad masal	39
6.3. Eficacia de los Protocolos.....	41
VII. CONCLUSIONES	44
VIII. BIBLIOGRAFÍAS	45

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Escala de vigor espermático de acuerdo a la motilidad (Veloz. 2017).	25
Tabla 2. Evaluación de volumen, concentración, motilidad, morfología y tiempo de monta por cada tratamiento a los 20, 40 y 70 días de la aplicación del protocolo.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Imagen satelital con la ubicación del lugar de investigación. Fuente: Google Earth (2024).	28
Figura 2. Evolución del volumen post aplicación del tratamiento	35
Figura 3. Representativo del comportamiento de los tres tratamientos respecto a la.....	37
Figura 4. Representativo del comportamiento de los tres tratamientos respecto a la.....	38
Figura 5. Evolución de la motilidad post aplicación por tratamiento.....	39
Figura 6. Resultado de libido, reflejado en tiempo de duración de la monta durante su extracción seminal.	41
Figura 7. Porcentaje de variación de la concentración espermática de los protocolos.....	42

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Nomenclatura de análisis de semen concentración espermática.....	52
Anexo 2. Se describe la valoración utilizada según Hafez et al (2000).	52
Anexo 3. Aplicación de los tonificantes en verracos.	58
Anexo 4. Fijación de células en portaobjetos con metanol, para su posterior tinción.....	58
Anexo 5. Evaluación microscópica de Motilidad espermática.....	58
Anexo 6. Coloración con Giemsa, para visualización de morfología	59
Anexo 7. Retiro de colorante.	59
Anexo 8. Agregación de muestra a porta objetos.	59
Anexo 9. Evaluación del Volumen de eyaculado.....	59

Arriaga, E. 2024. Evaluación de dos protocolos de tonificación sobre la calidad de semen y desempeño reproductivo de los verracos del Proyecto Porcino de Dicta, Comayagua. Tesis. Vet. Universidad Nacional de Agricultura, Catacamas Olancho.

RESUMEN

El presente estudio se realizó con el objetivo de comparar dos protocolos de tonificación realizados en verracos porcinos, identificando su efecto sobre la calidad del semen. La investigación se realizó entre los meses de agosto 2024 a noviembre 2024 en el Proyecto Porcino Dicta-Taiwán en Cascabeles, Comayagua. Se evaluó el efecto de los estimulantes reproductivos sobre libido, volumen, concentración, motilidad, y morfología espermática de eyaculado de verraco, en tres tratamientos; el primer tratamiento fue el protocolo A que incluye P-Se-AD2E, el segundo tratamiento fue el protocolo B que incluye P-org-B12-AD3E y el tercer tratamiento fue el protocolo C que es el grupo testigo. Se utilizaron 9 verracos de las razas Yorkshire, Landrace y Duroc de dos a tres años de edad, distribuidos de manera uniforme. Se aplicó 5 ml de P-Se-AD2E al protocolo A y 2 ml de AD3E, 10 ml de P-org-B12 al protocolo B por vía intramuscular como única dosis. Se utilizó un diseño Completamente al Azar (DCA) de medidas repetidas realizando tres evaluaciones: 20, 40 y 70 días post aplicación de los tonificantes. No se encontró diferencia ($P > 0.05$) para las variables; volumen aumento un 9% al protocolo A, el protocolo B disminuyó un 12% y el protocolo C disminuyó un 6% de su volumen respectivamente del día cero, la concentración espermática el protocolo A aumento un 27%, el protocolo B aumento un 44% y el protocolo C disminuyó un 13%, motilidad el protocolo A aumento un 19%, protocolo B 56% y protocolo C 16%, morfología mejoró disminuyendo 29% el protocolo A, 31% el protocolo B y 8% y el protocolo C. Para la variable de aptitud reproductiva hubo diferencia estadística ($P < 0.05$) con un aumento del 6% de la libido en el protocolo A, un aumento de 28% del protocolo B y disminución de 13 % del protocolo C respecto al día cero. La administración del tonificante P-org-B12-AD3E mostró mejores resultados en la mejora del libido y los parámetros reproductivos en cuanto a calidad del semen con una disminución en las anomalías en los espermatozoides y un incremento en la motilidad en masa y concentración espermática.

Palabras clave: Concentración espermática, volumen, motilidad, morfología y libido

I. INTRODUCCIÓN

La industria porcina juega un papel fundamental en la producción de alimentos a nivel mundial, siendo la calidad reproductiva de los sementales un factor crítico para el éxito de esta industria (Montagut 2010). En este contexto, El Proyecto Porcino de la Dirección de Ciencia y Tecnología Agropecuaria (DICTA) en Comayagua Honduras, se ha comprometido a mejorar la genética nacional, mediante la facilitación de pie de cría a productores para maximizar la eficiencia y la rentabilidad de la producción porcina hondureña.

La fertilidad del verraco es muy importante, debido a que representa el 50% del material genético de cada camada Martin-Guzmán et al (2000). La producción espermática se ve reducida cuando los verracos son alimentados con dietas bajas, energía y proteína. Sin embargo, hoy en día, aun no se conocen con exactitud los requisitos nutricionales de estos animales. La formulación de dietas adecuadas es fundamental para optimizar la expresión del potencial reproductivo de los verracos Louis et al (1994)

En Honduras, aunque se han realizado estudios centrados en efectos individuales del Fosforo(P), Selenio (Se), B12, y ADE en sobre la calidad del semen porcino, no hay investigaciones que puedan evidenciar su uso combinado como protocolo eficaz, por lo que surge como necesidad el presente estudio, que fundamentalmente busca determinar la eficacia de evaluar conjugaciones específicas en los protocolos de tonificación. para proporcionar evidencia para guiar a futuras prácticas y recomendaciones en el manejo reproductivo de los verracos.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Comparar el efecto de dos protocolos de tonificación sobre la calidad de semen y el desempeño reproductivo en verracos del proyecto porcino DICTA, Comayagua.

2.2. Objetivos específicos

Evaluar aspectos como ser; volumen, concentración, motilidad y morfología de los espermatozoides, a través de mediciones y análisis del eyaculado, pre y post aplicación de los tonificantes.

Valorar la actitud reproductiva de los verracos antes y después de la aplicación de los protocolos de tonificación en los diferentes grupos.

Determinar la eficacia de ambos protocolos frente al grupo control.

III. HIPOTESIS

3.1. Hipótesis Alterna

Al menos algún protocolo de tonificación superara al grupo control.

3.2. Hipótesis nula

Ningún protocolo de tonificación superara al grupo control.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. Descripción del Centro de Desarrollo de Producción Porcina

El PPDC es una granja establecida desde 1993 con el apoyo de la Misión Técnica de Taiwán ha contribuido desde su fundación a la formación de capacidades en la reproducción de cerdos, la cual tienen como objetivo principal la producción de pie de cría de alta calidad genética a beneficio de porcicultores nacionales, además sirve como centro de desarrollo de trabajos científicos, incluso de aprendizaje mediante la capacitación a porcicultores en aspectos de manejo, reproducción, administración y salud. La granja tiene capacidad para albergar doscientas hembras y once verracos en confinamiento.

4.2. Importancia de la Calidad del Semen en la Reproducción Porcina

La calidad del semen es un determinante crítico de la fertilidad en los programas de inseminación artificial porcina. Parámetros como la concentración espermática, motilidad, morfología y viabilidad son indicadores clave de la capacidad fertilizante del semen (Rodríguez-Martínez et al., 2011). Factores nutricionales y de manejo pueden influir significativamente en estos parámetros, destacando la necesidad de estrategias de suplementación adecuadas.

4.2.1. Fósforo

El fósforo es un mineral esencial en numerosas funciones fisiológicas, incluyendo la síntesis de ATP y la señalización celular. Su papel en la reproducción animal ha sido ampliamente documentado, particularmente en la mejora de la motilidad espermática y la integridad de la membrana (Wu et al., 2015). En cerdos, la suplementación con fósforo se ha asociado con

una mejora en la calidad seminal y el desempeño reproductivo, aunque la respuesta puede variar según la dieta basal y el estado fisiológico de los animales (McDowell, 2003).

4.2.2. Selenio

El selenio es un oligoelemento crucial para la función antioxidante y la protección contra el estrés oxidativo. En la reproducción porcina, el selenio juega un papel vital en la protección del ADN espermático y la preservación de la integridad celular (Surai et al., 2010). Estudios han demostrado que la suplementación con selenio mejora la motilidad y la viabilidad espermática, además de reducir la incidencia de espermatozoides anormales (Mahan, 2001). La combinación de selenio con vitamina E, en particular, ha mostrado sinergias beneficiosas para la calidad del semen (Marin-Guzman et al., 2000).

4.2.3. Vitaminas AD3E y B12

Las vitaminas AD3E y B12 son componentes fundamentales en diversas funciones biológicas:

A. Vitamina A:

Crucial para la diferenciación celular y la síntesis de proteínas, la vitamina A ha sido asociada con la mejora en la producción y calidad del semen (NRC, 1998). Deficiencias en vitamina A pueden llevar a una reducción en la espermatogénesis y alteraciones morfológicas en los espermatozoides (Chew, 1993).

B. Vitamina D3:

Esta vitamina es esencial para la regulación del calcio y el fósforo, impactando indirectamente en la reproducción. Investigaciones sugieren que la vitamina D3 puede mejorar la movilidad y la viabilidad espermática, aunque los mecanismos exactos aún están en estudio (Blomberg Jensen, 2014).

C. Vitamina E:

Conocida por su función antioxidante, la vitamina E protege las células espermáticas del daño oxidativo. La suplementación con vitamina E ha mostrado mejoras en la motilidad y viabilidad espermática, especialmente en combinación con selenio (Surai, 2002).

D. Vitamina B12:

Participa en la síntesis de ADN y en la formación de células rojas. La vitamina B12 es fundamental para la espermatogénesis y la función espermática. Estudios indican que la deficiencia de B12 puede llevar a una reducción en la producción de espermatozoides y a anomalías morfológicas (Kanwar et al., 2010).

4.3. Estudios Comparativos y Aplicaciones en Verracos

La literatura existente sugiere que la suplementación con estos nutrientes puede mejorar significativamente la calidad del semen y el desempeño reproductivo en verracos. Por ejemplo, Kim et al. (2015) encontraron que la suplementación combinada de selenio y vitamina E mejoró la motilidad y la viabilidad espermática en cerdos. Similarly, Castellano et al. (2010) demostraron que la adición de fósforo y vitamina D3 en la dieta resultó en una mejoría de la calidad seminal.

No obstante, la mayoría de los estudios se han centrado en los efectos individuales de estos nutrientes, y hay una necesidad de investigaciones que evalúen combinaciones específicas en protocolos de tonificación. Por lo tanto, la presente investigación aborda esta brecha evaluando dos protocolos que combinan fósforo, selenio y AD3E frente a fosforo, B12 y AD3E, los cuales son protocolos utilizados por los productores porcinos como tonificantes en sus sementales.

4.4. Andrología porcina

Rodríguez (2013), argumenta que al realizar un examen andrológico específico donde se deben tener en cuenta diferentes factores como la raza, edad, nivel nutricional, manejo, interacción social, factores ambientales, enfermedades intercurrentes entre otros, ya que estos factores pueden afectar la fertilidad y la productividad; y que todo esto está relacionado a el estado de salud general que se encuentre el cerdo y específicamente las funciones del sistema endocrino y así mismo de sus órganos genitales (testículos, tracto genital, glándulas accesorias).

Además, argumenta que para la selección del reproductor es indispensable que el verraco cumpla algunos lineamientos de evaluación, lo que influirá directamente en desempeño reproductivo y en el porcentaje de fertilidad, los órganos sexuales masculinos, compuestos por un conjunto de segmentos ubicados uno a continuación del otro, los cuales son encargados de la formación, maduración, transporte y transmisión de las células germinales y de las células del semen, se clasifican en genitales primarios y genitales secundarios.

4.5. Órganos sexuales primarios

4.5.1. Testículos.

Los testículos son dos glándulas las cuales están adheridas de forma vertical al tren posterior, en su mayoría están conformados por los túbulos seminíferos los que se asemejan a una red intrincada de conductos en los que se producen los espermatozoides (esperma), ha este proceso de denomina espermatogénesis, también elaboran la hormona testosterona, ya que esta hormona es la encargada de determinar el desarrollo, mantener las reacciones sexuales del macho y de los caracteres sexuales secundarios (Williams, 2013).

4.5.2. Escroto

Machuca y Pérez (2018), consideran que el escroto, es un saco cutáneo con forma, tamaño y situación anatómica se adapta a la forma del testículo, el escroto consta de una piel fina, pagable y sin pelo, bajo la capa cutánea externa se localiza un tejido fibroelástico, llamado túnica de Dartos; el cual se encarga de regular la temperatura pasando anatómicamente por en medio de los testículos, de forma que el saco escrotal está dividido en dos partes, uno para cada glándula; se ubica suspendido inguinal, con forma ovoide, alargada y pendular, su función principal es la de brindar protección a los testículos y de regular la temperatura.

4.6. Órganos sexuales secundarios

4.6.1. Epidídimo

Inatec (2018), refiere, que el epidídimo es la estructura adyacente al testículo, que cumple las funciones de transporte, maduración y almacenamiento de los espermatozoides, anatómicamente se reconocen tres partes: cabeza, cuerpo y cola; la cola continua con los conductos eferentes que transportan y almacenan el semen hacia la uretra durante el proceso de la eyaculación.

Machuca y Pérez (2018), plantean, que los espermatozoides al momento de abandonar el testículo son inmaduros, por lo que es necesario que pasen por un periodo de maduración por el epidídimo, para así tener la capacidad de fecundación.

4.6.2. Conducto deferente

Es un tubo muscular que al momento de la eyaculación expulsa a los espermatozoides al exterior desde el epidídimo hacia el conducto eyaculador; el conducto deferente empieza desde la cola del epidídimo, atraviesa por el conducto inguinal que parte desde el cordón

espermático y el anillo inguinal interno, con dirección caudal separado de los vasos y nervios (Machuca y Pérez, 2018).

4.6.3. Vesículas seminales

De acuerdo con Williams (2013), las vesículas seminales, son órganos pares ubicados lateralmente en la parte terminal de cada conducto deferente, en el verraco son relativamente difusas, grandes y lobuladas, las vesículas son las encargadas del mayor volumen del líquido en el plasma seminal, así mismo secretan altos niveles de fructosa y ácido cítrico como la ergotionina, inositol, diversos aminoácidos y glicerylforilcolina, los que son utilizados como sustratos de energía por los espermatozoides eyaculados.

4.6.4. Próstata

La próstata es una pequeña protuberancia transversal en forma de anillo que rodea la uretra en la parte superior, está ubicada al lado de las glándulas vesiculares, se encuentra incrustada en su mayoría en la capa muscular que rodea a la uretra, durante la eyaculación las glándulas de la próstata segregan sustancias alcalinas que contienen calcio y fosfatasa ácida, estas secreciones cumplen la función de neutralizar las secreciones ácidas propias de la vagina, así también se pensaba que la próstata se encargaba de darle el característico olor al semen (Williams, 2013).

4.6.5. Pene

El pene cumple dos funciones: la expulsión del semen al momento de la cópula y la expulsión de la orina Inatec (2018). Especifica, además, que en el cerdo el pene es fibroelástico los cuerpos cavernosos son menos desarrollados, poseen la flexura sigmoidea o “S” peneana, la cual se distiende por la relajación de los músculos retractores del pene durante la erección y regresa a su posición de descanso por la concentración de los músculos retractores, en el

cerdo no tiene una estructura que se diferencie del cuerpo del pene, el glándulo en si es una continuación que termina en forma de tirabuzón o sacacorchos.

4.6.6. Prepucio

En el cerdo el prepucio es más largo que la parte libre en la que se aloja el pene, en la cavidad prepucial situado en un orificio estrecho por el cual se accede al divertículo prepucial, lo que forman dos amplias cavidades donde se almacena una sustancia de un olor pestilente, la que resulta de la mezcla de secreciones cutáneas en descomposición y orina, la que sirve de lubricante para el pene antes de la cópula (Gil et al., 2018).

Inatec (2018), afirma que el prepucio es la capa de la piel que cubre el pene flácido, forma un saco donde se almacena fluidos muy ricos en feromonas y con una elevada contaminación bacteriana a las que se denominan secreciones prepuciales.

4.7. Producción espermática

Los espermatozoides procedentes del epidídimo con el plasma seminal, el semen es una suspensión celular semigelatinosa que resulta de la mezcla de secreciones de las glándulas genitales masculinas y de la secreción testicular al momento de la eyaculación, el semen porcino se caracteriza por el volumen ya que tiene mayor material gelatinoso y un extenso período de eyaculación heterogénea por la composición del plasma y células espermáticas; la cantidad total de semen es de 15,000 – 50,000 células espermáticas (Salazar, 2014).

4.8. Eyaculado y sus fracciones

4.8.1. Fracción pre espermática

La fracción pre espermática caracterizada por tener alto contenido bacteriano, es transparente sin espermatozoides tiene un volumen de 10 a 15 ml y está constituida por las glándulas

accesorias como la próstata, glándulas de Cowper y vesículas seminales, por lo tanto, esta fracción no es necesaria (Intriago y Vargas, 2019).

4.8.2. Fracción espermática o rica en espermatozoides

Volumen entre 50 – 150 ml color blanco lechoso, tomando en cuenta que estos factores influyen en la producción espermática como: edad, nutrición, raza, etc. Esta fracción rica en espermatozoides está compuesta por secreciones de la próstata y de las vesículas seminales (Salazar, 2014).

4.8.3. Fracción post espermática

Fracción post espermática o también conocida como fracción pobre en espermatozoide es de color blanquecino transparente con un aproximado de volumen 200 ml contiene grumos gelatinosos que vienen constituidos de las secreciones de la próstata y glándulas de Cowper (Caiza, 2009).

4.9. Calidad seminal

Salazar (2014), argumenta que el esperma es el resultado al momento de la eyaculación de una mezcla de espermatozoides la cual es una célula terminal que tiene como función el transporte, constituido por el centriolo y el genoma nuclear, objetivo llegar al ovocito, para ejercer esta función el espermatozoide tiene que poseer estructuras especializadas como: membrana plasmática, organelos que especifican la vaina mitocondrial, flagelo y el acrosoma; estos garantizan la interacción en el tracto genital femenino con el ovocito y sus envolturas.

4.10. Evaluación macroscópica

4.10.1. Volumen

Según el reporte de Intriago y Vargas (2019), refiere que el volumen del semen es de 50 a 150 ml esto va a depender de la raza, tamaño testicular, edad y estado fisiológico del animal, mientras que el eyaculado es de 250 ml alrededor.

4.10.2. Color

León (2006), publica que el color blanco cremoso o blanco lechoso, puede variar, con una apariencia opaca lo que nos manifiesta una alta concentración de espermatozoides.

4.10.3. Olor

El semen del cerdo se caracteriza por tener una ligera afectación por las feromonas del aparato genital, siendo su olor sui generis, en ocasiones el semen suele estar contaminado por orina o secreciones prepuciales, lo que ocasiona que tenga un olor muy fuerte (León, 2006).

4.10.4. pH

El pH del eyaculado va a depender de lo que aporta las glándulas anexas, un eyaculado recién obtenido tiene valores desde 6,4 a 7,4 pero este valor puede variar por el tiempo, contaminación bacteriológica, manipulación y concentración (Intriago y Vargas, 2019).

4.10.5. Evaluación microscópica

Peñañiel (2018), en su investigación realizada redacta que para observar la calidad del semen se debe llevar a cabo un análisis cuantitativo laboratorial donde se determinarán ciertas

características espermáticas como: motilidad, vitalidad, concentración, aglutinación y morfología.

4.10.6. Vitalidad

Se realiza la evaluación del número de espermatozoides vivos, para esto se debe de teñir la muestra con eosina-nigrosina, un colorante que nos permitirá observar a los espermatozoides muertos con un tono rojo o rosa, mientras que a los espermatozoides vivos no tendrán ningún tipo de coloración, para procesar una muestra de semen su vitalidad debe de ser de un 80% con un 20% de mortalidad función atravesar la membrana de los espermatozoides muertos con facilidad (Peñafiel, 2018).

4.10.7. Motilidad

La motilidad espermática es un parámetro el cual refleja la vitalidad del eyaculado, en función de la cantidad de células movibles en la muestra, por lo que se puede ver afectada por factores exógenos como excesivo calor, luz, frío, agentes químicos o extraños, para ello se tiene presente que exista un número de espermatozoides que no presenten movilidad al momento de la evaluación (Domínguez, 2018).

Es decir que tiene largo periodo de inactividad sexual se presenta una baja motilidad y alto número de espermatozoides muertos, donde su valoración se la realiza en el microscopio siendo esta la más económica forma observar la motilidad espermática; para esta clasificación se tiene unos parámetros a seguir donde de cero a cinco comprende desde los espermatozoides sin movimiento, hasta aquellos con movimientos sucesivo muy rápidos (Villa, 2020) (ver tabla 1).

Tabla 1. Escala de vigor espermático de acuerdo a la motilidad (Veloz. 2017).

Escala	Descripción
0	Inmóviles o muertos.
1	Girando entre sí, sin movimiento sucesivo
2	Movimientos anormales, en ocasiones progresivos
3	Con movimiento progresivo lento y ondulatorio
4	Con movimiento progresivo rápido.
5	Con movimiento progresivo rectilíneo muy rápido.

De acuerdo con Villa (2020), plantea en su investigación que en el verraco se evalúa la motilidad espermática individual para ello, se debe tener presente que la motilidad va a depender de la temperatura de la muestra, la que tiene que ser de 37°C, por lo que la valoración debe ser rápida para evitar el enfriamiento de la muestra, ya que la valoración de la motilidad permite excluir los eyaculados con baja viabilidad, que tiene como un rango no recomendable utilizar un eyaculado < 50% de motilidad.

Un grupo de científicos han debatido sobre uno de los primeros descubrimientos más relevante y longevo de la historia, la cual data desde 1677, cuando Antón van Leeuwenhoek miró a través de su microscopio su propio semen, al hacerlo se convirtió en la primera persona en observar las células reproductoras, a las que denominó animálculos, los cuales tenían movimiento de serpiente o de una anguila nadando (Cara, 2020)

El mismo autor redacta que actualmente los científicos aseveran que los espermatozoides no se mueven simplemente moviendo sus colas de un lado para el otro como se conocía, si no que los espermatozoides realizan un complejo bailoteo en tres dimensiones de rotación y giro lo que hace una ilusión óptica que pareciera que agitan sus colas cuando son observados a través del microscopio tradicional.

4.11. Anomalías Espermáticas.

Las anomalías espermáticas representan cualquier modificación, malformación, defectos, mutación o disminución de la estructura natural del espermatozoide, que tiene como consecuencia afectaciones sobre el funcionamiento y/o fertilidad del espermatozoide (Torretta et al., 2010).

4.11.1. Endosmosis celular

La endosmosis celular se trata de la difusión de fuera adentro, que se establece al mismo tiempo que su contraria la exósmosis, cuando dos líquidos de distinta densidad están separados por una membrana semipermeable.

4.11.2. Aglutinación.

Peñañiel (2018), refiere que este fenómeno se lo observa mayormente en los eyaculados frescos y en los recién diluidos donde se da mayor concentración de espermatozoides vivos o muertos, los cuales están unidos a las células epiteliales o unidos entre sí, la aglutinación se puede dar por diferentes factores como; presencia de gran cantidad de células epiteliales, mala calidad espermática, contaminación del eyaculado y alteración del pH en plasma seminal, las que se asocian a procesos inflamatorios o alteraciones en las glándulas accesorias.

4.12. Morfología espermática

La morfología espermática es uno de los parámetros más importantes que se evalúan durante el análisis seminal. Está compuesto tanto por pruebas convencionales en las cuales se determina la cantidad y cualidades de los espermatozoides como por pruebas funcionales que evalúan las características fisiológicas y moleculares del espermatozoide (Iglesias et al., 2019).

4.13. Concentración

Según Peñafiel (2018), asevera que la concentración es un parámetro importante en la evaluación espermática, por ello se la expresa con el número de espermatozoides por ml, para poder determinar la concentración espermática del eyaculado se la realiza con una cámara de Burker o una cámara de Neubauer con el semen diluido, por lo que debe haber una concentración de espermatozoides de unos 4.000M lo que haría una dosis seminal de unos 100ml.

Salazar (2014), reporta que la concentración es un parámetro fundamental para la determinación del número de espermatozoides, ya que de esta forma se puede determinar el volumen del eyaculado para así determinar la cantidad de dosis seminales.

V. MATERIALES Y MÉTODO

5.1. Descripción del área de la investigación

El presente estudio se realizó en el Proyecto Porcino de la Dirección de Ciencia y Tecnología (DICTA), Comayagua. Ubicada a 2.5 km de la ciudad de Comayagua, en la comunidad de cascabeles. El proyecto porcino se encuentra a una altura de 630 msnm, cuenta con un clima tropical seco; temperatura promedio anual de 27.6°C, humedad relativa de 69.2%, evaporación de 1724.4 mm y precipitación pluvial promedio de 1100mm. Sus coordenadas 14°26'17.5" latitud norte y los 87°42'10.7" longitud oeste, y su extensión territorial es de 800,000m². (DB-CITY 2024).

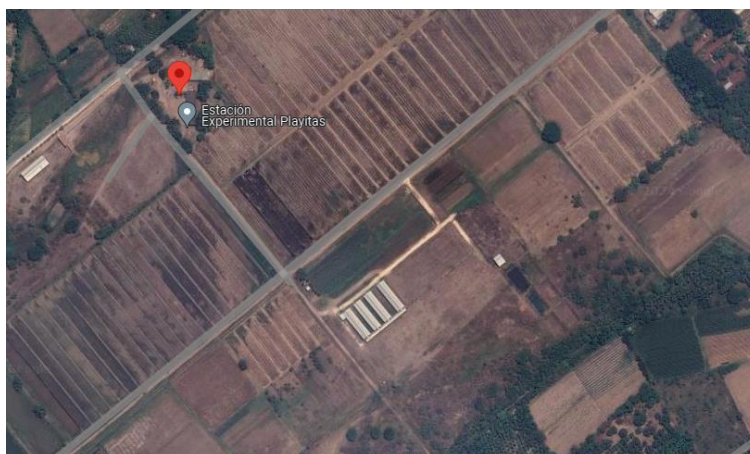


Figura 1. Imagen satelital con la ubicación del lugar de investigación. Fuente: Google Earth (2024).

5.3. Materiales y equipos

Para realizar esta investigación fue necesario el uso de materiales y equipos, para campo y laboratorio. En campo se utilizaron los siguientes materiales, la indumentaria correcta para el proceso en la granja como ser; (overol, botas negras, guantes de látex guantes de nitrilo y cubrebocas, bolsas de recolección, tijera, agua, termo recolector, gasas para filtrado), ficha clínica, libreta de campo, termómetro digital, estetoscopio, tablero, lápices, computadora, reloj de mano y rotuladores.

Para el laboratorio se usó gabacha, guantes de nitrilo, pinzas plásticas, tapabocas, portaobjetos, cubreobjetos, beaker, tubos de ensayo, cilindro graduado, tinción de Giemsa, pipetas de transferencia, microscopio óptico, fotómetro, agua destilada, papel toalla, fichas de recolección, baño maría, placas de calefacción, porta objetos, cubreobjetos, fijador de metanol, refrigeradora, agua potable, y formalina 10.

5.3. Recurso humano

La investigación fue apoyada por tres docentes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Docente guía: Ms c. José Francisco Aguiriano Sánchez, asesor (es) secundario (s): Ph.D. Carlos Manuel Ulloa, Dmv. Lisandro Zelaya Bertrand, estudiante (tesista): Erick Rolando Arriaga Villanueva, en colaboración con la Coordinación Regional de DICTA en Comayagua y la Dirección del Proyecto Porcino Dicta Comayagua, asesor(s) externo: Ing. Jeffry Guillen.

5.4. Método

La investigación se realizó durante el periodo de agosto de 2024 a noviembre del 2024. La población porcina que entró en la investigación fueron un total de 9 sementales de razas diferentes, tres Duroc rojo o jersey, tres Yorkshire y tres Landrace, con edades de dos a tres

años manejados en jaulas de dos punto cinco metros de largo por dos punto cinco metros de ancho, alimentados con 2.5 kg por día de lactancia de marca Alcon® Se utilizaron 3 protocolos de tonificación, para cada protocolo se utilizaron 3 verracos (uno de cada raza): el Protocolo A: P-Se-AD2E (Olivitasan Plus®), el protocolo B: P-org-B12-AD3E(Catosal®-Vigantol®) y el protocolo C: es el grupo control. Para el análisis de los resultados se utilizó un diseño Completamente al Azar (DCA), se evaluó por separado cada variable al día 20, 40 y 70 post aplicación de los tonificantes, con 3 tratamientos los cuales son: Tratamiento 1: protocolo A: P, Se + AD2E, tratamiento 2: protocolo B: P-org, B12+ AD3E, tratamiento 3: Protocolo C: grupo control, sin ningún tipo de aplicación. Cada tratamiento (protocolo) se evaluó con 3 repeticiones respectivamente incluido el control.

Para el análisis de datos se utilizó el programa INFOSTAT ® con lenguaje de R, y analizado con una separación de medias con LSD Fisher por ser un estudio con menos de 5 tratamientos, con un nivel de significancia al 0.05.

5.4.1 Procedimiento de extracción.

Se realizó una evaluación previa a los sementales la cual consistió en evaluar el estado de salud (ver anexo 3), mediante la observación visual directa, examen clínico y anamnesis de cuidadores con la finalidad de detectar afecciones que perjudicaran su rendimiento durante el estudio.

La colección del semen se llevó a cabo en sala de colección con maniquí, mediante el método japones mano enguantada, el semen se colecta en una bolsa plástica montada en un termo aislante con agua atemperada a 37°C de boca ancha y la apertura del termo se cubrió con un papel filtro para evitar el contacto de la secreción gelificante de las glándulas bulbouretrales con el resto del eyaculado (ver anexo 9)

5.6. Variables evaluadas

Para valorar la calidad espermática pre y post aplicación de los tonificantes en los sementales porcinos se tomaron las siguientes variables:

5.6.1. Volumen

La cantidad de eyaculado se evaluó en mililitro (ml) justo después de su recolección en un beaker limpio atemperado a 37° C y graduado en ml, se midió a los 0 días, 20, 40, 70 días post-aplicación de los tonificantes

5.6.2. Concentración espermática

Número de espermatozoides por mililitro recolectado antes de aplicación (día cero) y después de aplicación de los tonificantes días 20, 40 y 70: Se midió el número de espermatozoides en semen fresco, recién recolectado y se utilizó equipo calibrado marca: FUJIHIRA® y modelo: Porcine Sperm Photometer III®.

Para realizar el recuento espermático se realizó una homogenización de la muestra evitando la formación de burbujas, una vez homogenizada se cargó en el fotómetro con un tubo capilar, se dejó reposar por 1 minuto para que los espermatozoides se asienten en el capilar y se realizó el conteo en el fotómetro de 10 a 15 minutos después de la recolección, este procedimiento de conteo se ejecutó en 3 veces, en diferentes capilares, luego se promediaron los resultados, esto con la finalidad de cuestionar el límite de error, el cual debe ser mayor al 95% de confianza como referencia, la siguiente fórmula para encontrar el promedio de los dos recuentos realizados.

$$\frac{N1 + N2 + N3}{3}$$

Donde N1 es el primer resultado, N2 Segundo resultado, N3 tercer resultado y se divide entre 3 como constante.

El procedimiento es fundamental en reproducción ya que ayuda a determinar el número de espermatozoides que contiene el eyaculado por ml, este dato junto al volumen determina cuantas hembras podemos inseminar de manera artificial.

Según Hafez et al (2000), la concentración en la fracción rica de espermatozoides se aproxima a 6.10×10^{-8} es decir 610,000,000 millones de espermatozoides por ml y como mínimo aceptable para un verraco es de 100,000,000 millones de espermatozoides por ml. La nomenclatura utilizada para valorar la concentración de espermatozoides fue la propuesta por Hafez et al (2000) (Anexo 1).

5.6.3. Motilidad espermática

La motilidad masal se midió en porcentaje, antes de la aplicación (día 0), y los días 20, 40 y 70 después de la aplicación de los tonificantes, según escala propuesta por Hafez et al (2000), utilizando un microscopio de luz, con objetivo de 10x. La medición implica una valoración subjetiva de la motilidad de los espermatozoides, se valora colocando una gota de semen fresco (menos de 15 minutos de su recolección) en un portaobjetos limpio y atemperado a 37 °C luego se emplea un cubreobjetos sobre la gota muestra sin dañarla y visualizarla posteriormente al microscopio de luz, la cual se observa en un lente 10x, la determinación de puntuación de la motilidad espermática se detalla en el Anexo 2.

5.6.4. Morfología espermática

La Morfología se califica en porcentaje (%) evaluado al día 0 y a los 20, 40 y 70 días post aplicación de los tonificantes: Se midió y evaluó la morfología según criterio de Hafez et al (2000). Observado con microscopio marca AmScope® con objetivo de 40x aumento.

El procedimiento realizado fue tomar una gota de semen puro ya homogenizado y se colocó en el porta objetos, seguidamente se empleó otro portaobjetos de puntas redondeadas para

realizar un extendido, posteriormente deja secar y se colorea con tinción de Giemsa para este paso se sumerge la muestra en metanol por un máximo de 5 minutos y luego se extrae y se deja secar a temperatura ambiente, para luego observar al microscopio en 40x.

Su valoración consistió en evaluar 150 espermatozoides a través de su morfología, consecutivamente se determinó el porcentaje de dañados o defectuosos mediante la siguiente formula:

$$\frac{W}{P \times Y}$$

Donde W es número de espermatozoides defectuosos, P es 100 como constante y Y es 150 número de veces que se contaron espermatozoides por campo.

Según Hafez (2000) de 4 % a 10% es aceptable, el semen que contiene el 15% de los espermatozoides anormales se debe cuestionar su fertilidad y no debería de usarse en programas de inseminación artificial.

5.7. Valoración de actitud reproductiva de los verracos

Según Bedford (2014) la evaluación de la aptitud reproductiva (EAR) se enfoca en conocer el potencial reproductivo de un macho dado, incluyendo la capacidad de apareamiento, la libido, el examen físico general, la condición de sus órganos genitales además de la producción y calidad del esperma.

5.7.1. Libido

La aptitud reproductiva se obtuvo mediante el cálculo del tiempo en que el verraco realizaba la monta en el maniquí o cerda en celo, con un cronometro de mano graduado en minutos, segundos, se tomó la medida desde el momento que el semental realiza el salto hacia el maniquí, hasta que finaliza su eyaculación y pierde la atracción por la cerda.

5.8. Valoración de eficacia de ambos protocolos de tonificación

5.8.1. Eficacia de protocolos

Se tomo en cuenta que la variable más importante respecto a la eficiencia y eficacia reproductiva es la concentración espermática, por lo tanto, su aumento o descenso durante todo el estudio en los tres grupos de verracos, después de la aplicación de los tonificantes, será el resultado del efecto de los protocolos.

Para conocerlo se promediaron sus resultados post aplicación de los tonificantes, y se utilizó la siguiente formula de porcentaje:

$$((\text{Valor Final} - \text{Valor Inicial}) / \text{Valor Inicial}) * 100.$$

Donde: Valor final es el promedio de la suma del análisis del día 20, 40 y 70 post aplicación. Valor inicial es el resultado del día cero antes de la aplicación de tonificantes y 100 como constante.

5.9. Análisis estadístico.

Los datos obtenidos fueron procesados en el programa estadístico INFOSTAT ® (2020) con lenguaje de R, y analizado con una separación de medias con LSD Fisher por ser un estudio con menos de 5 tratamientos, con un nivel de significancia al 0.05.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. El efecto de los protocolos de tonificación sobre la calidad espermática de los sementales se determinó mediante la comparación del resultado de las siguientes variables:

6.1.1. Volumen

Se midió el volumen en milímetros de semen eyaculado, utilizando un recipiente graduado en ml. Se realizó análisis estadístico, en los cuales ninguna de las mediciones de 20, 45 y 75 días post aplicación presentaron diferencias estadísticas significativas comparados con el día cero, encontrando un P-valor mayor a 0.05 aunque, se presenta diferencia numérica respecto al grupo control (Figura 2).

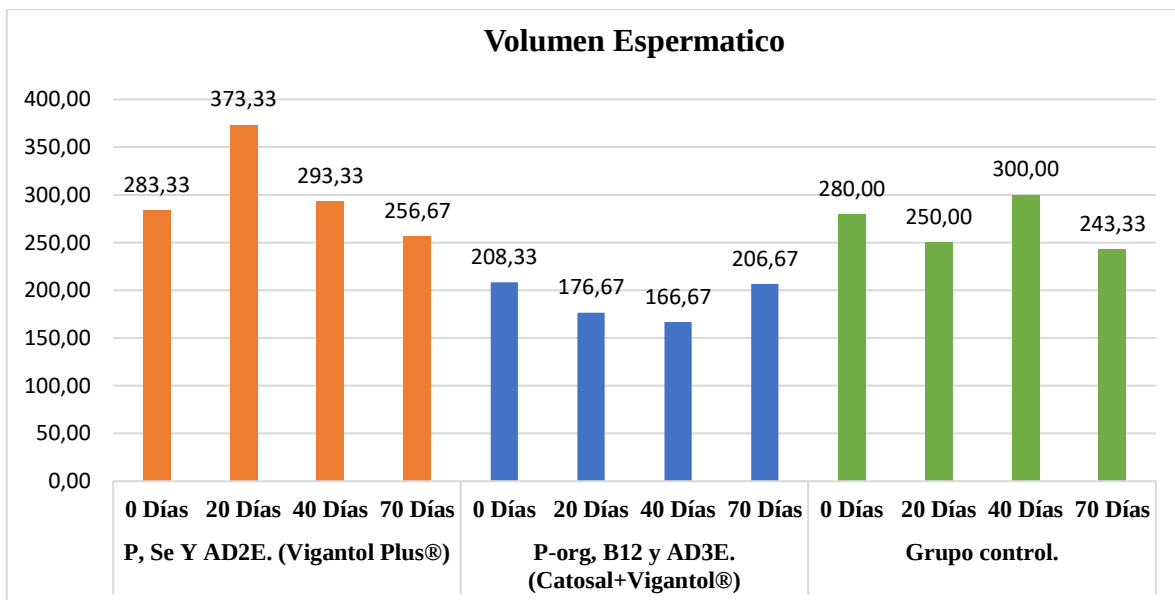


Figura 2. Evolución del volumen post aplicación del tratamiento

La figura 2 nos muestran que el protocolo de tonificación P-Se-AD2E utilizado para el grupo de tratamiento 1, presento un aumento de volumen en un 32% al día 20 de evaluación, 4% al día 40 de evaluación y disminuyo un 9% al día 70 respecto al día cero.

Según Hafez et al (2000) el aumento en volumen se debe a una acción estimuladora sobre el hipotálamo, favoreciendo la secreción de hormonas del lóbulo anterior lo que se traduce en un aumento de la actividad de las gonadorelinas que estimula al epitelio germinal y las células de Leydig, del verraco además menciona que los volúmenes del eyaculado de un verraco se sitúan entre 150 a 250 ml, lo cual indica que los eyaculados obtenidos en el presente estudio, antes y después de los tratamientos estaban dentro de los rangos permitidos.

Con respecto al protocolo de tonificación P org- B12-AD3E utilizado para el grupo de tratamiento 2, presento una disminución de volumen espermático de 15% al día 20, 20% al día 40 y 1% al día 70 post aplicación, con respecto al día cero. Valverde et al (2019) sugieren que en los métodos de estimación realizados en su investigación (espermadensímetro (ED), espectrofotómetro (EF) y sistema automatizado de análisis de semen (casa)), la concentración fue menor cuando el volumen de eyaculado fue mayor, esto podría explicarse por un efecto de dilución que hace que por unidad de volumen haya menos espermatozoides, porque hay más plasma seminal.

En cambio, el grupo control disminuyo en un 11% al día 20, aumento un 7% al día 40 y disminuyo un 13% al día 70 con respecto al día cero.

6.1.2. Concentración espermática

Para el número de espermatozoides/ml no se encontró diferencia estadística ($P > 0.05$) en ninguna de las repeticiones de 20, 40 y 70 días post aplicación respectivamente (tabla 1). Esta variable si presento diferencia numérica mostrando mejor resultado el tratamiento 2 correspondiente al protocolo de tonificación P org-B12-AD3E con una tendencia exponencial post aplicación (figura 3).

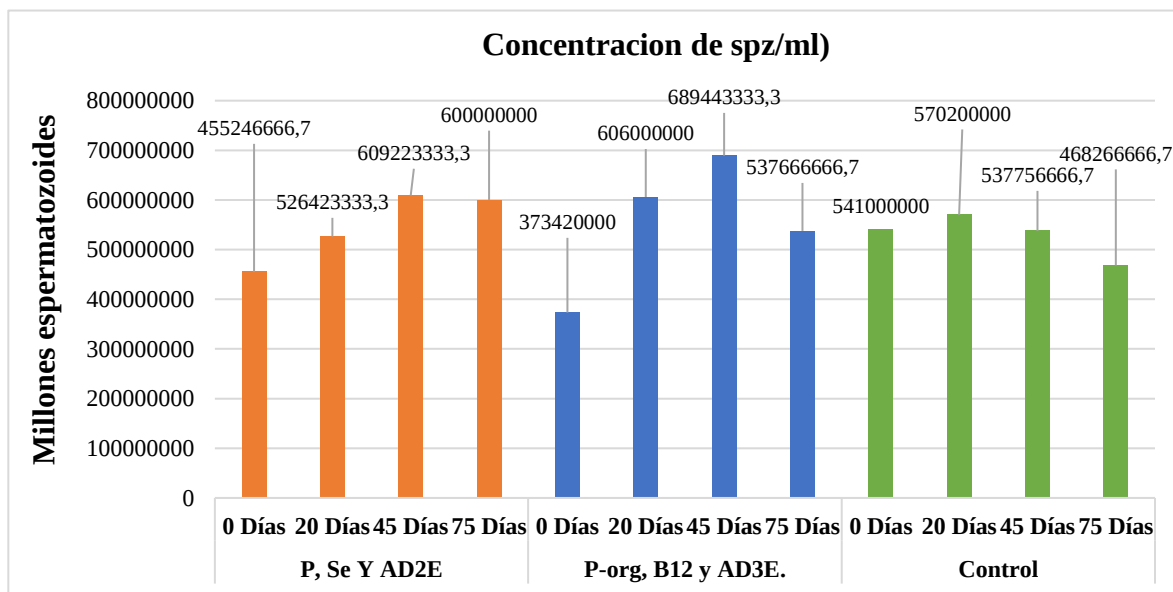


Figura 3. Representativo del comportamiento de los tres tratamientos respecto a la concentración espermática

El grafico muestra que el protocolo de tonificación P-Se-AD2E correspondiente al tratamiento 1, aumentó 15% al día 20, 34% al día 40 y 32% al día 70 post aplicación respecto al día cero, a la vez que el protocolo de tonificación P org-B12-AD3E correspondiente al tratamiento 2, supero ese resultado a los 20 días con 62%, 85% el día 40 y 44% al día 70 post aplicación respecto al día cero y el protocolo grupo control aumento un 5% al día 20 disminuyo 1% al día 40 y al día 70 disminuyo 13% respecto al día cero.

La optimación del resultado posiblemente se debió a la acción tonificante que este ejerce sobre el hipotálamo y que recae sobre las células de Sertoli, encargadas de la producción de espermatozoides del verraco, todo este proceso tiene una duración de siete semanas dando lugar a lo que se conoce como espermatogénesis (Solis 2007).

6.3. Morfología

Se evaluó, morfología según escala de porcentaje (%) evaluado a los 20, 40 y 70 días post aplicación de los tonificantes: Se midió y evaluó la morfología según criterio de Hafez et al

(2000) (anexo 6). Observado con microscopio marca AmScope® con objetivo de 40x aumento y teñidos con tinción de Giemsa.

Mediante el análisis estadístico no se presentó diferencia estadística ($P>0.05$) significativa entre los protocolos al día 20, 40, y 70 como se muestra en la tabla 1 respectivamente. Pero los tratamientos si mostraron mejorías en la reducción de espermatozoides no viables (figura 4).

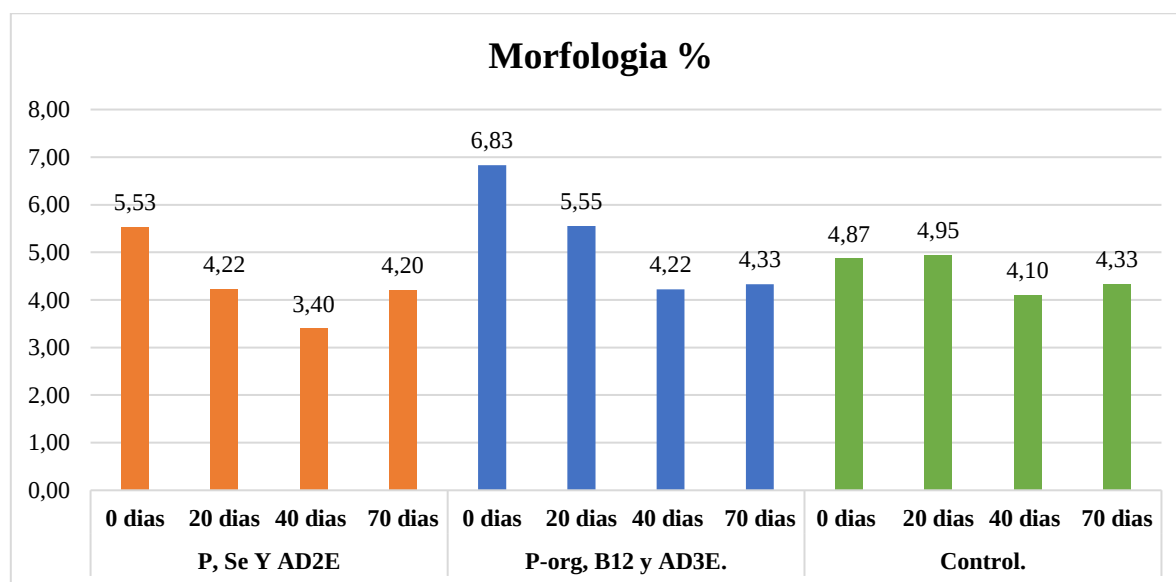


Figura 4. Representativo del comportamiento de los tres tratamientos respecto a la morfología espermática.

Donde muestra que el protocolo de tonificación P-Se-AD2E correspondiente al tratamiento 1 represento una disminución del 24% de anomalías al día 20, un 39% al día 40 y un 24% al día 70 respecto al día cero, en cambio el protocolo de tonificación P-org-B12-AD3E correspondiente al tratamiento 2 represento una disminución 19% al día 20, 38% al día 40 y 37% al día 70 respecto al día cero y el grupo control en un 2% a los 20 días y disminuyo en un 16% al día 40 y 11% al día 70 desde el día cero.

Los resultados coinciden con los reportados por Almaza y Alvares (2005) citado por Solís (2007) realizados en bovinos, con reducciones del 25% de anormalidad en los eyaculados. Estas modificaciones positivas en los espermatozoides se van a ver reflejadas en la cantidad de dosis producidas por verracos y en la calidad del semen que se está obteniendo.

6.4. Porcentaje de motilidad masal

A través del análisis estadístico se encontró que no se presentó diferencia estadística significativa ($P>0.05$), más sin embargo se visualiza diferencia numérica de un tratamiento a otro en las mediciones realizadas a los 20, 40 y 70 días post aplicación (tabla 1)

Según Whittemore (1993) los rangos de motilidad en masa permitidos van desde 80% en adelante, los obtenidos en el estudio, durante y después de los tratamientos aumentaron el porcentaje de motilidad. (Véase en la ilustración 4).

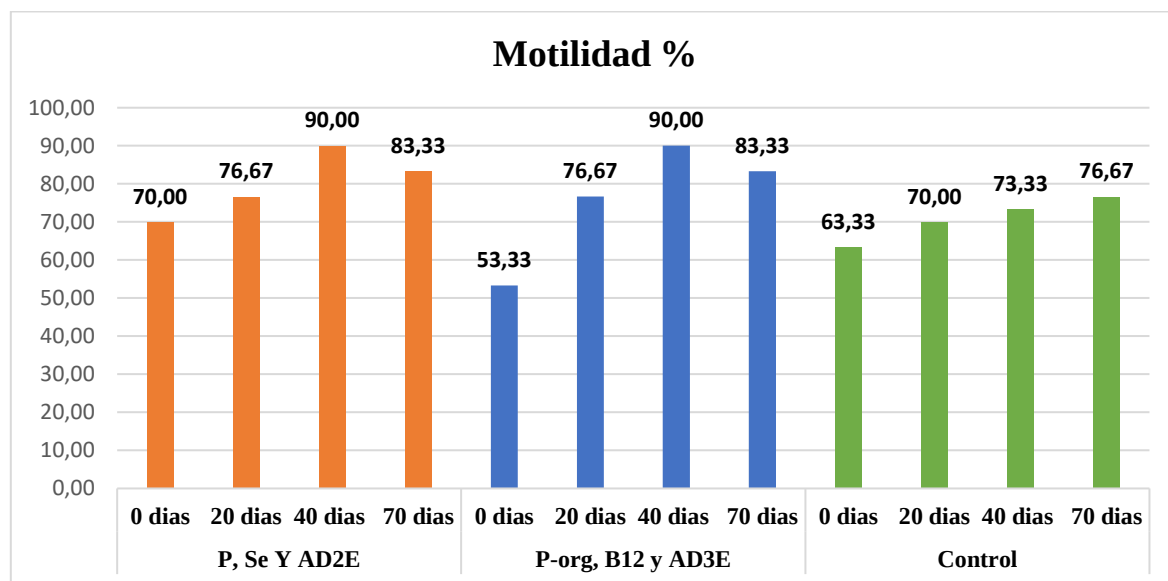


Figura 5. Evolución de la motilidad post aplicación por tratamiento.

El protocolo P-Se-AD2E correspondiente al tratamiento 1 represento una mejora en su motilidad al día 20 de 10%, en su día 40 un 29% y al día 70 un 19%, en cambio

el protocolo con mayor mejoría de la motilidad espermática fue el protocolo de tonificación P-org-B12-AD3E correspondiente al tratamiento 2 aumentado al día 20 un 44%, un 69% al día 40 y un 56% al día 70 desde el día cero de aplicación y el protocolo grupo control reflejo un aumento del 11% al día 20, 16% al día 40 y 21% al día 70 respectivamente desde el día cero.

Los resultados obtenidos coinciden a los realizados en verracos por Atencio et al (2013) quienes no encontraron diferencia estadística en el incremento de la motilidad con el uso de estimulante reproductivo Calox®.

6.2. Libido.

Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$) (tabla 1), observándose una mayor libido en los verracos después de la administración de los tonificantes (figura 6). Donde muestra que el protocolo de tonificación P-Se-AD2E correspondiente al tratamiento 1 al día 20 post aplicación aumento su libido en un 24%, al día 20 un 8% al día 40 y disminuyo 13% al día 70 respecto al día cero. En cambio, el protocolo de tonificación P-org-B12-AD3E correspondiente al tratamiento 2 aumento un 31% día 20, 29% al día 40 y un 25% al día 70 respecto al día cero y el grupo control disminuyo un 13% al día 20, 14% al día 40 y 12% al día 70 respecto al día cero.

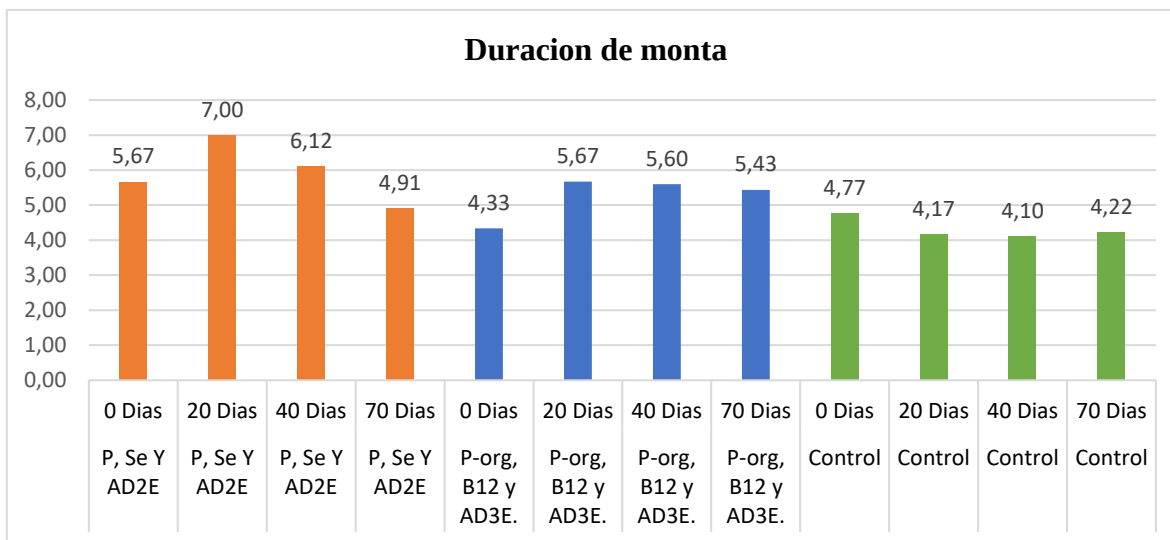


Figura 6. Resultado de libido, reflejado en tiempo de duración de la monta durante su extracción seminal.

“Posiblemente se debe a la composición farmacéutica utilizada en el producto comercial P, Se-AD2E (Olivitasan Plus®) que incrementa la producción de testosterona, logrando una rápida recuperación de la libido. La testosterona es secretada por las células de Leydig de los testículos mediante un estímulo de la hormona Luteinizante Hipofisiaria (LH), estos resultados fueron complementados con apreciaciones visuales, como incremento de la producción de saliva (baba) y movimientos abdominales al momento de la monta”. Almaza y Alvares (2005) citado por Solis (2007) encontraron un incremento en la libido de bovinos que consumieron Spermax Forte® durante 60 días.

6.3. Eficacia de los Protocolos

Se encontró que el protocolo de tonificación P-Se-AD2E correspondiente al tratamiento 1 aumento un 27% la concentración espermática respecto al día cero de su aplicación, en cambio el protocolo de tonificación P-org, B12-AD3E correspondiente al tratamiento 2 aumento en un 64% la concentración espermática respecto al día cero y el grupo control disminuyo un 2% su concentración espermática respecto al día cero (Figura 6).

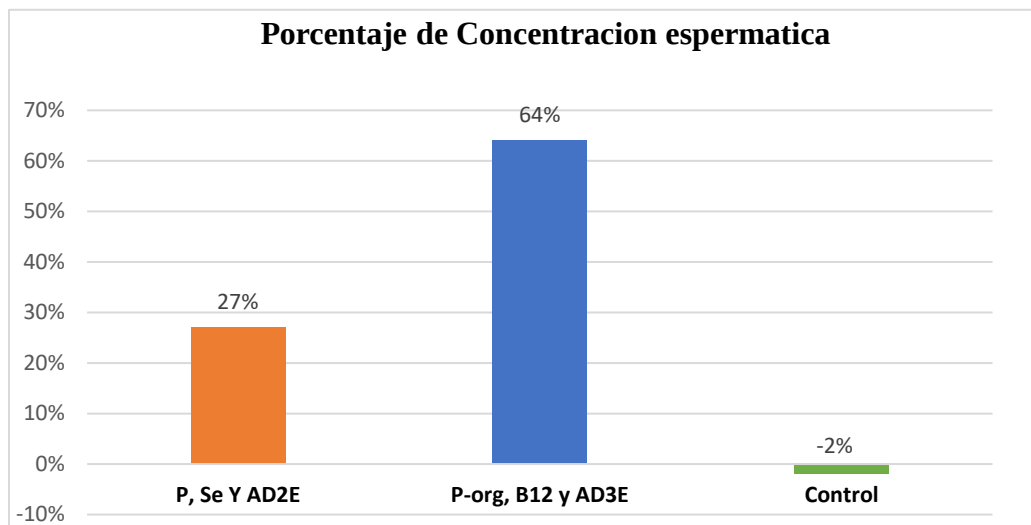


Figura 7. Porcentaje de variación de la concentración espermática de los protocolos.

Tabla 2. Evaluación de volumen, concentración, motilidad, morfología y tiempo de monta por cada tratamiento a los 20, 40 y 70 días de la aplicación del protocolo.

Tratamiento	Tiempo Post aplicación	Concentración en millones de espermatozoides/ml	Volumen de Eyaculado	Morfología %	Motilidad Masal %	Tiempo de monta min
P-org, B12 y AD3E	20 días	606,000,000	176.67	5.55	76.67	4.17
P, Se, y AD2E	20 días	526,423,333	373.33	4.22	76.67	7
Control	20 días	570,200,000	250.00	4.60	70	5.67
Cv %	20 días	28.51	17.25	22.28	21	31.43
R²	20 días	0.66	0.89	0.44	0.20	0.61
P-Valor		0.8401	0.0156	0.3806	0.8403	0.2580
P-org, B12 y AD3E	40 días	689,443,333	166.67	4.22	90	4.10
P, Se, y AD2E	40 días	609,223,333	293.33	3.40	90	6.12
Control	40 días	537,756,666	300.00	3.39	73.33	5.60
Cv %	40 días	21.39	19.20	31.67	7.89	26.20
R²	40 días	0.75	0.81	0.30	0.78	0.57
P-Valor		0.4421	0.4477	0.7228	0.0588	0.2883
P-org, B12 y AD3E	70 días	537,666,666	206.67	4.33	83.33	4.22
P, Se, y AD2E	70 días	600,000,000	256.67	4.20	83.33	4.91
Control	70 días	468,266,666	243.33	4.33	76.67	5.43
Cv (%)	70 días	20.95	11.84	26.80	9.64	10.67
R²	70 días	0.83	0.60	0.35	0.50	0.90
P-valor		0.4340	0.1602	0.9870	0.5378	0.1053

P-org -B12 - AD3E: Catosal®, Vigantol® (color verde)

P-Se-AD2E: Olivitasan Plus (color rojo)

Control: Grupo Testigo (color celeste)

CV%: Coeficiente de variación

R²: Coeficiente de determinación

P-Valor: Significancia estadística

VII. CONCLUSIONES

- Los protocolos de tonificación a base de P-Se- AD2E y P org- B12-AD3E utilizados en sementales porcinos no presentaron diferencia estadística significativa en los indicadores de calidad espermática; volumen, concentración espermática en ml, motilidad y morfología. Cabe resaltar que numéricamente si mostraron diferencia con respecto al grupo control.
- En relación al comportamiento reproductivo de los verracos, se concluye que el uso de protocolos de tonificación si tienen efecto positivo, mostrando una diferencia entre los tratamientos ($P < 0.05$), presentándose una mayor libido en los sementales después de los 20 días post aplicación de los protocolos de tonificación en relación al grupo control.
- Relacionado a la eficacia de los protocolos de tonificación, se concluye que se logró determinar una superioridad para el tratamiento 2, en aspectos como concentración espermática 64%, mejora en comportamiento sexual. Seguido del tratamiento 1, en aspectos como concentración espermática 27%, mejora en libido, en relación al grupo testigo respectivamente el cual su concentración espermática disminuyo un 2% durante el periodo de evaluación.

RECOMENDACIONES

1. Para establecer un protocolo de tonificación en donde se puedan establecer dosis, tiempos de repetición de aplicaciones y tiempo de duración de efecto de los tonificantes en los verracos, se recomienda medir la duración de este efecto al menos por 4 meses post ampliación.
2. Realizar un seguimiento a las cerdas inseminadas con semen de los sementales utilizados en el estudio, para medir parámetros reproductivos tales como repetición de celo, porcentaje de preñez, numero de nacidos vivos y así medir la efectividad de los productos sobre eficiencia reproductiva en la granja.
3. Darle seguimiento a este tipo de investigaciones para actualización de información sobre protocolos de tonificación y manejo, con el fin de mantener una mejora constante en la reproducción porcina

VIII. BIBLIOGRAFÍAS

Blomberg Jensen, M. (2014). Vitamin D and male reproduction. *Nature Reviews Endocrinology*, 10(3), 175-186.

Chew, B. P. (1993). Role of carotenoids in the immune response. *The Journal of Dairy Science*, 76(9), 2804-2811.

Caiza, D. (2009). Manejo de verracos para la obtención y procesamiento de semen porcino e inseminación artificial. Universidad Politécnica Nacional. <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1667/1/CD-1959.pdf>

Cara, E. (2020). El famoso movimiento de los espermatozoides es una ilusión óptica, esto es lo que hacen en realidad. 17 mayo 2024, de Gizmodo en español Sitio web: <https://acortar.link/VphgPk>.

Domínguez, R. (2018). Estrategias para reducir el estrés calórico y su efecto sobre características seminales en verracos jóvenes. Tesis para obtención del título de Ingeniero Zootecnista. <https://core.ac.uk/download/pdf/162862507.pdf>

Gil, F., Ramírez, G., Ayala, D., López, O., Latorre, R., Martínez, F., Sánchez, C., Arencibia, A., Orenes, M., Vázquez, J. (2018). Anatomía interactiva del cerdo. Anatomía y Embriología Veterinarias. Universidad de Murcia, España <https://acortar.link/xuYV5N>.

Iglesias, A., Guevara, J., López, O., Guerra, J., Huerta, R., Sánchez, R., Córdova, A. 2019. Evaluación de la técnica modificada de tinción Giemsa en la valoración acrosomal de espermatozoides de mamíferos. Abanico veterinario, 9.

Inatec. (2018). Instituto Nacional Tecnológico. Manejo productivo y reproductivo en porcinos y aves. Nivel de formación y especialidad técnico general agropecuario Inatec segunda edición. <https://acortar.link/pouQ0d>.

Intriago, J., Vargas, M. (2019). Efecto de la coenzima Q10 como antioxidante sobre las características espermáticas del semen fresco porcino. [Informe de trabajo de titulación previa la obtención del título de médico veterinario, Escuela Superior Politécnica de Manabí] Repositorio Institucional UN. <http://repositorio.espam.edu.ec/handle/42000/1147>

Kim, S. W., Weaver, A. C., & Shen, Y. B. (2015). Improving efficiency of sow productivity: Nutrition and health. Journal of Animal Science and Biotechnology, 6, 26.

Kanwar, K. C., Vig, P. S., & Kalla, N. R. (2010). Distribution of vitamin B12 in human seminal plasma and male accessory gland secretions. Andrologia, 10(5), 331-336.

León, C. (2006). Producción animal porcinos semen porcino diluyente espermatozoide. 28 de mayo del 2024, de Escuela Politécnica Nacional Sitio web: <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/2640>

Machuca, C., Pérez, P. (2018). Anatomía y Fisiología Animal: 17 de mayo del 2024. <https://acortar.link/3TueZP>

Mahan, D. C. (2001). Assessment of the influence of dietary vitamin E on sows and offspring in three parities: Reproductive performance, tissue tocopherol, and effects on progeny. Journal of Animal Science, 79(11), 2893-2900.

Marin-Guzman, J., Mahan, D. C., & Pate, J. L. (2000). Effect of dietary selenium and vitamin E on spermatogenic development in boars. *Journal of Animal Science*, 78(6), 1537-1543.

McDowell, L. R. (2003). *Minerals in Animal and Human Nutrition*. Elsevier Health Sciences.

NRC. (1998). *Nutrient Requirements of Swine*. 10th ed. National Academy Press.

Peñafiel, J. (2018). Calidad seminal en reproductores porcinos de la Granje Porkrib – Santa Elena. 17 de mayo del 2024, de Universidad Técnica de Babahoyo.

reproducción comparada. *Revista veterinaria*, 5(2), 31-39.

Rodríguez, H. (2013). Evaluación de la Calidad seminal en el verraco. División de

Salazar, L. (2014). Evaluación del dipol como diluyente de recolección seminal y su efecto sobre la conservación y fertilidad de semen refrigerado de verraco (en línea). Escuela superior politécnica de Chimborazo.

Rodriguez-Martinez, H., Kvist, U., Emerudh, J., Sanz, L., & Calvete, J. J. (2011). Seminal plasma proteins: What role do they play? *American Journal of Reproductive Immunology*, 66(S1), 11-22.

Surai, P. F. (2002). *Selenium in Nutrition and Health*. Nottingham University Press.

Surai, P. F., Ionov, I. A., Kuklenko, T. V., Kostjuk, I. A., MacPherson, A., Speake, B. K., Noble, R. C., & Sparks, N. H. C. (2010). Effect of selenium and vitamin E supplementation on the antioxidant status and reproductive performance of boars. *Journal of Animal Science*, 84(3), 345-351.

Torretta, M; Rabaglino, M.; Ferrero, S. 2010. Caracterización cualitativo-cuantitativa de patologías espermáticas estudio comparativo de la incidencia de anormalidades espermáticas

en semen porcino fresco y refrigerado. REDVET. Revista electrónica de Veterinaria, 11(12), 1-20

Valverde et al, 2018. Sistema de analysis computerized de semen in reproduction animal. Obtenido de <https://doi.org/10.15517/ma.v29i2.29852>

Veloz, D. (2017). Evaluación de la calidad espermática de reproductores bovinos mediante el uso de sistemas de evaluación seminal convencional y sistema CASA (análisis seminal asistido por computadora) y su respuesta con la fertilidad por inseminación artificial”. Universidad de cuenca

Villa, P. (2020). Evaluación de semen porcino sometido a dilución en dos etapas térmicas y su efecto reproductivo sobre la inseminación artificial en cerdas. Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Zootecnista (En línea). Consultado, 17 de mayo. 2024. <https://acortar.link/5vc9wI>.

Williams, S. (2013). Eficiencia reproductiva del verraco. Rev. Brasil. Reproducción. Animal. Belo Horizonte. 37(2), 200-206. <https://acortar.link/rYWAlt>

Wu, G., Bazer, F. W., Dai, Z., Li, D., Wang, J., & Wu, Z. (2015). Amino acid nutrition in animals: Protein synthesis and beyond. Annual Review of Animal Biosciences, 2, 387-417.

Hafez, B.2000. Reproducción e inseminación artificial en animales (7) 375-386.

Mormandi E, Ariagno J. (2015). Guía práctica para la evaluación del semen (en línea). Consultado, 25 de agosto 2024. <https://www.revistabypc.org.ar/index.php/bypc/article/download/120/280>

Toro A (2009) Espermograma. Medicina & Laboratorio 15: 145-169 (en línea) consultado. 25 de agosto 2024. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/8741761.pdf>

Valverde et al (2019). Variabilidad en los métodos de estimación de la concentración espermática en verracos (en línea) consultado 04 de diciembre 2024 https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242019000200025

Solís K. F. (2007). Evaluación de la calidad de semen de verracos utilizados para inseminación artificial consumiendo Spermax Forte®. Honduras: Zamorano (en línea) consultado 04 diciembre 2024 <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/803dc9ff-f9b0-45f3-9fe1-603e4d51918a/content>

.

ANEXOS

Anexo 1. Nomenclatura de análisis de semen concentración espermática

Parámetro	Criterio de evaluación	Nomenclatura
Concentración espermática	Cero	Azoospermia
	Reducido	Oligoszoospermia
	Normal	Normozoospermia
	Aumentado	Polizoospermia

(Hafez 2000). donde: El parámetro "cero" Indica un recuento menor de 100,000,000 millones(M) de espermatozoides, "reducido" entre 100 a 200 M, "normal" de 300 M a 400 M, y "Aumentado" de 500 M a 600 M de espermatozoides.

Anexo 2. Se describe la valoración utilizada según Hafez et al (2000).

Motilidad en Masa	Descripción	Porcentaje de espermatozoides vivos (%)
MM 0	En el campo microscópico no se encuentran remolinos. Los espermatozoides están sin movimiento, o está muy débil.	Menos de 10
MM +	Los remolinos son muy lentos y suaves y la vitalidad esta muy disminuida o hay gran cantidad de espermatozoides muertos.	10 - 40
MM ++	Movimientos masivos bien definidos, formación rápida de remolinos	40 – 60
MM +++	Movimiento masivo muy intenso con formación y desaparición rápida de remolinos.	Más de 60

Anexo 3. Técnica para la extracción seminal.

EXTRACCIÓN SEMINAL.

Materiales: Bolsa colectora, filtro, termo recolector, guantes de nitrilo, guantes de látex, cubre boca, botas, tijera, agua potable y maniquí.

Procedimiento:

- Limpieza y desinfección del prepucio, masajeando cuidadosamente, así mismo estimulando al verraco.
- Esperar que el pene salga del prepucio mientras el verraco se excita en el potro.
- Poner la mano en contacto con el pene dejándola resbalar sin apretar, para acostumar al verraco al contacto.
- Cuando el verraco este bien instalado sobre el potro y el pene sobresale bien del prepucio, apretar la extremidad del pene bloqueando con los dedos las espirales, pero teniendo cuidado de dejar sobrepasar la punta fuera de la mano.
- Continuar hasta la prolongación del pene que procede a la eyaculación, ya iniciada la eyaculación se debe seguir apretando bien la extremidad aplicando una presión discontinua para estimular al verraco.
- La eyaculación durara entre 5 a 15 minutos, la primera porción de 10 a 15 ml corresponde a liquido de glándulas accesorias que a menudo contaminan.
- La fracción rica en espermatozoides y cuyo volumen varía entre los 50 a 150 ml con un color blanco lechoso que generalmente inicia la eyaculación.
- La fracción pobre continua y es la que puede alcanzar un volumen de 200 a 300 ml

Anexo 4. Ficha de recolección de datos generales

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Ficha de recolección de datos generales para análisis seminal

Propietario:	Nombre del animal:	Fecha Evaluación:
Dirección:	Nro. Identificación:	Raza:
	Tatuaje:	Caravana: Marca
Teléfono:	Fecha de Nacimiento:	Edad:
	Padre:	Madre:
ANAMNESIS		
Uso mensual:	Fecha: ultima monta __ / __ / __	Temperatura corporal: _____

Examen Físico	
Condición Corporal (1-5):	
Aparato locomotor (0-5)	
Ojos (0-5)	
Fosas nasales (0-5)	
Escroto (0-5)	
Testículos-Tono: (0-5)	
Epidídimo/Cordón espermático:(0-5)	
Pene/ Prepucio: (0-5)	
Actitud Reproductiva (0-10):	
Examen Sanitario:	
Mycoplasma	Parvovirus Leptospira <i>Escherichia coli</i>
Fechas:	
Ultima desparasitación:	
Observaciones:	

Anexo 5. Ficha de laboratorio para datos de análisis seminal

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Ficha de recolección de datos en análisis seminal

Edad:	Raza:	Registro
Forma de colecta:		
Examen macroscópico en fresco		
Numero de eyaculado		
Volumen de eyaculado (ml)		
Color		
Aspecto		
PH		
Examen microscópico en fresco		
Numero de eyaculado		
Motilidad masal (%)		
Vigor del movimiento ondulado (0-5)		
Concentración espermática ($\times 10^{-8}$)		
Morfología espermática normal (%)		

Espermograma

Pasos para calcular la concentración espermática.

1-Se homogeniza la muestra evitando la formación de burbujas,

2-observar en un portaobjetos a temperatura de 37°C con una gota con de la muestra seminal y se observa al microscopio a 40x

3-Realizar conteo por campo.

4-Buscar en la tabla la dilución a utilizar.

5-Diluir y homogenizar la muestra

Ex. Por campo de 400x	Dilución (semen + diluyente)	Factores de conversión según el número de cuadrados contados		
		25	10	5
< 15	1:5 [1 + 4]	20	8	4
15 – 40	1:10 [1 + 9]	10	4	2
40 – 200	1:20 [1 + 19]	5	2	1
> 200	1:50 [1+49]	2	0.8	0.4

6-colocar 2 gotas en cámara de Neubauer y dejar reposar 1 minuto.

7-Realizar conteo de 5 cuadrantes en 40x en los próximos 10-15 minutos

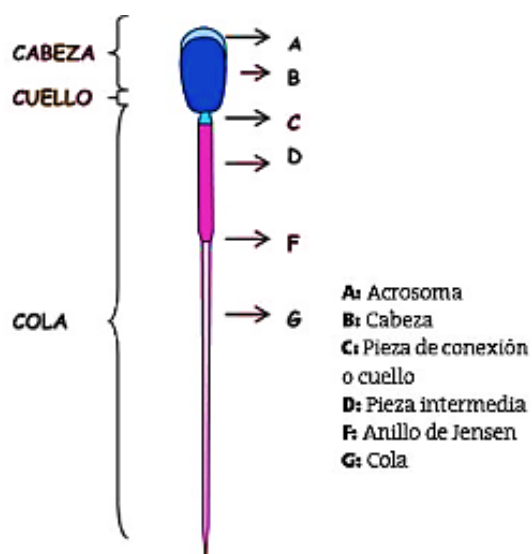
8-utilizar la siguiente fórmula para calcular el número de células por mm^3

$$\text{Espermatozoides/mm}^3(\mu\text{l}) = \frac{\text{Espermatozoides contados} \times \text{Dilución}}{0.2 \text{ mm}^2 \times 0.2 \text{ mm}^2}$$

Anexo 6. Rangos y nivel de aceptabilidad para ciertos parámetros del semen de verraco

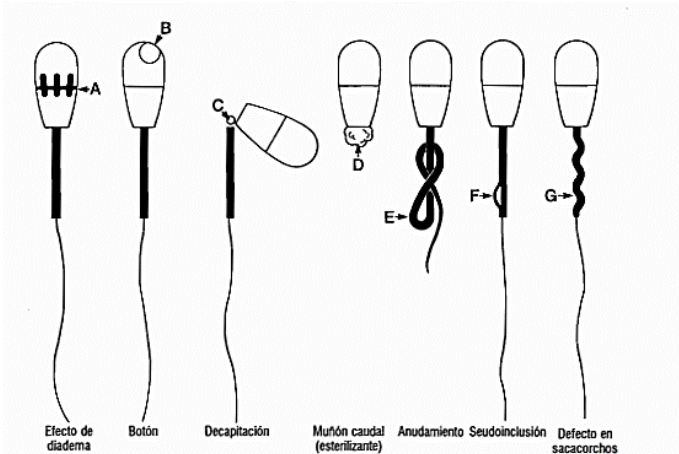
Rangos y nivel de aceptabilidad para ciertos parámetros del semen de verraco		
VALORES	RANGO	UNIDADES
Aceptable (para-IA) Volumen de eyaculado	100-300	ml
Numero total de espermatozoides	10-100	$\times 10^9$
Motilidad progresiva	70-90	%
Anormalidades de cabeza espermaticas	2-5	%
Gotas citoplasmaticas proximales	1-5	%
Defectos de acrosoma	1-2	%
Anormalidades de pieza media	2-5	%
Colas dobladas simples	1-5	%
No puede haber ni contaminación con sangre ni presencia de células inflamatorias		

Anexo 7. Morfología de un espermatozoide porcino



Anexo 8. Anormalidades morfológicas de espermatozoides.

								
Normal (cabeza ovalada)	Cabeza ahusada	Microcefálico (cabeza pequeña)	Macrocefálico (cabeza grande)	Sin cabeza	Amorfo	Doble cabeza	Anormalidad caudal	Espermatozoides inmaduros y precursores



Anexo 9. Colección con termo a 37°C y mediante bolsa con papel filtrante.



Anexo 10. Aplicación de los tonificantes en verracos.



Anexo 11. Evaluación microscópica de Motilidad espermática.



Anexo 12. Fijación de células en portaobjetos con metanol, para su posterior tinción.



Anexo 13. Retiro de colorante.



Anexo 14. Coloración con Giemsa, para visualización de morfología



Anexo 15. Agregación de muestra a porta objetos.



Anexo 16. Evaluación del Volumen de eyaculado

