



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ  
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

**CARRERA PECUARIA**

**TESIS PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO  
VETERINARIO**

**TEMA:**

**EFECTO DE LA ADICIÓN DE LA VITAMINA C COMO  
ANTIOXIDANTE EN EL SEMEN FRESCO DEL PORCINO**

**AUTORES:**

**LUIS FABRICIO MEJÍA VERA**

**BENIGNO LEONARDO PÁRRAGA VÉLEZ**

**TUTOR:**

**M.V.Z. GUSTAVO ADOLFO CAMPOZANO MARCILLO Mg. Sc**

**CALCETA, DICIEMBRE 2019**

## **DERECHOS DE AUTORÍA**

**Luis Fabricio Mejía Vera y Benigno Leonardo Párraga Vélez**, declaran bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentando para ningún grado de calificación profesional, y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración cedemos los derechos de propiedad intelectual a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual y su reglamento.

.....  
**LUIS F. MEJÍA VERA**

.....  
**BENIGNO L. PÁRRAGA VÉLEZ**

## CERTIFICACIÓN DE TUTOR

M.V.Z. Gustavo Adolfo Campozano Marcillo Mg. S certifica haber tutelado la tesis, **EFFECTO DE LA ADICIÓN DE LA VITAMINA C COMO ANTIOXIDANTE EN EL SEMEN FRESCO DEL PORCINO**, que ha sido desarrollada por **Luis Fabricio Mejía Vera y Benigno Leonardo Párraga Vélez**, previa la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....  
M.V.Z. GUSTAVO ADOLFO CAMPOZANO MARCILLO Mg. Sc

## **APROBACIÓN DEL TRIBUNAL**

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaran que han **APROBADO** la tesis, **EFFECTO DE LA ADICIÓN DE LA VITAMINA C COMO ANTIOXIDANTE EN EL SEMEN FRESCO DEL PORCINO**, que ha sido propuesta, desarrollada y sustentada por **Luis Fabricio Mejía Vera y Benigno Leonardo Párraga Vélez**, previa la obtención del título de Médico Veterinario, de acuerdo al **REGLAMENTO PARA LA ELABORACIÓN DE TESIS DE GRADO DE TERCER NIVEL** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

.....  
M.V. KAROLINA LÓPEZ RAUSCHEMBERG Mg.Sc  
**MIEMBRO**

.....  
M.V. ANDRÉS CEDEÑO VERA Mg.Sc  
**MIEMBRO**

.....  
M.V. DERLYS H. MENDIETA CHICA Mg.Sc  
**PRESIDENTE**

## **AGRADECIMIENTO**

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día;

Agradecemos en primer lugar a Dios a nuestras familias, por el apoyo incondicional que nos han brindado durante todo este reto, para obtener nuestros títulos como Médicos Veterinarios.

A todas nuestras amistades, por la ayuda brindada en el transcurso de la elaboración de trabajo, de igual manera nuestra gratitud para aquellas personas que con paciencia y dedicación nos entregaron momentos de su labor y profesionalismo

A los catedráticos el Dr. Ernesto Hurtado, Dr. Derlys Mendieta, Dr. Freddy Zambrano, MV. Karolina López, MV. Andrés Vera Cedeño.

A nuestro tutor de tesis, Gustavo Adolfo Campozano Marcillo por todo el apoyo y los consejos que nos brindó en la realización de esta investigación.

LUIS F. MEJÍA VERA

BENIGNO L. PÁRRAGA VÉLEZ

## **DEDICATORIA**

A Dios por habernos concedido la vida y salud para alcanzar esta meta tan anhelada.

A nuestros padres, por ser los promotores en nuestras vidas y a todos nuestros familiares que nos apoyaron moral y económicamente.

A todas las personas que confiaron en nosotros y en nuestras ganas de superarnos durante toda la preparación estudiantil, por sus consejos y su apoyo moral, a nuestros educadores por la paciencia y entusiasmo con la cual impartieron una buena educación hacia nosotros.

LUIS FABRICIO MEJÍA VERA

BENIGNO.L PÁRRAGA VÉLEZ

## CONTENIDO

CARATULA .....	i
DERECHOS DE AUTORÍA .....	ii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR .....	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA.....	vi
CONTENIDO.....	vii
ÍNDICE DE CUADROS .....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	x
RESUMEN .....	xi
PALABRAS CLAVE .....	xi
KEYWORDS .....	xii
1.    CAPÍTULO I. ANTECEDENTES .....	1
1.1  PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	1
1.2  JUSTIFICACIÓN.....	3
1.3  OBJETIVOS.....	4
1.3.1  OBJETIVO GENERAL .....	4
1.3.2  OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	4
1.4  HIPÓTESIS.....	4
2.    CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO .....	5
2.1  EVALUACIÓN DEL SEMEN .....	5
2.1.1  VIABILIDAD.....	5
2.1.2  AGLUTINAMIENTO .....	5
2.1.3  MOVILIDAD .....	6
2.1.4  CALIDAD ESPERMÁTICA .....	7
2.1.5  MOTILIDAD.....	7
2.1.6  MORTALIDAD .....	7
2.2  ANTIOXIDANTES.....	8
2.2.1  CLASIFICACIÓN DE ANTIOXIDANTES SEGÚN SU ORIGEN.....	8
2.3  VITAMINA C .....	8

2.4	USO DE LA VITAMINA C Y E EN LA CONSERVACIÓN DEL SEMEN DE CERDO .....	9
2.5	HISTORIAS DE LOS DILUYENTES.....	10
2.6	DILUYENTES ESPERMÁTICOS .....	10
2.6.1	COMPONENTES DE LOS DILUYENTES.....	11
2.7	BTS (BELTSVILLE THAWING SOLUTION) .....	11
2.8	ANDROSTAR PLUS. ....	12
2.9	COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ESPERMA.....	12
3.	CAPÍTULO III. DISEÑO METODOLÓGICO.....	13
3.1	UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	13
3.2	CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS.....	13
3.3	DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	13
3.4	FACTORES EN ESTUDIO.....	13
3.5	TRATAMIENTOS .....	14
3.6	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	14
3.7	UNIDAD EXPERIMENTAL .....	15
3.8	VARIABLES A ESTUDIAR.....	15
3.9	VARIABLES INDEPENDIENTES .....	15
3.9.1	VARIABLES DEPENDIENTES .....	15
3.10	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	15
3.11	PROCEDIMIENTO.....	16
3.11.1	SELECCIÓN DEL CERDO REPRODUCTOR.....	16
3.11.2	ENTRENAMIENTO DEL VERRACO.....	16
3.11.3	COLECTA DE SEMEN .....	16
3.11.4	DILUCIÓN DE SEMEN.....	16
3.11.5	ADICIÓN DE VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO) .....	18
3.11.6	EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS A MEDIR DEL SEMEN PORCINO .....	18
4.	CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	20
4.1	EVALUACIÓN MICROSCÓPICA DEL SEMEN PORCINO .....	20
4.1.1	EVALUACIÓN DE AGLUTINACIÓN ESPERMÁTICA .....	20
4.1.2	EVALUACIÓN VIABILIDAD .....	23
4.1.3	EVALUACIÓN MOTILIDAD .....	26
4.1.4	EVALUACIÓN MORTALIDAD .....	29

4.2	EFFECTO DE LA TEMPERATURA, HUMEDAD Y pH EN LA CONSERVACIÓN DEL SEMEN PORCINO.....	32
4.2.1	EVALUACIÓN TEMPERATURA.....	32
4.2.2	EVALUACIÓN HUMEDAD .....	33
4.2.3	EVALUACIÓN PH .....	33
4.2.4	COSTO BENEFICIO.....	34
	CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	36
4.3	CONCLUSIONES.....	36
4.4	RECOMENDACIONES.....	37
	BIBLIOGRAFÍA.....	38
	ANEXOS .....	42

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 3.1.</b> Características Climáticas .....	13
<b>Cuadro 3.2.</b> Tratamientos.....	14
<b>Cuadro 3.3:</b> ADEVA .....	15
<b>Cuadro 4.1:</b> Promedios y errores estándar de la aglutinación en los tratamientos por tiempo de conservación del semen .....	21
<b>Cuadro 4.2:</b> Promedios y errores estándar de la viabilidad en los tratamientos por tiempo de conservación del semen .....	25
<b>Cuadro 4.3:</b> Promedios y errores estándar de la motilidad (†) en los tratamientos por tiempo de conservación del semen .....	27
<b>Cuadro 4.4:</b> Promedios y errores estándar de la mortalidad en los tratamientos por tiempo de conservación del semen .....	30
<b>Cuadro 4.5:</b> Promedios y errores estándar de la temperatura °C en los tratamientos por tiempo de conservación del semen .....	32
<b>Cuadro 4.6:</b> Promedios y errores estándar de la Humedad en los tratamientos por tiempo de conservación del semen .....	33
<b>Cuadro 4.7:</b> Promedios y errores estándar del PH en los tratamientos por tiempo de conservación del semen.....	34
<b>Cuadro 4.8:</b> Costo beneficio entre los diluyentes .....	35

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 4.1.</b> Relación entre la aglutinación y el tiempo de conservación del semen. ....	23
<b>Gráfico 4.2:</b> Relación entre la Viabilidad y el tiempo de conservación del semen. ....	26
<b>Gráfico 4.3:</b> Relación entre la Motilidad y el tiempo de conservación del semen .....	28
<b>Gráfico 4.4:</b> Relación entre la Mortalidad y el tiempo de conservación del semen. ....	31

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la adición de tres dosis de vitamina C (Vit C) al diluyente BTS (Beltsville Thawing Solution, Laboratorio Zoitechlab, USA), sobre los parámetros de calidad seminal, aglutinación, viabilidad, motilidad y mortalidad de semen fresco de porcino. Se colectó un reproductor raza Yorkshire de 30 meses de edad, se aplicaron cuatro tratamientos con siete réplicas (28 muestras) que consistieron en: [T1: sin adición (Control, Androstar® Plus), T2: BTS +0,02 mg Vit C, T3: BTS +0,04 mg de Vit C), T4:(BTS +0,06 mg Vit C, sobre mL de semen). Todos los datos fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS 9.4 (2004). Lo resultados demostraron que para la variable aglutinación se encontró un mayor efecto ( $P < 0,01$ ) a favor de la dosis de 0,02 mg Vit C/mL, los tratamientos con 0,02 mg/mL y 0,04 mg/mL de Vit C mostraron superior efecto en la viabilidad. La motilidad fue mayor ( $P < 0,01$ ) en la dosis de 0,02 mg/mL de Vit C que los demás tratamientos. Además, para la variable mortalidad se encontraron diferencias significativas ( $P < 0,01$ ); mientras que el tratamiento con 0,06 mg/mL de Vit C presentó mayores defectos al final de la prueba. Las variables temperatura, humedad y PH en los indicadores de calidad del semen fueron similares entre los tratamientos ( $P > 0,05$ ). Se concluye que la adición de vitamina C a dosis de 0,02 mg/mL incluidos al diluyente BTS, tiene efectos positivos sobre el tiempo de conservación del semen porcino que posibilita su uso comercial a campo.

## PALABRAS CLAVE

Semen, diluyente de semen, aglutinación, motilidad seminal, viabilidad seminal, mortalidad seminal.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the addition of three doses of vitamin C (Vit C) to diluent BTS (Beltsville Thawing Solution Laboratory Zoitechlab, USA), on seminal quality parameters, agglutination, viability, motility and mortality of fresh semen pig. one race Yorkshire 30 months old player was collected, four treatments with seven replicates (28 samples) were applied which consisted of: [T1: no addition (Control, Androstar® Plus), T2: +0.02 mg Vit BTS C T3: BTS +0.04 mg Vit C), T4 (BTS +0.06 mg Vit C on mL of semen). All data were analyzed using SAS 9.4 statistical package (2004). The results showed that for agglutination variable to a large effect ( $P < 0.01$ ) was found for the 0.02 mg Vit C / mL, treatments 0.02 mg / mL and 0.04 mg / mL Vit C showed superior effect on viability. Motility was greater ( $P < 0.01$ ) in the dose of 0.02 mg / mL Vit C than the other treatments. In addition to varying mortality significant ( $P < 0.01$ ) were found; while treatment with 0.06 mg / mL Vit C presented major defects at the end of the test. The variables temperature, humidity and pH indicators semen quality were similar between treatments ( $P > 0.05$ ). It is concluded that the addition of vitamin C at doses of 0.02 mg / mL including the BTS diluent, has positive effects on the shelf life of the pig semen allowing its commercial use to field.

## KEYWORDS

Semen, semen extender, agglutination, seminal motility, viability seminal, seminal mortality.

# **CAPÍTULO I. ANTECEDENTES**

## **1.1 PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

A nivel mundial en las últimas décadas se han desarrollado técnicas que contribuyen a las explotaciones porcinas, dentro de estas se destacan biotecnologías reproductivas, que ha hecho avanzar tecnológicamente a la producción porcina, donde se observan resultados similares o superiores a los alcanzados en monta natural, contribuyendo al mejoramiento genético (Roche, *et al.*, 2014).

En porcinos los espermatozoides son especialmente sensibles al frío, cuando se someten a temperaturas por debajo de 15°C, determinan alteraciones posteriores de la célula; con temperaturas de congelación los daños son mayores y además de las membranas se dañan el ADN, e incrementa la oxidación celular y produciendo pérdidas de enzimas; todas estas alteraciones provocan daños irreversibles en la viabilidad y funcionalidad de la célula espermática (Sánchez, 2007).

Según Cuenca y Avellaneda (2017) manifiesta que la importancia de conocer la composición de los diluyentes porcinos radica en que esta se encuentra relacionada con la fertilidad, ya que la misma reduce a medida que aumenta la conservación del líquido seminal, además de estar influenciada por la calidad del semen y el número de espermatozoides

Según Córdoba *et al.* (2009) Los antioxidantes son moléculas que impiden la formación incontrolada de radicales libres o inhibir su reacciones. Ellos actúan como donadores de electrones capaces de evitar una oxidación-reducción de la reacción en cadena y manteniendo así un equilibrio antioxidante

Según Guerrero (2015) define que los antioxidantes es un producto químico que evita el consumo de oxígeno y con función biológica, es una sustancia que disminuye o evita la oxidación del sustrato, resultando un agente reductor más potente y pueden formar parte de enzimas que directa o indirectamente protegen a las células contra los efectos adversos del medio celular

Bajo este contexto se plantea la siguiente interrogante: ¿La adición de Vit C como extensor en el semen porcino fresco permitirá alargar la vida de las células espermáticas?

## 1.2 JUSTIFICACIÓN

Según Gadea (2001) menciona que en el campo de la reproducción porcina se ha desarrollado en los últimos años un gran avance en las técnicas de gestión y control reproductivo que han ido íntimamente unidas a la aplicación de la inseminación artificial. Estas técnicas han permitido la máxima utilización del potencial genético de reproductores de alto valor, siendo una herramienta fundamental en la prevención y lucha contra las enfermedades porcinas (Martínez y Carrasco, 2010).

La industria porcina se ve una manera de optimizar la productividad de los verracos para la IA, sin embargo, la preservación de semen después de la eyaculación, en particular de congelación, causas bioquímicas y cambios funcionales a los espermatozoides, resultando en una reducción de la movilidad y la viabilidad, con daño subsiguiente durante el transporte y la fertilización, debido a la generación de grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno (ROS) (Cabrera y Pantoja 2012).

Según Cuenca y Avellaneda (2017) La dilución y conservación del semen porcino en refrigeración es una práctica que brinda a la industria porcina la posibilidad de aprovechar al máximo la capacidad reproductiva del verraco al momento de la inseminación artificial (IA), Para ello los diluyentes en donde se conserva el material seminal, deben proporcionar los nutrientes necesarios para el mantenimiento metabólico de la célula espermática, , ha sido posible en gran medida al desarrollo y mejoras de los diluyentes usados en el semen (Velástegui y Tinillo 2011)

La conservación a largo plazo del semen es económicamente importante en su costo y muy conveniente para el mantenimiento y la conservación de germoplasma, la preservación de la diversidad genética y la mejora de la eficiencia reproductiva de los animales (Carpio *et al.*, 2008).

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la adición de la vitamina C al diluyente BTS (Beltsville Thawing Solution), sobre la calidad del semen porcino refrigerado.

### **1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Valorar el efecto de la adición de tres niveles de vitamina C (0,02, 0,04 y 0,06 mg/mL) al diluyente BTS frente al diluyente Androstar plus en los indicadores de calidad en el semen porcino refrigerado.

Determinar la influencia de la temperatura, humedad, y pH en los indicadores de calidad del semen estudiados.

Estimar el costo beneficio de la utilización del diluyente comercial BTS (Beltsville Thawing Solution), frente al diluyente comercial Androstar plus.

## **1.4 HIPÓTESIS**

La adición de 0,02 mg/mL de Vit C como antioxidantes en el semen porcino fresco refrigerado permite alargar la vida de las células espermáticas a 7 días de vida.

## **CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO**

### **2.1 EVALUACIÓN DEL SEMEN**

Bonilla y Mejía (2007) manifiestan que el examen del semen debe estar incluido en la evaluación por una posible infertilidad. Las razones para la valoración del semen es la confirmación de espermatogénesis normal antes de comenzar a usarlo como semental.

#### **2.1.1 VIABILIDAD**

Según Valdez *et al.* (2017) explica que para evaluar la viabilidad en los espermatozoides vivos se evalúa mediante la tinción de Eosina-Negrosina) esta evaluación se realiza visualmente con ayuda de un microscopio mediante la técnica de campo claro a 40x de magnificación, contándose por lo menos 100 espermatozoides en diferentes campos del frotis para cada variable.

Según Viudes de Castro *et al.* (2014) citado por López (2017) manifiesta que para determinar el porcentaje de espermatozoides viables se determina utilizando una doble tinción con los fluorocromos SYBR Green y yoduro de propidio (Molecular Probes/labeling & detection by Life Technologies™) En el cálculo del porcentaje de viabilidad se consideran como vivos únicamente aquellos espermatozoides positivos para SYBR Green y negativos para yoduro de propidio (fluorescencia de color verde).

La integridad de la membrana plasmática y acrosomal reflejan la viabilidad espermática, y el proceso de criopreservación podría afectar estas membranas ocasionando daños como hinchamiento y disrupción de las mismas, cambios en la fluidez, alteración del flujo de calcio y cambios en la actividad enzimática que pueden inducir una capacitación espermática anticipada, viéndose afectada la fertilidad (Cabrera y Pantoja, 2012).

#### **2.1.2 AGLUTINAMIENTO**

El grado de aglutinación suele medirse en una escala de 0 a 3. El grado 3 corresponde a más de un 30-40% de espermatozoides aglutinados. En algunas ocasiones, la presencia de aglutinación leve (de 0 a 2), desaparece al realizar la mezcla del eyaculado con el diluyente, merced a la estabilización

química que proporciona este último, observándose posteriormente, una disminución del grado de aglutinación (Córdova *et al.*, 2015).

Causas de aglutinación pueden consignarse: presencia de restos de gel procedente de las glándulas bulbo uretrales (filtrado defectuoso), concentración muy elevada de espermatozoides en el eyaculado, mala calidad espermática (espermatozoides muertos o con baja vitalidad), shock térmico por manipulación inadecuada del semen, contaminación bacteriana del eyaculado (bacterias resistentes a la gentamicina pueden provocar aglutinación en el semen), presencia de gran cantidad de células epiteliales o descamaciones y cambios en el pH del plasma seminal, generalmente asociados a procesos inflamatorios o disfunciones que afectan a las glándulas accesorias del verraco (Córdova *et al.*, 2015).

### **2.1.3 MOVILIDAD**

Según Vásquez (2007). El espermatozoide tiene una estructura flagelar que le permite su desplazamiento en el líquido seminal, en la cavidad vaginal, útero y trompas uterinas. En la evaluación de la capacidad reproductiva o fértil del espermatozoide, la movilidad es un criterio determinante para su normalidad. La muestra se evalúa en función del porcentaje de células en movimiento. Sin embargo, hay varios tipos de movimiento de los espermatozoides (vibratorio, circular, oscilatorio, progresivo lento y rápido), cuyas clasificaciones pueden ser empleadas para las diferentes especies (Restrepo *et al.*, 2013).

Según Del Valle (2017), para la evaluación de la movilidad se coloca una gota de semen sobre un portaobjetos y se enfoca al microscopio óptico la platina atemperado para estimular el movimiento de los espermatozoides. Los valores de motilidad se expresa en por ciento, y depende del tipo de movimiento de las células espermáticas, aceptándose como valor mínimo 70%. Cuando se observa un movimiento rectilíneo sin oleaje toma valores entre 60- 65%, si hay oleaje oscila entre 70-75% y si se presenta en forma de remolino con movimiento muy rápido, la motilidad es del >75%; observable solamente en sementales jóvenes elites.

#### **2.1.4 CALIDAD ESPERMÁTICA**

Desde un punto de vista biológico se define a la calidad espermática como la habilidad que tiene el espermatozoide para fertilizar exitosamente y subsecuentemente desarrollar un embrión normal. Dicha habilidad está regida por parámetros que permiten predecir y determinar el grado de calidad del gameto, las variables que permiten inferir la calidad y bienestar de la célula espermática son: movilidad, integridad de la membrana plasmática, concentración de nucleótidos (metabolismo energético), actividad mitocondrial, Integridad de ADN, morfología y tasa de fertilización (Martínez y Carrasco, 2010).

#### **2.1.5 MOTILIDAD**

Según Vadiana (2006) señala que la valoración de la motilidad espermática del semen puro indica el comportamiento de los espermatozoides en su propio líquido de las glándulas accesorias las concentraciones espermáticas elevadas pueden dificultar la medición de la motilidad en semen puro, limitaciones que se soluciona con la dilución de una cantidad pequeña de semen. Debido a que la motilidad espermática es en extremo susceptible a las condiciones ambientales es necesario proteger el semen de agentes o situaciones perjudiciales antes del análisis.

##### **2.1.5.1 PARÁMETRO DE MOTILIDAD**

Con respecto a la motilidad Vadiana (2006) menciona las siguientes características: Porcentaje de espermatozoides en movimiento (lo normal es de 70 a 90%). Porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva. Velocidad espermática con base en una escala arbitraria de 0 (estacionaria) a 4 (rápida). Longevidad de la motilidad espermática.

#### **2.1.6 MORTALIDAD**

Según Najarro (2004) señala que las prueba se realiza colocando una gota de eosina en un portaobjetos y luego una gota de eyaculado encima se mezclan y se procede a realizar un frotis el cual se observa al microscopio con el objetivo seco fuerte (40X), se cuentan 200 células espermáticas. Los espermatozoides vivos, no se tiñen con la eosina mientras que los

espermatozoides muertos se tiñen debido a la pérdida de sus propiedades de impermeabilidad. Esos resultados obtenidos se expresan en porcentaje, considerándose como un buen eyaculado aquel que presenta por lo menos un 80% de los espermatozoides vivos.

## 2.2 ANTIOXIDANTES

Según Córdova (2015) menciona que los antioxidantes es un producto químico que evita el consumo de oxígeno. Un antioxidante con función biológica, es una sustancia que disminuye o evita la oxidación del sustrato, resultando un agente reductor más potente. Los antioxidantes pueden formar parte de enzimas que directa o indirectamente protegen a las células contra los efectos adversos del medio celular.

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación siendo considerado como un sustrato oxidable casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como: proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN (Córdova *et al.*, 2009).

### 2.2.1 CLASIFICACIÓN DE ANTIOXIDANTES SEGÚN SU ORIGEN

Giaretta, *et al.* (2015) se clasifican antioxidantes de la siguiente:

**Enzimático:** superóxido dismutasa, Glutación reductasa, Glutación peroxidasa, catalasa.

**No Enzimático:** Glutación reducido, Ácido ascórbico, Vitamina E, Carotenos

## 2.3 VITAMINA C

El ácido L-ascórbico (AA), comúnmente llamado vitamina C, es considerado uno de los más potentes agentes antioxidantes del organismo; en humanos se encuentra concentrado en ciertos órganos como: ojo, hígado, bazo, cerebro, glándulas suprarrenales y tiroideas. Es una vitamina hidrosoluble y esencial, sintetizada químicamente a partir de glucosa, mediante una serie de

reacciones catalizadas por enzimas, siendo la L-gulono- $\gamma$ -lactona oxidasa (GLO) la última enzima involucrada en su síntesis (Serra y Cafaro, 2007).

La vitamina C es un compuesto muy utilizado en la tecnología de alimentos como índice de calidad nutricional de productos alimenticios, la vitamina C ayuda a mantener el colágeno, disminuir los daños por estrés, es un antioxidante y participa en la biosíntesis de aminoácidos. Además, indica que esta vitamina es la más sensible que se encuentran en los alimentos y su estabilidad varía en función de las condiciones ambientales tales como el pH, la concentración de trazas de iones metálicos y oxígeno, la temperatura, el tipo de proceso de deshidratación precisando que la mayor retención se da a bajas temperaturas y cortos tiempos (Castañeda *et al.*, 2010).

La vitamina C es un importante micronutriente relacionado con la biosíntesis de los aminoácidos y la adrenalina, el mantenimiento del colágeno, la desintoxicación del hígado y el papel preventivo frente a varios tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares y su disponibilidad es reducida significativamente durante el procesamiento de las frutas y hortalizas, por acción de la temperatura, el oxígeno, la luz, la presión, los iones metálicos, los azúcares reductores y el pH. Estudios cinéticos de la degradación térmica de este compuesto bioactivo en diferentes productos alimentarios revelan que responde a una cinética de primer orden (Ordoñez y Yoshioka, 2012).

#### **2.4 USO DE LA VITAMINA C Y E EN LA CONSERVACIÓN DEL SEMEN DE CERDO**

En la actualidad se ha observado que al adicionar vitamina C y E a la solución de espermatozoides antes de iniciar el proceso de congelación y descongelación se disminuye el grado de peroxidación lipídica de la membrana plasmática y que los espermatozoides han mejorado su supervivencia gracias a la mejor conservación de la motilidad, la viabilidad e integridad acrosomal después del proceso de descongelación. Las vitaminas C disminuye el grado de peroxidación lipídica, ya que en los últimos diez años la función celular antioxidante del tocoferol ha sido ampliamente investigada (Córdova *et al.*, 2015).

## **2.5 HISTORIAS DE LOS DILUYENTES**

Según Gadea (2003) señala que los primeros diluyentes rusos estaban basados en soluciones de glucosa con tartrato de sodio o potasio o sulfato sódico y peptonas, manteniendo en cualquier caso bajos niveles de electrolitos, El desarrollo de los diluyentes para el ganado bovino, basados en yema de huevo con fosfato o citrato y leche, y se hicieron algunas adaptaciones para conservar semen porcino durante las décadas de los 50.

Según Montenegro y Chimarro (2013) mencionan que el diluyente a una solución acuosa permite, incrementar el volumen del eyaculado, y mantiene la funcionalidad de la célula espermática hasta el momento de la inseminación artificial. De esta forma, se consigue rentabilizar al máximo el eyaculado y optimizar el manejo en granja. Pero la dilución del semen, va más allá de una mera medida económica como demuestra el hecho de que un 33% de los fallos reproductivos esté relacionado con el diluyente.

## **2.6 DILUYENTES ESPERMÁTICOS**

Según Alba (2010) señala que los diluyentes de semen porcino, por cuestiones prácticas y comerciales, se clasifican en diluyentes de LARGA, MEDIA y CORTA conservación. Pero está demostrado que en el tiempo de conservación es relativo ya que hay factores que tienen un efecto directo sobre la capacidad de conservación del diluyente: el verraco, la producción, la conservación y el transporte de las dosis seminales. Entre los productores que inseminan en fresco-24 horas, está muy extendido el uso del diluyente, los diluyentes están concebidos para aumentar el volumen del eyaculado y preservar la viabilidad de los espermatozoides. Básicamente proveen una fuente adecuada de nutrientes, un ambiente que proteja a los espermatozoides contra la disminución de temperatura, electrolitos para mantener una adecuada presión osmótica, sustancias buffer que protejan al semen contra cambios extremos de pH, y antibióticos que inhiban el crecimiento bacteriano.

### **2.6.1 COMPONENTES DE LOS DILUYENTES**

Según Córdova *et al.* (2015). Indican que los diluyentes deben aportar los nutrientes necesarios para el mantenimiento metabólico de la célula espermática (glucosa), protegerla frente al shock térmico por frío (albúmina sérica bovina), controlar el pH del medio (bicarbonato, tri (hidroximetil)aminometano TRIS, ácido N-(2hidroxietil)piperazin-N´-(2-etanosulfónico) HEPES), mantener la osmolaridad (NaCl, KCl) e inhibir el desarrollo microbiano (antibióticos) (Córdova *et al.*, 2015).

El espermatozoide genera la energía necesaria para mantener su metabolismo celular y la motilidad del flagelo, principalmente a través de las vías glicolíticas. Estos procesos se desarrollan en las mitocondrias localizadas en la pieza intermedia del espermatozoide. La glucosa es la fuente de energía más frecuentemente utilizada en la composición de los diluyentes, aunque similares resultados se obtienen empleando galactosa, fructosa, ribosa o trehalosa. (Córdova *et al.*, 2015).

Por su parte, el pH del semen recién eyaculado se encuentra próximo a 7,4 y su disminución afecta el metabolismo energético y la motilidad del espermatozoide. El glicólisis desplegado por la célula espermática provoca la disminución del pH intracelular y la concomitante reducción del metabolismo celular, alteraciones que pueden ser controladas por medio de tampones (bicarbonato, citrato, TRIS, HEPES y otros) (Córdova *et al.*, 2015).

### **2.7 BTS (BELTSVILLE THAWING SOLUTION)**

BTS es un extensor creado en Beltsville, en el Laboratorio de Reproducción Animal por Pursel y Johnson para utilizar como solución de descongelación, con baja preservación semen porcino hasta 3 días dependiendo de la calidad del semen y la manipulación en el laboratorio. Esto Significa simplemente mantener vivo el semen sin suplementación, también indica el laboratorio que la adicción de la dosis BTS debe hacerse lentamente, gradualmente a 15°C. No se recomienda para larga distancias transportaciones de las dosis este método garantiza su alta calidad y trazabilidad. Está constituido por: La

glucosa, citrato de sodio, bicarbonato de sodio, cloruro de potasio. (Zoitechlab, 2015).

## **2.8 ANDROSTAR PLUS.**

Diluyente de semen porcino: medio de conservación apto para semen porcino. Permite la conservación del semen de verraco durante 7 días. Composición: Glucosa, Citrato sódico, Bicarbonato sódico, EDTA, estabilizador de membrana, antioxidante, antibióticos. Indicaciones: Inseminación artificial de cerdas, Presentación: Polvo blanco en sobre de aluminio herméticamente cerrado para 1 litro y para 5 litros. Modo de empleo:

Es un producto en polvo que debe diluirse en agua destilada estéril a temperatura aproximada de +30°C y hasta +35°C. Para la preparación del diluyente se agregan 47 g de concentrado en polvo a 1000 ml de agua pura estéril. El agua se precalienta a +30°C hasta +35°C. El concentrado en polvo se disuelve espontáneamente en pocos minutos. Para una dilución más rápida se puede agitar suavemente. Tras un período de adaptación de 15 a 20 minutos, para la estabilización del pH, se puede iniciar la dilución del semen (BIOTAY, 2018).

## **2.9 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL ESPERMA**

El plasma seminal es un medio rico y complejo. Sirve a la vez de vehículo y de medio nutritivo y protector de los espermatozoides. Está compuesto de: Constituyentes minerales: Na +, K +, Cl - , Ca ++, Mg ++, Zn ++ Glúcidos: poca glucosa (0,39 mmol/L) sobre todo fructosa (de 5,5 a 27,5 mmol/L fuente de energía para los espermatozoides) producida a partir de la glucosa sanguínea. Ácidos orgánicos: son numerosos, en particular: Ácido cítrico que contribuye al mantenimiento de la presión osmótica del esperma. Ácido ascórbico protector de los espermatozoides de cara a los radicales libres (Poirot y Cherrua, 2005).

## **CAPÍTULO III. DISEÑO METODOLÓGICO**

### **3.1 UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

El desarrollo de esta investigación se efectuó en la Unidad de Docencia, Investigación y Vinculación Hato Porcino de la carrera de Medicina Veterinaria perteneciente a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí - Manuel Félix López (ESPAM-MFL) ubicada en el sitio el Limón en la ciudad de Calceta, Manabí, Ecuador; en las coordenadas 0°49'15.35" de latitud Sur y a 80°11'01.52" de longitud Oeste, con 15 msnm (Google Earth, 2019).

### **3.2 CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS**

Las características climáticas en el sitio El Limón, de la parroquia Calceta ubicada en el cantón Bolívar de la Provincia de Manabí son:

**Cuadro 3.1.** Características Climáticas

Precipitación media anual	953,4 mm
Temperatura media anual	26 °C
Humedad relativa	80,30%
Heliofanía anual	1118,5 (horas)
Viento	1,6 m/s
Evaporación Anual	1172,6

**FUENTE:** Estación Metereológica de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí "Manuel Félix López" (2018).

### **3.3 DURACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

Este trabajo tuvo una duración de 15 semanas, las cuales, se repartieron de la siguiente manera; Se dedicaron 4 semanas al entrenamiento del cerdo a recolectar, 5 semanas trabajo de campo en recolección de semen y análisis de laboratorio y las 6 semanas restantes fueron empleadas para la tabulación, organización y corrección de material investigativo.

### **3.4 FACTORES EN ESTUDIO**

Vitamina C (mg/mL)

Diluyentes (BTS, Androstar Plus)

### 3.5 TRATAMIENTOS

Para la evaluación del efecto de la adición de la Vit C como antioxidante en el semen fresco porcino, fueron constituidos por dos tipos de diluyentes que fueron Androstar® Plus y BTS, donde el primero fue utilizado como testigo y el segundo se le adicionó ácido ascórbico (Vitamina C), dando como resultado los siguientes tratamientos:

**Cuadro 3.2.** Tratamientos.

Evaluación de la adición de Ácido Ascórbico (Vitamina C)		
Testigo (T1)	Androstar Plus (7 días)	Sin Vitamina C
Tratamiento 2 (T2)	BTS (3 días)	0,02 mg Vit C/ml semen
Tratamiento 3 (T3)	BTS (3 días)	0,04 mg Vit C/ml semen
Tratamiento 4 (T4)	BTS (3 días)	0,06 mg Vit C/ml semen

### 3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño que se utilizó fue un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cuatro tratamientos y siete repeticiones, donde se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$y_{ijk} = \mu + T_i + \varepsilon_{ij}$$

$y_{ij}$ : Valor de parámetro en determinación

$\mu$ : Media general

$T_i$ : Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento.  $i=1, \dots, 4$

$\varepsilon_{ij}$  : Efecto del error experimental

**Cuadro 3.3:** Adeva

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	27
Tratamiento	3
Error experimental	24

### **3.7 UNIDAD EXPERIMENTAL**

La condición a estudiar (diluyentes y vitamina C) se aplicó en el semen extraído de un cerdo de la raza Yorkshire, esta investigación estuvo conformada por 28 unidades experimentales.

### **3.8 VARIABLES A ESTUDIAR**

### **3.9 VARIABLES INDEPENDIENTES**

Vitamina C

Diluyentes (Androstar Plus y BTS)

#### **3.9.1 VARIABLES DEPENDIENTES**

Aglutinación (%)

Viabilidad (%)

Motilidad (%)

Mortalidad (%)

Costo Beneficio (\$)

### **3.10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Las observaciones que se obtuvieron como consecuencia de la aplicación de un diseño completamente al azar DCA fueron analizadas a través de un análisis de varianza, utilizando la técnica de tukey al 5% (considerando el testigo). Estos datos fueron analizados por medio del software estadístico SAS versión 9.4 (2004).

La descripción de las variables dependientes estudiadas se realizó por medio de medidas de tendencia central (medias) y de dispersión (desviación estándar y coeficiente de variación). Los resultados fueron representados con barras, cuadros y figuras, columnas combinadas.

### **3.11 PROCEDIMIENTO**

#### **3.11.1 SELECCIÓN DEL CERDO REPRODUCTOR**

Se seleccionó un cerdo reproductor ubicado en la Unidad de Docencia, Investigación y Vinculación Hato Porcino de la carrera de Medicina Veterinaria, que cumplía con todos los planes de vacunación y desparasitación que se realizan dentro de esta unidad porcina. El reproductor fue un cruce comercial Landrace x Pietrain de 30 meses de edad aproximadamente (Genotipo 1), el cual se encontraba en un corral individual donde recibía 3 kg de alimento balanceado al día, repartidos en dos raciones al día con un contenido proteico de 12% y además agua a voluntad.

#### **3.11.2 ENTRENAMIENTO DEL VERRACO**

Se entrenó un verraco de raza Yorkshire, esto consistió en hacerlo montar un maniquí dos veces por semana en sesiones de 10 a 15 minutos, y se realizaron las respectivas colectas.

#### **3.11.3 COLECTA DE SEMEN**

Se recolectaron un total de 4 eyaculados, las cuales se realizaron una vez por semana al cerdo reproductor durante cuatro semanas, mediante el uso de la técnica de mano enguantada. El semen se colectó en una bolsa de colección con un filtro de papel que se encontraba dentro de un vaso de colecta marca 1l Minitube, se colectó solo la fracción espermática y se desecharon las fracciones pre y post espermáticas. Se llegó siempre al final de la eyaculación, que duró entre 15 a 20 minutos.

#### **3.11.4 DILUCIÓN DE SEMEN**

Se procedió a extraer una gota de semen con una micro pipeta y se la ubicó en una microcubeta en donde el SpermaCue nos arrojaba la concentración espermática.

Se realizó la evaluación de semen inicial previo al proceso de dilución donde se determinó el volumen de eyaculado pesando la muestra obtenida y mediante el microscopio donde se cuantificó la motilidad, Viabilidad, mortalidad y aglutinamiento.

Al preparar la dosis, se estableció cuál es la concentración a la que se decidió trabajar por dosis seminal. Existen muchos criterios respecto a la concentración ideal para trabajar, pero para fines prácticos, se trabaja entre  $2.5$  y  $5 \times 10^9$  espermatozoides por dosis seminal. Para la determinación del número de dosis se utilizó la siguiente fórmula (Aguilar, 2015 citado por Farías e Intriago, 2017):

$$N = \frac{(A)(VE)}{c} \quad [3.1]$$

Donde:

N= Número de dosis

A= Número total de espermatozoides (determinado en la prueba de concentración)

VE= Volumen del eyaculado (determinado en la evaluación del eyaculado)

C= Concentración que se desea en la dosis seminal (Ej.:  $3 \times 10^9$ )

Una vez determinado el número total de dosis, se pudo determinar el volumen total de eyaculado y extensor que debemos utilizar (Veliz 2003) citado por (Aguilar, 2015):

Fórmula para la determinación del volumen total:

$$VT = (N)(CB) \quad [3.2]$$

Donde:

VT= Volumen total

N=Número de dosis (determinado de la fórmula anterior)

CB= Capacidad de la botella de inseminación (Dependiendo del equipo que tengamos, en este caso 90 CC)

Como último paso se obtuvo la cantidad de extensor a mezclar al eyaculado, partir de la fórmula anterior.

Fórmula para la determinación de la cantidad de extensor a utilizar (Aguilar, 2015 citado por Farías e Intriago, 2017):

$$E = VT - VE \quad [3.3]$$

Donde:

E= Cantidad de extensor a utilizar

VT=Volumen total (determinado del resultado de la fórmula anterior)

VE= Volumen del eyaculado (determinado de la evaluación del eyaculado)

### **3.11.5 ADICIÓN DE VITAMINA C (ÁCIDO ASCÓRBICO)**

La colecta fue dividida por igual para todos los tratamientos y se prepararon 21 muestras con 30 mL, repartidas en 3 tratamientos con diluyente BTS para la adición de Ácido Ascórbico en concentraciones de 0,02 mg/ml; 0,04 mg/ml; 0,06 mg/ml de Vitamina C y 1 tratamiento de testigo con diluyente Androstar® Plus (sin aplicación de Vitamina C). Cabe recalcar que cada tratamiento tuvo 7 repeticiones.

### **3.11.6 EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS A MEDIR DEL SEMEN PORCINO**

Las características físicas medidas en las células espermáticas, se observaron mediante un microscopio de laboratorio, donde se depositó con una micropipeta una gota de muestra seminal sobre un portaobjetos temperado a 37°C, aplicando otra gota de aceite de inmersión y se colocó un cubreobjetos, donde fueron observados con todos los lentes y se obtuvo una mayor apreciación en el lente de 40X.

### 3.11.6.1 AGLUTINACIÓN DE ESPERMATOZOIDES

Se tomó en cuenta la motilidad para sacar la agrupación y mortalidad de los espermatozoides, la aglutinación son espermatozoides móviles pero adheridos entre sí a más frecuente fue la unión de cabeza o cuello, cola-cabeza, esta fue una característica medidas subjetivamente.

### 3.11.6.2 MORTALIDAD DE ESPERMATOZOIDES

Luego de sacar el porcentaje de motilidad y aglutinación se determina mortalidad, es decir, espermatozoides inmóviles dentro de la muestra. Donde se aplicó dilución de Eosina –Nigrosina posterior a esto se realizó un frotis, una vez seco se llevaba al microscopio; las células que se teñían de color negro, eran los espermatozoides muertos y con anomalías de cola y cabeza. Para obtener el porcentaje se contaban 100 células dispersas en la placa y se utilizaba la siguiente fórmula:

$$Mortalidad = \frac{Espermatozoides\ Vivos * 100}{Celulas\ espermaticas} \quad [3.4]$$

### 3.11.6.3 MOTILIDAD Y VIABILIDAD DE ESPERMATOZOIDES

Con una micropipeta se tomó una gota de la muestra seminal, se depositó en el portaobjetos y se colocó el cubreobjetos y se llevó a observación al microscopio. Para la característica de motilidad se observaron los movimientos ondulatorios en la masa de la muestra, mientras que para la viabilidad se observaron los movimientos rectilíneos; esto fue expresado en porcentajes. Cabe recalcar que esta característica fue medida por método subjetivo.

## **CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1 EVALUACIÓN MICROSCÓPICA DEL SEMEN PORCINO**

#### **4.1.1 EVALUACIÓN DE AGLUTINACIÓN ESPERMÁTICA**

De acuerdo a los resultados encontrados en esta tesis, se permite aceptar la hipótesis planteada debido a que las dosis de 0,02 mg/mL de Vit C en el diluyente BTS permitieron una aceptable viabilidad espermática en el semen fresco porcino. En el cuadro 4.1. Se puede observar que la media de aglutinación espermática del T1 demostró diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre el Día 7 y el Día 4. El T2 fue mayor entre los días cinco, seis y siete; e independientemente cada uno de ellos se diferencian de los restantes días y el T3 presentó diferencias significativas entre el día seis y siete, de la misma forma se evidencia diferencias de los mismos con respecto a los primeros cinco días evaluados.

El T4 muestra diferencias significativas entre los días cuatro y cinco, y a su vez cada uno de estos se diferenció significativamente de los otros días, es necesario de destacar que en los días seis y siete se observó muerte mayoritaria de espermatozoides por lo que fue imposible cuantificar el indicador de aglutinación espermática.

Estos resultados permiten inferir que la aglutinación presentada hasta el día siete es un indicativo de la sobrevivencia espermática, lo que se constituye en un hecho importante lo obtenido por los T2 y 3, conformados por dosis de vitamina C de 0,02 y 0,04 mg/ml, que corrobora que el uso de antioxidantes es una alternativa válida en la conservación de semen porcino diluido (Córdova *et al.*, 2015).

Es relevante mencionar que en general a medida que se incrementan los días de conservación de semen los promedios de aglutinación aumentan en los tratamientos bajo estudio, lo que concuerda con lo declarado por Harayama *et al.* (2003) (Anexo nº9-10)

**Cuadro 4.1:** Promedios y errores estándar de la aglutinación en los tratamientos por tiempo de conservación del semen

Días	Tratamientos				EE $\bar{x}$	Valor P
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>		
1	4,25 <sup>aD</sup>	4,25 <sup>aD</sup>	5,00 <sup>aC</sup>	4,50 <sup>aC</sup>	± 0,37	0,889215
2	4,75 <sup>aCD</sup>	5,00 <sup>aCD</sup>	5,25 <sup>aC</sup>	5,25 <sup>aC</sup>	± 0,22	0,344114
3	5,75 <sup>bCD</sup>	5,25 <sup>bCD</sup>	5,00 <sup>bC</sup>	7,00 <sup>aBC</sup>	± 0,27	0,000979
4	6,00 <sup>bC</sup>	5,50 <sup>bCD</sup>	6,75 <sup>bBC</sup>	9,25 <sup>aB</sup>	± 0,37	0,000052
5	7,75 <sup>bB</sup>	6,00 <sup>bC</sup>	7,00 <sup>bBC</sup>	18,75 <sup>aA</sup>	± 0,67	0,000000
6	8,75 <sup>bAB</sup>	8,25 <sup>bB</sup>	8,50 <sup>bB</sup>	0,00 <sup>bD</sup>	± 0,74	0,000005
7	10,00 <sup>aA</sup>	10,00 <sup>aA</sup>	11,75 <sup>aA</sup>	0,00 <sup>bD</sup>	± 0,59	0,000001
EE $\bar{x}$	± 0,34	± 0,33	± 0,68	± 0,55		
P	0,000001	0,000001	0,000004	0,000001		

EE: Error estándar; p: Valor de P.

<sup>a, b</sup>: Letras diferentes en la misma fila difieren para  $P < 0,05$  en el Test de Tukey DSH.

<sup>A, B, C, D</sup>: En la misma columna difieren para  $P < 0,05$  en el test de Tukey DSH.

T<sub>1</sub>= Androstar Plus (7 días) Sin Vit C; T<sub>2</sub>= Vit C con 0,02 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T<sub>3</sub>= Vit C con 0,04 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T<sub>4</sub>= Vit C con 0,06 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS.

En lo relacionado a la media de aglutinación espermática entre tratamientos se visualiza que no hay diferencias entre los tratamientos durante los dos primeros días; el T<sub>4</sub> se diferenció significativamente en los días tres, cuatro y cinco de los T<sub>1</sub>, 2 y 3 que mostraron ser superiores al lograr menores valores de porcentaje de aglutinación espermática ;el tratamiento cuatro revela diferencias significativas con respecto a los otros tratamientos en los días seis y siete en que reportó elevada mortalidad de espermatozoides por lo que fue imposible evaluar el indicador de aglutinación, que evidencia la ineficacia de conservación espermática de este tratamiento en los días seis y siete de la evaluación.

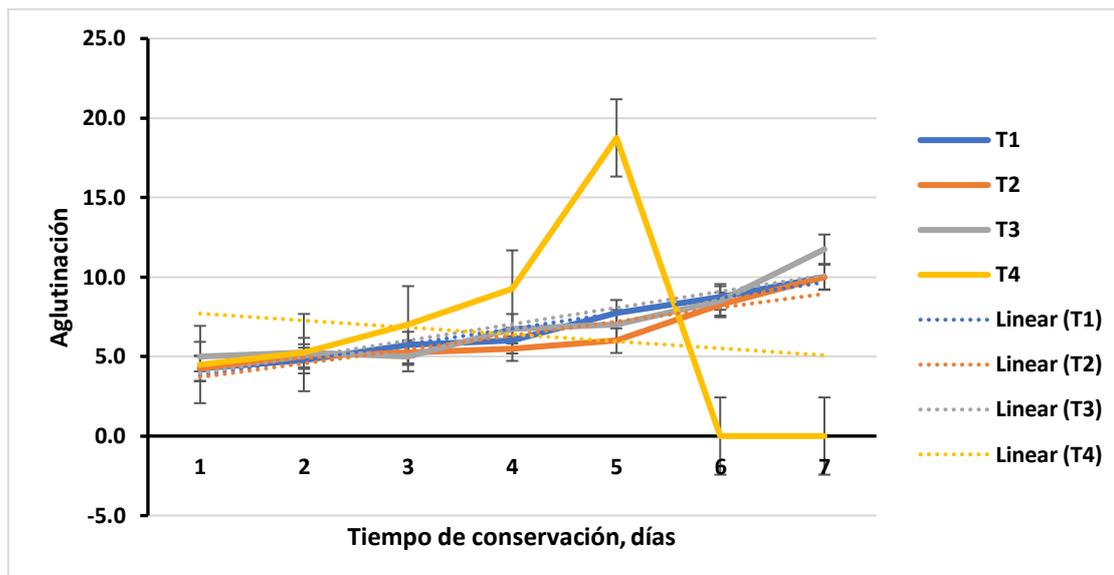
También en este cuadro se visualiza que en lo que respecta al porcentaje de aglutinación en cada tratamiento durante los siete días de evaluación, no hubo diferencias significativas del T<sub>1</sub> entre los tres primeros días; el día cuatro, con excepción de los días dos tres mostró diferencias significativas con los demás

días evaluados; el día cinco reveló diferencias significativas con los restantes días pero no con el día seis entre los que se evidencia homogeneidad, por otra parte también se visualiza homogeneidad entre los días seis y siete, pero este último mostró diferencias significativas con respecto a los restantes días objeto de evaluación al obtener el mayor porcentaje de aglutinación con un valor del 10 %.

El T2, presenta homogeneidad entre los días uno al cuatro, el día cinco presenta diferencias significativas con respecto a los días uno seis y siete, el día seis reportó diferencias significativas con los demás días e igualmente el día siete presentó diferencias significativas con todos días evaluados, que un porcentaje de aglutinación del 10% alcanzó el mayor valor de este indicador.

El T3, muestra que no existió diferencias significativas desde el día uno al día cinco; el día seis reportó homogeneidad con relación a los días cuatro y cinco, pero evidenció diferencias significativas con los días uno, dos, tres y siete, por último, el día siete reveló diferencias significativas con los demás días evaluados y obtuvo 11,75% que corresponde al mayor valor de aglutinación.

El T4 no presenta diferencias significativas en los tres primeros días de la evaluación, el día cuatro con excepción del día tres reveló diferencias significativas con los demás días, por su parte el día cinco mostró diferencias significativas con los restantes días, mientras que entre el día seis y siete no hubo diferencias significativas pero difieren significativamente con respecto a los otros días de la evaluación y lograron 90% y 100% aglutinación respectivamente que representan los mayores valores de este indicador.



**Gráfico 4.1.** Relación entre la aglutinación y el tiempo de conservación del semen.

T1= Androstar Plus (7 días) Sin Vit C; T2= Vit C con 0,02 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T3= Vit C con 0,04 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T4= Vit C con 0,06 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS.

#### 4.1.2 EVALUACIÓN VIABILIDAD

Como se puede observar en el cuadro 4.2. y gráfico 4.2. La viabilidad espermática no muestra diferencias entre tratamientos en el primer día del experimento; desde el día dos al día 5 se evidenció que el T4 obtuvo el menor porcentaje de viabilidad con diferencias significativas respecto al T1, T2 y T3, mientras que en los días seis y siete el menor porcentaje de viabilidad lo alcanzó el T4 que se diferenció significativamente del T3, y éstos a su vez independientemente presentaron diferencias significativas con T1 Y T2.

En lo concerniente a la evaluación por día de cada tratamiento, EL T1 desde el día 1 al día 4 alcanzaron valores superiores y mostraron diferencias significativas con los valores de los días cinco al siete; también los días cuatro, cinco y seis reportó diferencias significativas con respecto al día 7 que a su vez se diferenció significativamente de los valores de porcentaje de viabilidad espermática de los otros días evaluados.

El T2 y el T3 mostraron igual tendencia en los resultados en los que se observa los mayores valores desde el día uno al cinco con presencia de

diferencias estadísticas respecto a los días seis y siete; además se reportó diferencias estadísticas significativas del día seis a excepción del día cinco con los otros días evaluados, finalmente el día 7 logró el menor valor y se diferenció significativamente de los restantes días.

El T4, desde el día 1 al día cuatro presentaron los mayores valores de porcentaje de viabilidad espermática y se diferenciaron significativamente de los días cinco, seis y siete y a su vez éstos últimos mostraron diferencias estadísticas entre ellos, en que se destaca los días seis y siete que reportan los menores valores de porcentaje de viabilidad espermática.

Con base a lo publicado por (Córdova *et al.*, 2015). Relevante observar el comportamiento que se obtuvo con el tratamiento dos, durante los siete días de conservación muestra promedios por encima del 80 % de viabilidad, lo que se puede considerar como un buen eyaculado.

Además, no es de desestimar los resultados del T3 que al sexto día logró un porcentaje de viabilidad espermática superior al 80% al considerar que el conservante de semen comercial BTS garantiza la viabilidad espermática por tres días.

Según Córdova *et al.* (2017). Encontró diferencia significativa cuando aplicaron diferente de dosis de vit C 1, 2 y 4 mg / ml Obtenido mejores resultados fueron: con la vitamina C en una concentración de 4 mg / ml en pajas de 0,25 ml, 0%, 41% ,40% y 63% de la motilidad, viabilidad espermática.

Cabrita *et al.* (2011) mencionan la propiedad antioxidante que presentan los extensores en la crio conservación del semen porcino, argumento que se relaciona a la viabilidad de las células espermáticas. (Anexo nº 11-12)

**Cuadro 4.2:** Promedios y errores estándar de la viabilidad en los tratamientos por tiempo de conservación Del semen

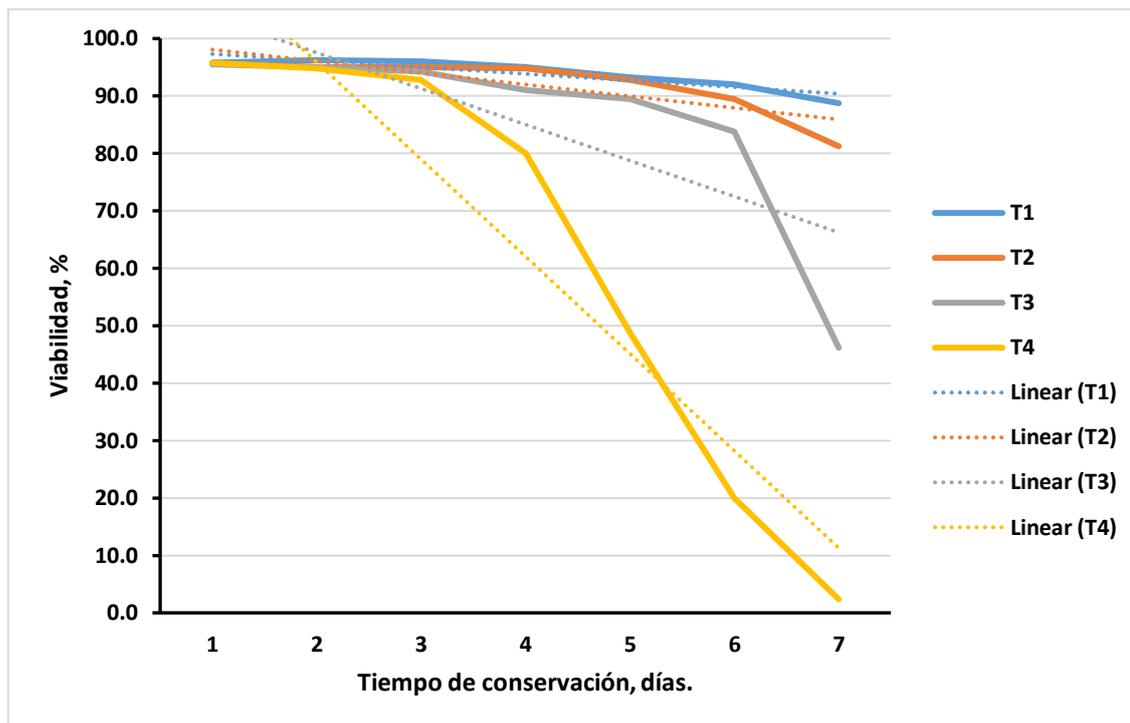
Días	Tratamientos				EE $\bar{x}$	Valor P
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>		
1	9,78 <sup>aA</sup>	9,78 <sup>aA</sup>	9,77 <sup>aA</sup>	9,78 <sup>aA</sup>	± 0,04	0,991937
	(95,65)	(95,65)	(95,45)	(95,65)		
2	9,81 <sup>bAB</sup>	9,75 <sup>bA</sup>	9,75 <sup>bA</sup>	9,73 <sup>aA</sup>	± 0,01	0,008296
	(96,24)	(95,06)	(95,06)	(94,67)		
3	9,80 <sup>aAB</sup>	9,75 <sup>aA</sup>	9,71 <sup>aA</sup>	9,63 <sup>bA</sup>	± 0,02	0,001718
	(96,04)	(95,06)	(94,28)	(92,74)		
4	9,75 <sup>aABC</sup>	9,73 <sup>aA</sup>	9,54 <sup>aA</sup>	8,94 <sup>bA</sup>	± 0,06	0,000003
	(95,06)	(94,67)	(91,01)	(79,92)		
5	9,66 <sup>aBC</sup>	9,63 <sup>aAB</sup>	9,46 <sup>aAB</sup>	6,98 <sup>bC</sup>	± 0,08	0,000000
	(93,32)	(92,74)	(89,49)	(48,72)		
6	9,59 <sup>aC</sup>	9,46 <sup>aB</sup>	9,15 <sup>bB</sup>	4,47 <sup>cD</sup>	± 0,06	0,000000
	(91,97)	(89,49)	(83,72)	(19,98)		
7	9,42 <sup>aD</sup>	9,01 <sup>aC</sup>	6,79 <sup>bC</sup>	1,54 <sup>cE</sup>	± 0,29	0,000000
	(88,74)	(81,18)	(46,10)	(2,37)		
EE $\bar{x}$	± 0,04	± 0,05	± 0,03	± 0,21		
P	0,000004	0,000000	0,000000	0,000000		

EE: Error estándar; p: Valor de p.

a, b: Letras diferentes en la misma fila difieren para P < 0,05 en el Test de Tukey DSH.

A, B, C, D: En la misma columna difieren para P < 0,05 en el test de Tukey DSH.

T1= Androstar Plus (7 días) Sin Vit C, T2= Vit C con 0,02 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS, T3= Vit C con 0,04 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS, T4= Vit C con 0,06 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS.



**Gráfico 4.2:** Relación entre la Viabilidad y el tiempo de conservación del semen.

T1= Androstar Plus (7 días) Sin Vit C; T2= Vit C con 0,02 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T3= Vit C con 0,04 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T4= Vit C con 0,06 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS.

#### 4.1.3 EVALUACIÓN MOTILIDAD

La motilidad evaluada entre tratamientos se observa en el Cuadro 4.3. y Gráfico 4.3., en el que no se halló significancia entre las medias de los tratamientos en estudio en el día uno; en cambio desde el día dos al día cinco reveló diferencias significativas entre el T4 que mostró el menor valor con respecto a los otros tratamientos.

En los días seis y siete se destacan los mayores valores de porcentaje de motilidad del T1 y T2 que presentaron diferencias significativas con respecto a T3 y T4, además se evidencia que entre éstos también existieron diferencias significativas, en que el T4 alcanzó los menores valores.

Diferencias estadísticas a nivel de los tratamientos a partir del día uno, siendo el tratamiento dos (0,02 mg/ml vitamina C) el que alcanzo el mayor valor promedio durante los días de conservación, en comparación con el resto de las variantes que aplicaron niveles de vitamina C. Estos resultados

corroboran el uso del ácido ascórbico como antioxidante en el proceso de crío conservación de semen porcino tal como lo han indicado Córdova *et al.* (2017). (Anexo nº13-14)

**Cuadro 4.3:** Promedios y errores estándar de la motilidad (†) en los tratamientos por tiempo de conservación del semen

Días	Tratamientos				EE $\bar{x}$	Valor P
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>		
1	9,78 <sup>aA</sup>	9,78 <sup>aA</sup>	9,77 <sup>aA</sup>	9,78 <sup>aA</sup>	± 0,04	0,991937
	(95,65)	(95,65)	(95,45)	(95,65)		
2	9,81 <sup>baB</sup>	9,75 <sup>ba</sup>	9,75 <sup>ba</sup>	9,73 <sup>aA</sup>	± 0,01	0,008296
	(96,24)	(95,06)	(95,06)	(94,67)		
3	9,80 <sup>aAB</sup>	9,75 <sup>aA</sup>	9,71 <sup>aA</sup>	9,63 <sup>ba</sup>	± 0,02	0,001718
	(96,04)	(95,06)	(94,28)	(92,74)		
4	9,75 <sup>aABC</sup>	9,73 <sup>aA</sup>	9,54 <sup>aA</sup>	8,94 <sup>ba</sup>	± 0,06	0,000003
	(95,06)	(94,67)	(91,01)	(79,92)		
5	9,66 <sup>aBC</sup>	9,63 <sup>aAB</sup>	9,46 <sup>aAB</sup>	6,98 <sup>bc</sup>	± 0,08	0,000000
	(93,32)	(92,74)	(89,49)	(48,72)		
6	9,59 <sup>aC</sup>	9,46 <sup>aB</sup>	9,15 <sup>baB</sup>	4,47 <sup>cd</sup>	± 0,06	0,000000
	(91,97)	(89,49)	(83,72)	(19,98)		
7	9,42 <sup>aD</sup>	9,01 <sup>aC</sup>	6,79 <sup>bc</sup>	1,54 <sup>cd</sup>	± 0,29	0,000000
	(88,74)	(81,18)	(46,10)	(2,37)		
<b>EE <math>\bar{x}</math></b>	± 0,04	± 0,05	± 0,03	± 0,21		
<b>P</b>	0,000004	0,000000	0,000000	0,000000		

†: Transformación  $\cos x$

EE: Error estándar; p: Valor de p.

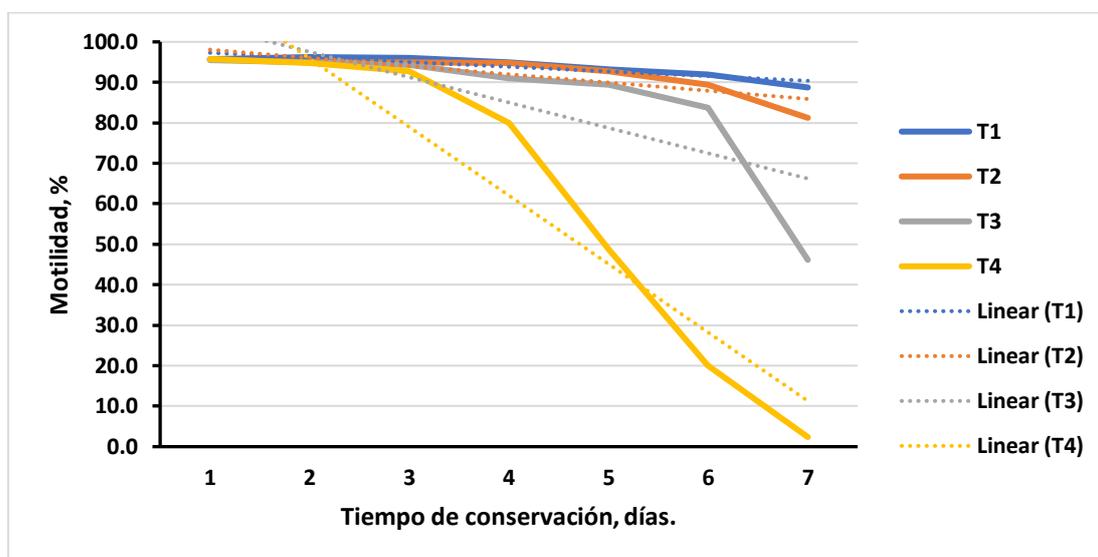
a, b: Letras diferentes en la misma fila difieren para  $P < 0,05$  en el Test de Tukey DSH.

A, B, C, D: En la misma columna difieren para  $P < 0,05$  en el test de Tukey DSH.

T1= Androstar Plus (7 días) Sin Vit C; T2= Vit C con 0,02 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T3= Vit C con 0,04 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T4= Vit C con 0,06 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS.

Según Giaretta *et al.* (2015), manifiesta que los efectos benéficos al adicionar ácido ascórbico (AA) en diluyentes para congelación de semen porcino reduce el estrés oxidativo y así, mejorar las características seminales espermáticas.

La respuesta obtenida en el tratamiento 2, permite inferir que a medida que se incrementa los niveles de vitamina C en el semen porcino, produce una disminución en la motilidad, producto de la acción que tiene el ácido ascórbico en la membrana celular, causando fragmentación en esta.



**Gráfico 4.3:** Relación entre la Motilidad y el tiempo de conservación del semen

T1= Androstar Plus (7 días) Sin Vit C; T2= Vit C con 0,02 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T3= Vit C con 0,04 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T4= Vit C con 0,06 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS.

En los concerniente al análisis de las medias entre los días por tratamiento, se visualiza que el T1 revela que del día 1 al día 4 se alcanzaron los mayores valores de porcentaje de motilidad y reportaron diferencias significativas con los días, seis y siete respectivamente; también se halló diferencias significativas de los días cinco y seis con respecto al día siete.

El T2 y T3 presentan similares respuestas en los días evaluados, se observa que se logró los mayores porcentajes de motilidad en los días uno al cuatro y se evidenció diferencias significativas con relación a los días seis y siete, por otro lado, el día seis reportó diferencia significativa con respecto al día siete

en el que se observó el menor valor de porcentaje de motilidad espermática en estos tratamientos.

El T4 logró los mayores porcentajes de motilidad desde el día uno al día cuatro y se halló diferencias significativas con los restantes días evaluados, también existió diferencias estadísticas entre los días cinco, seis y siete en que el menor valor de motilidad espermática se reportó en el día siete.

Hernández (2009), citado por Valencia y Guerra (2007), manifiesta que el descenso gradual de la motilidad espermática con relación al tiempo de conservación, se debe posiblemente al efecto de per oxidación que ocurre en los espermatozoides.

#### **4.1.4 EVALUACIÓN MORTALIDAD**

En el cuadro 4.4. y gráfico 4.4. Se observa que al comparar las medias del porcentaje de mortalidad entre tratamientos, en el primer día no se halló diferencias, mientras tanto en el día dos el T4 presentó el mayor porcentaje de mortalidad y mostró diferencias significativas con respecto al T1 y T2, también existió diferencias significativas a favor del T3 al compararlo con el T4.

Desde el día tres al día siete se observó la misma tendencia en las respuestas de los tratamientos en estudio en el que se evidencia que el T1 y T2 lograron los menores porcentajes de mortalidad y se diferenciaron significativamente del T3 y T4, además entre éstos últimos se halló diferencias significativas en que el mayor porcentaje de mortalidad lo obtuvo el T4.

En el cuadro 4.4 y grafico 4.4 se presentan las comparaciones de las medias entre tratamientos durante los siete días de experimentación de conservación espermática de cerdos. (Anexo n<sup>o</sup>15-16)

**Cuadro 4.4:** Promedios y errores estándar de la mortalidad en los tratamientos por tiempo de conservación del semen

Días	Tratamientos				EE $\bar{x}$	P
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>		
1	0,25 <sup>aD</sup>	1,00 <sup>aE</sup>	1,47 <sup>abD</sup>	1,57 <sup>aD</sup>	± 0,13	0,000062
	(0,25)	(1,00)	(2,00)	(2,50)		
2	1,10 <sup>bC</sup>	1,10 <sup>bDE</sup>	1,41 <sup>abD</sup>	1,72 <sup>aD</sup>	± 0,09	0,001551
	(1,25)	(1,25)	(2,00)	(3,00)		
3	1,21 <sup>cC</sup>	1,49 <sup>bcCD</sup>	1,65 <sup>abD</sup>	2,05 <sup>aD</sup>	± 0,10	0,000635
	(1,50)	(2,25)	(2,75)	(4,25)		
4	1,39 <sup>cBC</sup>	1,49 <sup>cCD</sup>	2,49 <sup>bC</sup>	4,99 <sup>aC</sup>	± 0,15	0,000000
	(2,00)	(2,25)	(6,25)	(25,00)		
5	1,73 <sup>cBC</sup>	1,86 <sup>cC</sup>	3,15 <sup>bb</sup>	6,88 <sup>aB</sup>	± 0,13	0,000000
	(3,00)	(3,45)	(10,00)	(45,00)		
6	1,87 <sup>cB</sup>	2,28 <sup>cB</sup>	3,52 <sup>bb</sup>	7,41 <sup>aB</sup>	± 0,14	0,000000
	(3,50)	(5,25)	(12,50)	(55,00)		
7	3,15 <sup>cA</sup>	3,08 <sup>cA</sup>	7,33 <sup>ba</sup>	9,49 <sup>aA</sup>	± 0,12	0,000000
	(10,00)	(9,50)	(53,75)	(90,00)		
EE $\bar{x}$	± 0,14	± 0,09	± 0,13	± 0,14		
P	0,000000	0,000000	0,000000	0,000000		

EE: Error estándar; p: Valor de p; () Valores transformados

<sup>a, b</sup>: Letras diferentes en la misma fila difieren para  $P < 0,05$  en el Test de Tukey DSH.

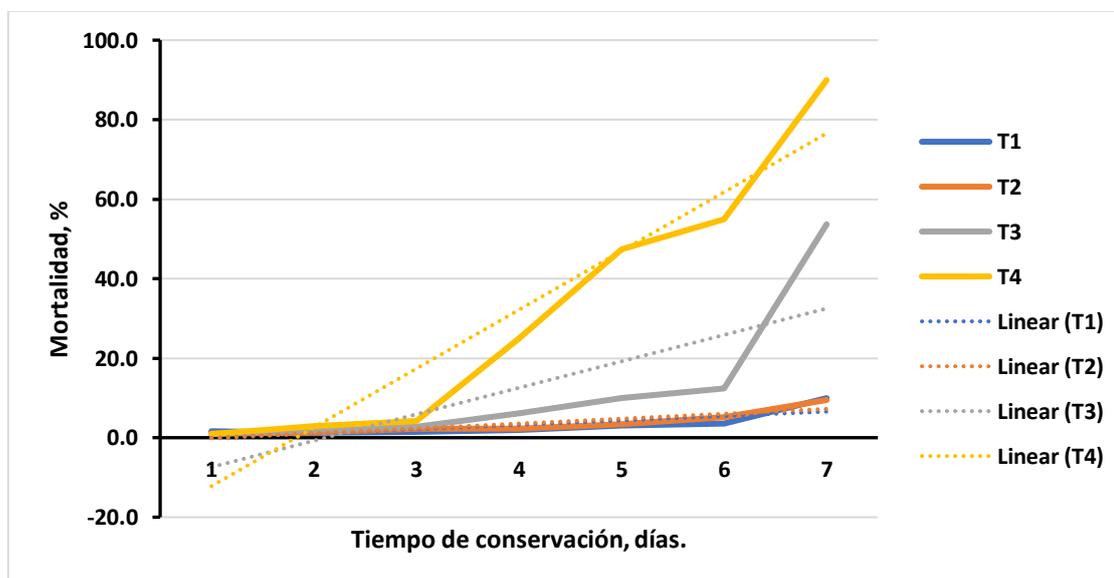
<sup>A, B, C, D</sup>: En la misma columna difieren para  $P < 0,05$  en el test de Tukey DSH.

T1= Androstar Plus (7 días) Sin Vit C; T2= Vit C con 0,02 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T3= Vit C con 0,04 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T4= Vit C con 0,06 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS.

En lo referente al análisis de las medias entre los diferentes días por tratamiento, en el primer día, el T1, logró el menor porcentaje de mortalidad y presentó diferencias significativas con respecto a los demás días evaluados; también se observa que desde el día dos al día cinco se revela diferencias significativas con relación al día siete, igualmente existió diferencias significativas entre el día seis y el día siete, en este último día se reporta el mayor porcentaje de mortalidad espermática en este tratamiento.

En el T2, el día uno mostró con excepción del día dos diferencias estadísticas con los restantes días, mientras que entre los días del dos al cuatro existió homogeneidad entre las medias evaluadas, en relación al día cinco, éste se diferenció significativamente de los días uno, dos, seis y siete, además el día seis y siete reportan entre ellos diferencias significativas, y éste último obtuvo el mayor porcentaje de mortalidad de espermática.

Por otra parte, se observa homogeneidad entre las medias de los días uno, dos y tres, tanto en el T3 y T4, de igual forma en ambos tratamientos el día cuatro reveló diferencias significativas con los demás días evaluados, en cambio no existió diferencia significativas entre los días cinco y seis tanto en el T3 y T4 pero en relación con los demás días evaluados si reportaron significancia; finalmente el día siete en éstos dos tratamientos mostró diferencias significativas con respecto a los restantes días, por lo que se evidencia que este último día logró el mayor valor del porcentaje de mortalidad espermática.



**Gráfico 4.4:** Relación entre la Mortalidad y el tiempo de conservación del semen.

T1= Androstar Plus (7 días) Sin Vit C; T2= Vit C con 0,02 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T3= Vit C con 0,04 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T4= Vit C con 0,06 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS.

## 4.2 EFECTO DE LA TEMPERATURA, HUMEDAD Y pH EN LA CONSERVACIÓN DEL SEMEN PORCINO

### 4.2.1 EVALUACIÓN TEMPERATURA

En los cuadros 5 se presentan los promedios y errores estándar de la temperatura en cada uno de los tratamientos evaluados durante los días de conservación del semen, se observa los que los promedios fueron similares entre ellos, inclusive con el tratamiento (Control: T1) y el Anova reportó inexistencia de diferencias estadísticas de los factores en estudio, adición de vitamina C y días de conservación, los valores oscilaron en un rango entre 17,38 y 17,55 c.

Estos resultados son similares a los reportados por Ros y Pintus (2017) quienes mantuvieron temperaturas promedio de 17 grados centígrados, cuando utilizaron el extracto de rooibos (*Aspalathus linearis*) para la conservación del semen porcino durante cuatro días (96 horas). Otro aspecto relevante es que los tratamientos con adición de vitamina C fueron:

En lo reportado por Bhakat *et al.* (2011) En donde menciona que los estudio sobre Adecuado Semen Aditivos Incorporación en el extensor se almacena a temperatura refrigerada.

**Cuadro 4.5:** Promedios y errores estándar de la temperatura °C en los tratamientos por tiempo de conservación del semen

Días	Tratamientos				EE $\bar{x}$	P Valor=
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>		
1	17,40a	17,55	17,43	17,43	± 0,05	0,260370
2	17,45	17,43	17,40	17,43	± 0,05	0,935418
3	17,53	17,40	17,43	17,48	± 0,06	0,466104
4	17,45	17,38	17,38	17,55	± 0,05	0,080699
5	17,50	17,48	17,38	17,40	± 0,05	0,332151
6	17,40	17,48	17,45	17,45	± 0,05	0,727344
7	17,50	17,38	17,40	17,48	± 0,04	0,202685
EE $\bar{x}$	± 0,03	± 0,04	± 0,04	± 0,04		
P	0,326748	0,259398	0,961292	0,465429		

T1= Androstar Plus (7 días) Sin Vit C; T2= Vit C con 0,02 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T3= Vit C con 0,04 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T4= Vit C con 0,06 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS.

#### 4.2.2 EVALUACIÓN HUMEDAD

En el cuadro 6 se presentan los promedios y errores estándar de la humedad en cada uno de los tratamientos evaluados durante los días de conservación del semen, se observa que no existen diferencias estadísticas en los factores de estudio, adición de vitamina C y días de conservación, siendo promedios muy similares entre ellos, inclusive con el tratamiento (Control: T1); los valores oscilaron en un rango entre 49,50 y 51,75.

Según Córdova *et al.* (2015) Obtención, evaluación y manipulación del semen de verraco en una unidad de producción mexicana.

**Cuadro 4.6:** Promedios y errores estándar de la Humedad en los tratamientos por tiempo de conservación del semen

Días	Tratamientos				EE $\bar{x}$	P Valor=
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>		
1	49,50	50,75	50,50	51,00	± 0,47	0,178573
2	51,75	50,75	51,00	50,00	± 0,53	0,191575
3	49,75	50,50	50,00	50,75	± 0,55	0,575607
4	49,75	50,50	49,75	51,25	± 0,53	0,087174
5	49,75	50,75	51,50	50,25	± 0,56	0,209305
6	50,25	50,25	50,50	51,25	± 0,70	0,713761
7	50,75	51,25	49,75	50,25	± 0,52	0,255272
EE $\bar{x}$	± 0,30	± 0,48	± 0,35	± 0,51		
P	0,085072	0,956239	0,059120	0,735095		

EE: Error estándar; p: Valor de p.

T1= Androstar Plus (7 días) Sin Vit C; T2= Vit C con 0,02 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T3= Vit C con 0,04 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T4= Vit C con 0,06 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS.

#### 4.2.3 EVALUACIÓN PH

En la Tabla 3 se presentan los promedios y errores estándar del PH en cada uno de los tratamientos evaluados durante los días de conservación del semen, se observa que no existen diferencias estadísticas en los factores de estudio, adición

de vitamina C y días de conservación, se evidencia que son promedios muy similares entre ellos, inclusive con el tratamiento (Control: T1); los valores oscilaron en un rango entre 6,83 y 7,08.

Estos niveles de pH son similares con los valores normales reportados según Rigau *et al.* (1996) citado por Gadea (2003). Quienes mantuvieron PH promedio Alcalino 7,4+0.2. Cuando utilizaron los diluyentes de la inseminación artificial porcina.

**Cuadro 4.7:** Promedios y errores estándar del PH en los tratamientos por tiempo de conservación del semen

Días	Tratamientos				EE $\bar{x}$	P Valor=
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>		
1	6,93	6,98	6,98	6,93	± 0,13	0,985796
2	6,95	6,83	7,00	6,88	± 0,14	0,824441
3	7,00	6,95	6,95	7,03	± 0,16	0,981346
4	6,88	7,00	7,00	6,93	± 0,11	0,829929
5	7,00	6,83	7,03	7,00	± 0,14	0,735729
6	6,95	6,90	7,08	7,00	± 0,11	0,723461
7	6,95	7,00	6,83	6,88	± 0,14	0,810503
<b>EE <math>\bar{x}</math></b>	± 0,10	± 0,11	± 0,09	± 0,10		
<b>P</b>	0,995503	0,940217	0,851162	0,970652		

EE: Error estándar; p: Valor de p.

T1= Androstar Plus (7 días) Sin Vit C; T2= Vit C con 0,02 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T3= Vit C con 0,04 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS; T4= Vit C con 0,06 mg/mL de semen porcino fresco en diluyente BTS.

#### 4.2.4 COSTO BENEFICIO

De acuerdo al análisis económico en el cuadro 4.8. al preparar una dosis seminal de duración de 7 días se pudo constatar la diferencia de precio, con BTS + Vitamina C \$1,15 y Androstar Plus un costo de \$2,15 en el cual se ahorra \$1,00 por dosis.

Esta investigación concuerda con Córdova *et al.* (2016) donde deduce que el uso de Vitamina C y otros antioxidantes mantenido en refrigeración a 15 a 18°C durante 7 días, se observó que la calidad espermática (motilidad,

viabilidad y NAR), presentó resultados prometedores; el uso de antioxidantes en la conservación seminal de verracos, podría ser una alternativa para la conservación del semen de porcino diluido.

**Cuadro 4.8:** Costo beneficio entre los diluyentes

<b>CANTIDAD</b>	<b>MATERIALES</b>	<b>BTS</b>	<b>ANDROSTAR PLUS</b>
1	Diluyente	\$3,50	\$14,00
4	Guantes	\$1,00	\$1,00
2	Fundas	\$1,00	\$1,00
1	Microcubeta	\$1,75	\$1,75
2	Papel filtro	\$0,50	\$0,50
1	Agua Biodestilada	\$2,00	\$2,00
1	Botella dosificadora	\$1,25	\$1,25
1	Vitamina C	\$0,50	\$0,00
<b>TOTAL</b>		<b>\$11,50</b>	<b>\$21,50</b>
<i>/</i>			<b>10</b>
<b>VALOR POR DOSIS</b>		<b>\$1,15</b>	<b>\$2,15</b>

## **CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **4.3 CONCLUSIONES**

Se concluye que la Vit C como antioxidante a dosis de 0,02 mg/mL al diluyente BTS tiene efectos positivos sobre todos los parámetros de calidad espermática, en semen porcino, que permite aumentar el tiempo de conservación.

La Vit C como antioxidantes de semen porcino a dosis de 0,02 mg/mL al diluyente BTS alarga la vida de los espermatozoides y no afecta la morfología espermática.

Con el uso de BTS y Vit C en dosis de 0,02 mg/mL se lograron dosis con menor costo cuyo valor fue de \$1,15 por unidad, mientras que el diluyente Adroestar plus control obtuvo un valor por dosis de \$2,15 en el mismo tiempo de conservación.

#### **4.4 RECOMENDACIONES**

Se recomienda el uso de Vit C a razón 0,02 mg/mL en el diluyente BTS como una alternativa para alargar calidad del semen porcina.

Evaluar Vit C con un diluyente de semen porcino de corta duración.

Efectuar otros trabajos de experimentación relacionados con el uso de Vit C aplicadas en mayor número de verracos.

.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alba, C. 2010. Diluyente alternativo para conservar semen porcino a corto plazo con excelentes resultados. (En línea). EC. Consultado el 14 de octubre del 2016. Formato PDF. Disponible en: <http://www.minitube.com>.
- Biotay (Empresa Argentina),2018. (En línea). ARG. Consultado. 20 de oct. 2016. <http://www.biotay.com>.
- Bonilla, C; Mejía, R; 2007. Evaluación de la capacidad fecundante del semen canino congelado, comparando glicerol, etilenglicol y DMSO como crio protectores en el diluyente tris-glucosa-yema de huevo. Tesis Médico Veterinario. Universidad de la Salle. Bogotá, CO. 25.
- Cabrera, P; Pantoja, C. 2012. Viabilidad espermática e integridad de acrosoma en semen congelado de toros nacionales. San Marcos-Lima, PE. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. RIVED. 23. 192-200.
- Cabrita, E., Ma, S., Diogo, P., Martínez-Páramo, S., Sarasquete, C., & Dinis, M. T. (2011). The influence of certain aminoacids and vitamins on post-thaw fish sperm motility, viability and DNA fragmentation. *Animal reproduction science*, 125(1-4), 189-195.
- Castañeda, J; Arteaga, J; Siche, R; Rodríguez. 2010. Estudio comparativo de la perdida de vitamina C (*Casimiora edulis* L) por cuatro métodos de deshidratación. Trujillo, PE. Revista Scientia Agropecuaria. 1. 75-80.
- Córdova, A.; Iglesias, A.; Ruiz, C.; Guerra, J.; Inzunza, J.; Villa, E.; Méndez, M.; Huerta, R.; Juárez, M.; Gómez, A.; Olivares, J.; Velázquez, V. 2016. Antioxidantes en el diluyente y calidad espermática del semen refrigerado de Verraco. (En línea). Mexico, MX. Formato PDF. Consultado el 22 de ene. 2019. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/308122560\\_Antioxidantes\\_en\\_el\\_diluyente\\_y\\_calidad\\_espermatologica\\_del\\_semen\\_refrigerado\\_de\\_verraco](https://www.researchgate.net/publication/308122560_Antioxidantes_en_el_diluyente_y_calidad_espermatologica_del_semen_refrigerado_de_verraco)
- Córdova, A; Guerrero, J; Huerta, R; Iglesias, A; Juarez, M; Méndez, M; Olivares, J; Sánchez, P; Villa, A. 2015. Uso de antioxidantes en la conservación del semen de cerdo. (En línea). ES. Consultado, 29 de nov. 2016. disponible en <http://ibercede.ibercaja.es>.
- Córdova, A; Pérez, J; Méndez, H; Villa, M; Huerta, C. 2015. Obtención, evaluación y manipulación del semen de verraco en una unidad de producción mexicana. *Corrientes*. ARG. Revista Veterinaria. 26. 69-74.

- Córdova, I. A; Ruiz, L. CG; Córdova J. CA; Córdova, J. MS; Guerra, L. JE; Rodríguez, D. BE y Arancibia, SK 2009. Estrés oxidativo y Antioxidantes en la Conservación espermática. Revista Complutense de Ciencias Veterinarias. 3:1-38.
- Córdova, z; Iglesias, R; Espinosa,R; Guerra,J;Villa ,A;Huerta,R; Juárez,M; Hernández,W; Sánchez,P;Rodríguez,B.2017. Effect of addition of antioxidants in the extender to freeze boar semen in two types of straws on sperma quality.MX.Revista International Journal of Recent Scientific Research. 8:174-66-17-468.
- Cuenca, M; Avellaneda, J.2017. Diluyentes utilizados en inseminación artificial porcina.ES. Revista Electrónica de Veterinaria.18: 9-16
- Del Valle, R. 2017. Evaluación de la calidad espermática de sementales porcinos utilizados en monta natural. CU. Revista electrónica de veterinaria. 18 (10) 5-6.
- Gadea, J. 2003. Los diluyentes de inseminación artificial porcina. Zaragoza, ES. Revista. Portal veterinaria.19:14-17.
- Gadea, J. 2001. La evaluación de la capacidad fecundante de los espermatozoides porcinos mediante la fecundación in vitro Murcia ES Revista Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim. 16: 1-7.
- Giaretta, E; Estrada, D; Bucci, M; Spinaci, J; Rodríguez, G; Yeste, M. 2015. Combining reduced glutathione and ascorbic acid has supplementary beneficial effects on boar sperm cryotolerance. Theriogenology.83:399–407.
- Google Earth.Campus ESPAM MFL. Programa. Consultado, 28 de oct. 2018.
- Guerrero, J. 2015. Antioxidantes en el diluyente y calidad espermática del semen refrigerado de verraco. MX, jul, 04. p 1.
- Harayama, K; Okada, K; Miyake, M. 2003. Involvement of cytoplasmic free calcium in boar sperm: head-to-head agglutination induced by a cell-permeable cyclic adenosine monophosphate analog. Journal of Andrology. 24:91-99.
- Hernández, J. 2009. Evaluación de un nuevo diluyente para semen porcino. Revisión. REDVET.10 (4): 1-11. (En línea). EC. Consultado, 21 de junio. 2019. Formato PDF. Disponible en <http://goo.gl/n5tXz2>.
- López, Y. 2017. Efecto de la presencia de antioxidantes en el diluyente de refrigeración sobre la calidad seminal y la oxidación lipídica del plasma seminal en conejo. Tesis. Máster en producción Animal. Universidad politécnica de valencia. ES. 12-13.

- Martínez, J; Carrasco, S. 2010. Crioconservación de semen en peces: Efectos sobre la movilidad espermática y la fertilidad. Medellín, CO. Revista Acta biológica.15: 3-24.
- Montenegro, V; Chimarro, M. 2013. Evaluación del efecto de dos tipos de diluyentes comerciales en semen porcino para inseminación artificial en reproductoras de tercer y cuarto parto. Ingeniero Agropecuario. Universidad Técnica Del Norte. Ibarra, EC. 6. 25.
- Najarro, J. 2004. Evaluación del uso de leche descremada fluida UHT como extensor de semen porcino sobre la fertilidad y número de nacidos totales en cerdas inseminadas” Tesis. Médico Veterinario. Universidad de san Carlos. Guatemala. GT. 27.
- Ordoñez, L; Yoshioka, L. 2012. Cinética de degradación térmica de vitamina en pulpa de mango (*Mangifera indica* L). Antioquia-Medellín. CO. Revista Vitae. 19. 81-S83.
- Poirot, C; Cherruau, B. 2005. Infertilidad masculina aspectos clínicos e investigaciones biológicas. Buenos Aires, ARG Revista Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 39. 225-241.
- Restrepo,G; Úsuga, A; Rojano, B. 2013. Técnicas para el análisis de la fertilidad potencial del semen equino. Medellín, CO. Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia. 8. 69-81.
- Roche, A; Úbeda, J; Ausejo, R; Dalmani, Y. 2014. La inseminación artificial porcina: (En línea). EC. Consultado el 14 de octubre del 2016. Formato PDF. Disponible en: <http://www.produccion-animal.com>.
- Sánchez, 2007. Congelación de semen en porcino. Historia y evolución (En línea). EC. Consultado el 14 de octubre del 2016. Formato PDF. Disponible en: <https://www.3tres3.com>.
- Serra, H; Cafaro, T. 2007. Ácido ascórbico: Desde la química hasta su crucial función protectora en ojo. Córdoba. ARG Revista Bioquímica Clínica. 525-532.
- Vadiana, 2006. Reproducción en cerdo (En línea). EC. Consultado el 13 de octubre del 2016. Formato PDF. Disponible en: <http://www.raco.cat>.
- Valdez, T.; Grado, A.; Burrola, B.; Sánchez, R.; Antillon, R. 2017. Efecto de diferentes fuentes antioxidantes sobre parámetros celulares y capacitación espermática pos descongelado en semen bovino. México, MX. Revista científica. 3-5.
- Vásquez, R; Vásquez, E. 2007. Espermograma y su utilidad clínica. Del Norte-Barranquilla, CO. Revista Salud Uniorte. 23: 220-230.

Velástegui, M; Tinillo, D. 2011. Evaluación espermática en verracos reproductores mediante la utilización de suplementos: Ácidos omega 3 – 6 con selenio orgánico y probióticos con vitamina E. Tesis. Médico veterinario. Universidad de Universidad Técnica De Cotopaxi, EC. 53.

ZoitechLab, 2015. Extender for boar Semen preservation. (En línea). EC. Consultado el 14 de octubre del 2016 Formato PDF Disponible en: OR B <http://www.zoitech.com>

# **ANEXOS**

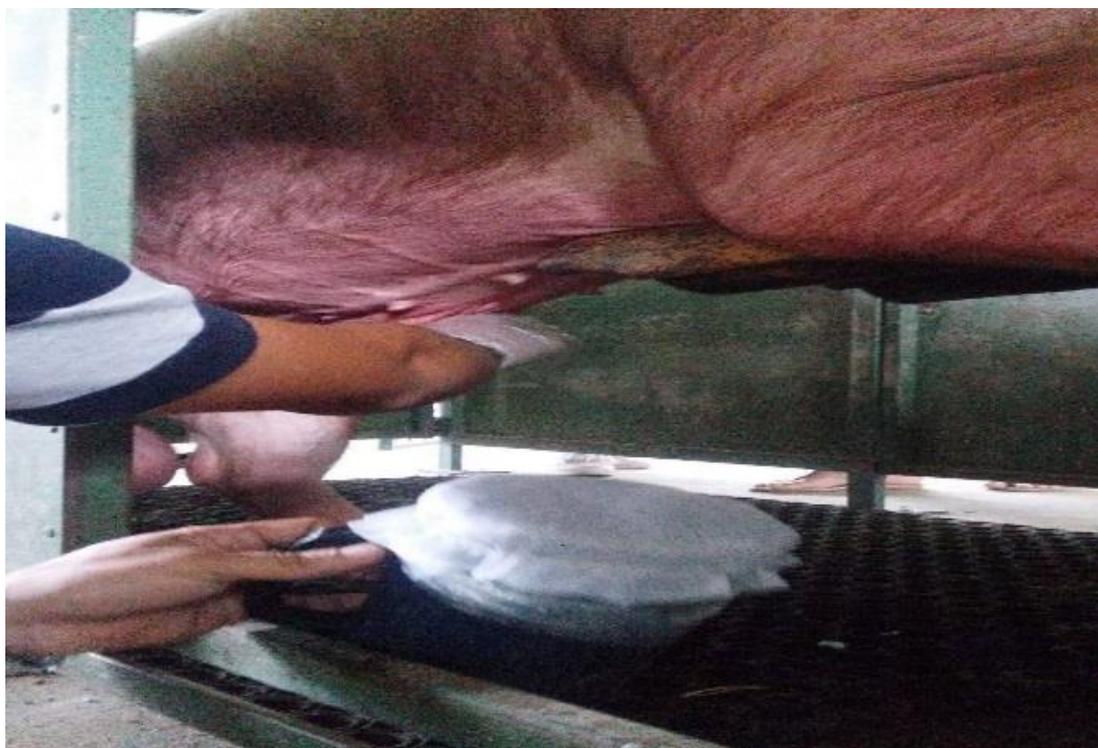
**Anexo Nº 1:** Verraco proveedor de Semen



**Anexo Nº 2:** Post Recolección de semen en vaso térmico



### Anexo Nº 3: Recolección de semen en vaso térmico



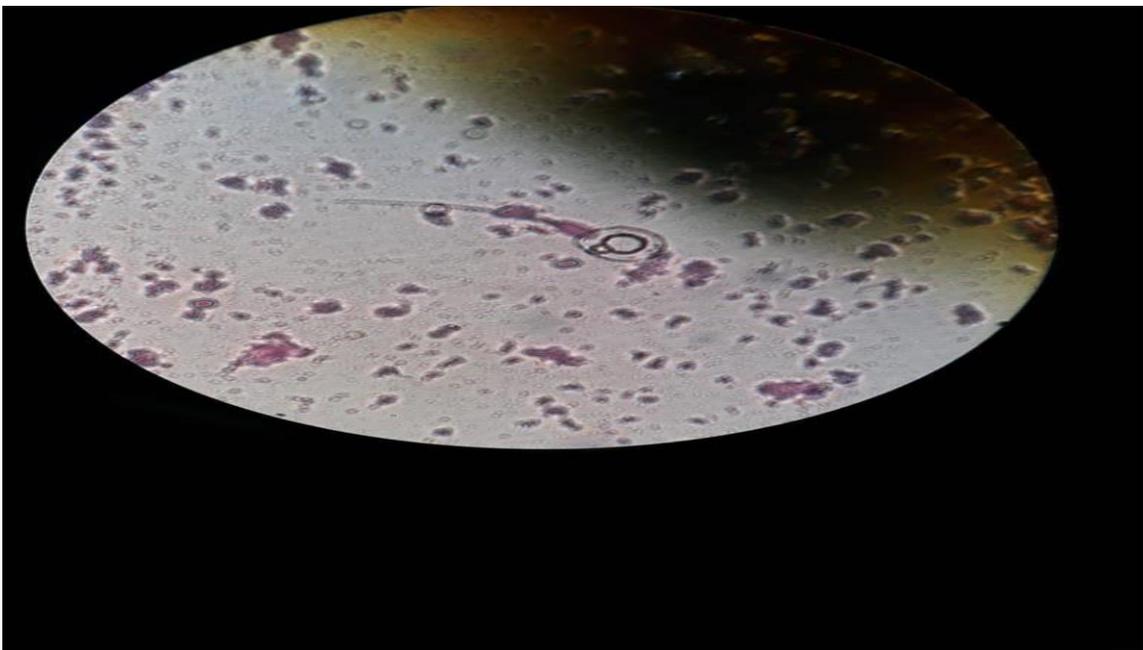
### Anexo Nº 4: Técnica de tinción eosina-nigrosina



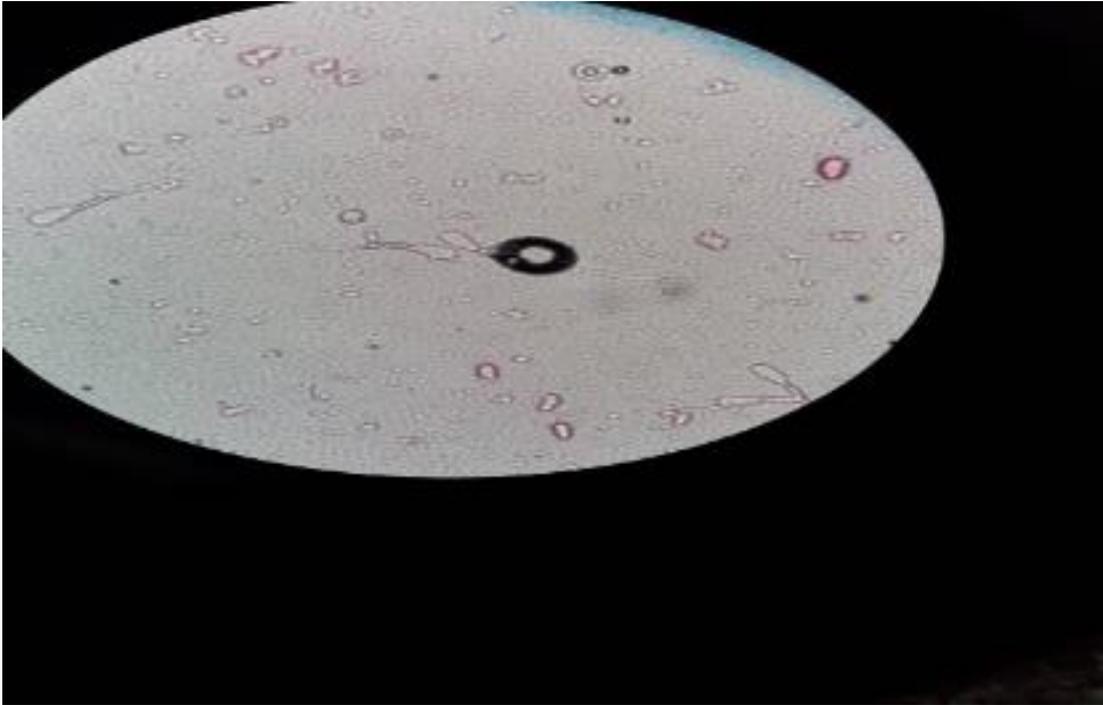
**Anexo N° 5:** Análisis de semen en microscopio mediante la técnica eosina-negrosina



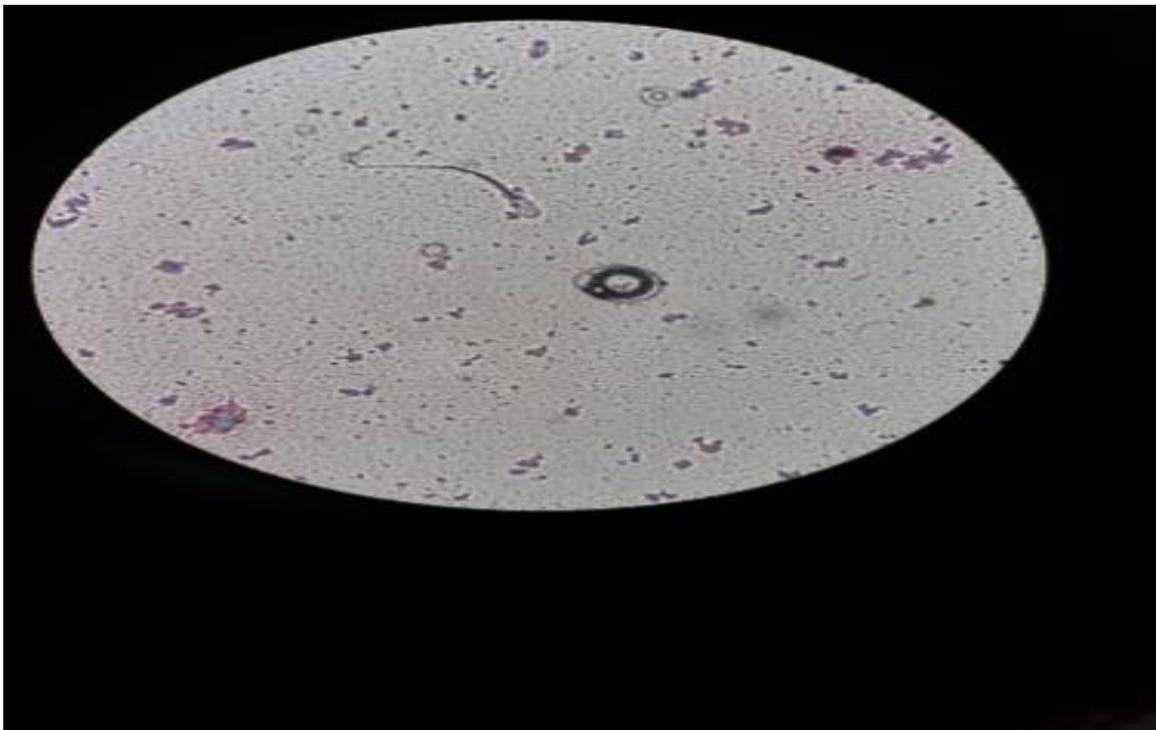
**Anexo N° 6:** Tinciones: espermatozoides teñido muerto, espermatozoides no teñido vivo



**Anexo N° 7:** observación de espermatozoides inmóviles vivos o muertos



**Anexo N° 8:** Análisis de aglutinación de los espermatozoides



**Anexo N° 9.** Análisis de varianza efecto del tratamiento por día de Experimento aglutinación.

**Anexo 9A -1:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition.

	Degr. of – Freedom	AGLUTINACIO N – SS	AGLUTINACIO N – MS	AGLUTINACI ON – F	AGLUTINACI ON - p
<b>Intercept</b>	1	324,0000	324,0000	598,1538	0,000000
<b>TRATAMI ENTO</b>	3	1,5000	0,5000	0,9231	0,889215
<b>Error</b>	12	6,5000	0,5417		
<b>Total</b>	15	8,0000			

**Anexo 9A -2:** Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=,92308, p=,45920 Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMI ENTO	AGLUTINACIO N - Mean	AGLUTINACION - Std.Err.	AGLUTINACION - -95,00%	AGLUTINACION - +95,00%	N
<b>1</b>	1	4,25	0,37	3,448219	5,051781	4
<b>2</b>	2	4,25	0,37	3,448219	5,051781	4
<b>3</b>	3	5,00	0,37	4,198219	5,801781	4
<b>4</b>	4	4,50	0,37	3,698219	5,301781	4

**Anexo 9A -3:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition:

	Degr. of – Freedom	AGLUTINACIO N – SS	AGLUTINACIO N - MS	AGLUTINACI ON - F	AGLUTINACI ON - p
<b>Intercept</b>	1	410,0625	410,0625	2187,000	0,000000
<b>TRATAMI ENTO</b>	3	0,6875	0,2292	1,222	0,344114
<b>Error</b>	12	2,2500	0,1875		
<b>Total</b>	15	2,9375			

**Anexo 9A -4:** Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=1,2222, p=,34411 Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMI ENTO	AGLUTINACIO N – Mean	AGLUTINACIO N - Std.Err.	AGLUTINACIO N - -95,00%	AGLUTINACION - +95,00%	N
<b>1</b>	1	4,75	0,22	4,278273	5,221727	4
<b>2</b>	2	5,00	0,22	4,528273	5,471727	4
<b>3</b>	3	5,25	0,22	4,778273	5,721727	4
<b>4</b>	4	5,25	0,22	4,778273	5,721727	4

**Anexo 9A -5: Cuadro de análisis de varianza.**

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	AGLUTINACIO N - SS	AGLUTINACIO N - MS	AGLUTINACI ON - F	AGLUTINACI ON - p
<b>Intercept</b>	1	529,0000	529,0000	1813,714	0,000000
<b>TRATAMI ENTO</b>	3	9,5000	3,1667	10,857	0,000979
<b>Error</b>	12	3,5000	0,2917		
<b>Total</b>	15	13,0000			

**Anexo 9A -6: Cuadro de análisis de varianza.**

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=10,857, p=,00098 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	TRATAMI ENTO	AGLUTINACIO N - Mean	AGLUTINACION - Std.Err.	AGLUTINACION - -95,00%	AGLUTINACION - +95,00%	N
<b>1</b>	1	5,75	0,27	5,161653	6,338347	4
<b>2</b>	2	5,25	0,27	4,661653	5,838347	4
<b>3</b>	3	5,00	0,27	4,411653	5,588347	4
<b>4</b>	4	7,00	0,27	6,411653	7,588347	4

**Anexo 9A -7: Cuadro de análisis de varianza.**

Tukey HSD test; variable AGLUTINACION (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,29167, df = 12,000 Include condition				
	TRATAMIENTO	AGLUTINACION - Mean	b	a
<b>3</b>	3	5,000000	****	
<b>2</b>	2	5,250000	****	
<b>1</b>	1	5,750000	****	
<b>4</b>	4	7,000000		****

**Anexo 9A -8: Cuadro de análisis de varianza.**

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	AGLUTINACIO N - SS	AGLUTINACIO N - MS	AGLUTINACI ON - F	AGLUTINACI ON - p
<b>Intercept</b>	1	756,2500	756,2500	1396,154	0,000000
<b>TRATAMI ENTO</b>	3	33,2500	11,0833	20,462	0,000052
<b>Error</b>	12	6,5000	0,5417		
<b>Total</b>	15	39,7500			

**Anexo 9A -9: Cuadro de análisis de varianza.**

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=20,462, p=,00005  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMI ENTO	AGLUTINACIO N - Mean	AGLUTINACIO N - Std.Err.	AGLUTINACION - -95,00%	AGLUTINACION - +95,00%	N
1	1	6,00	0,37	5,198219	6,80178	4
2	2	5,50	0,37	4,698219	6,30178	4
3	3	6,75	0,37	5,948219	7,55178	4
4	4	9,25	0,37	8,448219	10,05178	4

**Anexo 9A -10: Cuadro de análisis de varianza.**

Tukey HSD test; variable AGLUTINACION (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000  
Error: Between MS = ,54167, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	AGLUTINACION - Mean	b	a
2	2	5,50	****	
1	1	6,00	****	
3	3	6,75	****	
4	4	9,25		****

**Anexo 9A -11: Cuadro de análisis de varianza.**

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	AGLUTINACIO N - SS	AGLUTINACIO N - MS	AGLUTINACI ON - F	AGLUTINACI ON - p
Intercept	1	1560,250	1560,250	870,8372	0,000000
TRATAMI ENTO	3	426,250	142,083	79,3023	0,000000
Error	12	21,500	1,792		
Total	15	447,750			

**Anexo 9A -12: Cuadro de análisis de varianza.**

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=79,302, p=,00000  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMI ENTO	AGLUTINACIO N - Mean	AGLUTINACION - Std.Err.	AGLUTINACION - -95,00%	AGLUTINACION - +95,00%	N
1	1	7,8	0,67	6,29180	9,20820	4
2	2	6,0	0,67	4,54180	7,45820	4
3	3	7,0	0,67	5,54180	8,45820	4
4	4	18,8	0,67	17,29180	20,20820	4

**Anexo 9A -13:** Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable AGLUTINACION (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000  
Error: Between MS = 1,7917, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	AGLUTINACION - Mean	b	a
2	2	6,00	****	
3	3	7,00	****	
1	1	7,75	****	
4	4	18,75		****

**Anexo 9A -14:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	AGLUTINACION - SS	AGLUTINACION - MS	AGLUTINACION - F	AGLUTINACION - p
Intercept	1	650,2500	650,2500	294,4528	0,000000
TRATAMIENTO	3	217,2500	72,4167	32,7925	0,000005
Error	12	26,5000	2,2083		
Total	15	243,7500			

**Anexo 9A -15:** Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=32,792, p=,00000  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMIENTO	AGLUTINACION - Mean	AGLUTINACION - Std.Err.	AGLUTINACION - -95,00%	AGLUTINACION - +95,00%	N
1	1	8,75	0,74	7,13109	10,36891	4
2	2	8,25	0,74	6,63109	9,86891	4
3	3	8,50	0,74	6,88109	10,11891	4
4	4	0,00	0,74	-1,61891	1,61891	4

**Anexo 9A -16:** Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable AGLUTINACION (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000  
Error: Between MS = 2,2083, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	AGLUTINACION - Mean	b	a
4	4	0,000000	****	
2	2	8,250000		****
3	3	8,500000		****
1	1	8,750000		****

**Anexo 9A -17:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	AGLUTINACION - SS	AGLUTINACION - MS	AGLUTINACION - F	AGLUTINACION - p
<b>Intercept</b>	1	1008,063	1008,063	722,1940	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	344,187	114,729	82,1940	0,000001
<b>Error</b>	12	16,750	1,396		
<b>Total</b>	15	360,938			

**Anexo 9A -18:** Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=82,194, p=,00000 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	TRATAMIENTO	AGLUTINACION - Mean	AGLUTINACION - Std.Err.	AGLUTINACION - -95,00%	AGLUTINACION - +95,00%	N
<b>1</b>	1	10,0	0,59	8,71292	11,28708	4
<b>2</b>	2	10,0	0,59	8,71292	11,28708	4
<b>3</b>	3	11,8	0,59	10,46292	13,03708	4
<b>4</b>	4	0,0	0,59	-1,28708	1,28708	4

**Anexo 9A -19:** Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable AGLUTINACION (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 1,3958, df = 12,000 Include condition				
	TRATAMIENTO	AGLUTINACION - Mean	b	a
<b>4</b>	4	0,00000	****	
<b>2</b>	2	10,00000		****
<b>1</b>	1	10,00000		****
<b>3</b>	3	11,75000		****

**Anexo N.º 10.** Análisis de varianza efecto del día del experimento en cada tratamiento aglutinación

**Anexo 10B -1:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	AGLUTINACION - SS	AGLUTINACION - MS	AGLUTINACION - F	AGLUTINACION - p
Intercept	1	1275,750	1275,750	2747,769	0,000000
DIAS	7	109,500	18,250	39,308	0,000001
Error	21	9,750	0,464		
Total	27	119,250			

**Anexo 10B -2:** Cuadro de análisis de varianza.

DIAS; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(6, 21)=39,308, p=,00000 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	DIA S	AGLUTINACION - Mean	AGLUTINACION - Std.Err.	AGLUTINACION - - 95,00%	AGLUTINACION - +95,00%	N
1	2	4,8	0,34	4,041491	5,45851	4
2	3	5,8	0,34	5,041491	6,45851	4
3	4	6,0	0,34	5,291491	6,70851	4
4	5	7,8	0,34	7,041491	8,45851	4
5	6	8,8	0,34	8,041491	9,45851	4
6	7	10,0	0,34	9,291491	10,70851	4
7	1	4,3	0,34	3,541491	4,95851	4

**Anexo 10B -3:** Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable AGLUTINACION (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,46429, df = 21,000 Include condition						
	DIAS	AGLUTINACION - Mean	d	c	b	a
7	1	4,25000	****			
1	2	4,75000	****	****		
2	3	5,75000	****	****		
3	4	6,00000		****		
4	5	7,75000			****	
5	6	8,75000			****	****
6	7	10,00000				****

**Anexo 10B -4:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	AGLUTINACIO N - SS	AGLUTINACIO N - MS	AGLUTINACIO N - F	AGLUTINACIO N - p
Intercept	1	1118,893	1118,893	2540,189	0,000000
DIAS	7	100,857	16,810	38,162	0,000001
Error	21	9,250	0,440		
Total	27	110,107			

#### Anexo 10B -5: Cuadro de análisis de varianza.

DIAS; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(6, 21)=38,162, p=,00000 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	DIA S	AGLUTINACIO N - Mean	AGLUTINACION - Std.Err.	AGLUTINACION - -95,00%	AGLUTINACION - +95,00%	N
1	2	5,00	0,33	4,309897	5,69010	4
2	3	5,25	0,33	4,559897	5,94010	4
3	4	5,50	0,33	4,809897	6,19010	4
4	5	6,00	0,33	5,309897	6,69010	4
5	6	8,25	0,33	7,559897	8,94010	4
6	7	10,00	0,33	9,309897	10,69010	4
7	1	4,25	0,33	3,559897	4,94010	4

#### Anexo 10B -6: Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable AGLUTINACION (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,44048, df = 21,000 Include condition						
	DIAS	AGLUTINACION - Mean	d	c	b	a
7	1	4,25	****			
1	2	5,00	****	****		
2	3	5,25	****	****		
3	4	5,50	****	****		
4	5	6,00		****		
5	6	8,25			****	
6	7	10,00				****

#### Anexo 10B -7: Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	AGLUTINACIO N - SS	AGLUTINACIO N - MS	AGLUTINACIO N - F	AGLUTINACIO N - p
Intercept	1	1386,036	1386,036	741,5732	0,000000
DIAS	7	143,714	23,952	12,8153	0,000004

<b>Error</b>	21	39,250	1,869		
<b>Total</b>	27	182,964			

**Anexo 10B -8:** Cuadro de análisis de varianza.

DIAS; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(6, 21)=12,815, p=,00000 Effective hypothesis decomposition Include condition

	<b>DIA S</b>	<b>AGLUTINACION - Mean</b>	<b>AGLUTINACION - Std.Err.</b>	<b>AGLUTINACION - -95,00%</b>	<b>AGLUTINACION - +95,00%</b>	<b>N</b>
1	2	5,25	0,68	3,82845	6,67155	4
2	3	5,00	0,68	3,57845	6,42155	4
3	4	6,75	0,68	5,32845	8,17155	4
4	5	7,00	0,68	5,57845	8,42155	4
5	6	8,50	0,68	7,07845	9,92155	4
6	7	11,75	0,68	10,32845	13,17155	4
7	1	5,00	0,68	3,57845	6,42155	4

**Anexo 10B -9:** Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable AGLUTINACION (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 1,8690, df = 21,000 Include condition

	<b>DIAS</b>	<b>AGLUTINACION - Mean</b>	<b>c</b>	<b>b</b>	<b>a</b>
2	7	5,00000	****		
7	1	5,00000	****		
1	2	5,25000	****		
3	3	6,75000	****	****	
4	4	7,00000	****	****	
5	5	8,50000		****	
6	6	11,75000			****

**Anexo 10B -10:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	<b>Degr. of - Freedom</b>	<b>AGLUTINACION - SS</b>	<b>AGLUTINACION - MS</b>	<b>AGLUTINACION - F</b>	<b>AGLUTINACION - p</b>
<b>Intercept</b>	1	1144,321	1144,321	951,7129	0,000000
<b>DIAS</b>	6	991,429	165,238	137,4257	0,000001
<b>Error</b>	21	25,250	1,202		
<b>Total</b>	27	1016,679			

**Anexo 10B -11:** Cuadro de análisis de varianza.

DIAS; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(6, 21)=137,43, p=,00000 Effective hypothesis decomposition Include condition

	<b>DIA S</b>	<b>AGLUTINACION - Mean</b>	<b>AGLUTINACION - Std.Err.</b>	<b>AGLUTINACION - -95,00%</b>	<b>AGLUTINACION - +95,00%</b>	<b>N</b>
<b>1</b>	2	5,25	0,55	4,10982	6,39018	4
<b>2</b>	3	7,00	0,55	5,85982	8,14018	4
<b>3</b>	4	9,25	0,55	8,10982	10,39018	4
<b>4</b>	5	18,75	0,55	17,60982	19,89018	4
<b>5</b>	6	0,00	0,55	-1,14018	1,14018	4
<b>6</b>	6	0,00	0,55	-1,14018	1,14018	4
<b>7</b>	1	4,50	0,55	3,35982	5,64018	4

### Anexo 10B -12: Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable AGLUTINACION (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000  
Error: Between MS = 1,2024, df = 21,000 Include condition

	<b>DIAS</b>	<b>AGLUTINACION - Mean</b>	<b>d</b>	<b>c</b>	<b>b</b>	<b>a</b>
<b>5</b>	6	0,00	****			
<b>6</b>	7	0,00	****			
<b>7</b>	1	4,50		****		
<b>1</b>	2	5,25		****		
<b>2</b>	3	7,00		****	****	
<b>3</b>	4	9,25			****	
<b>4</b>	5	18,75				****

**Anexo N° 11. Análisis de varianza efecto del tratamiento por día de Experimento Mortalidad.**

**Anexo 11A -1: Cuadro de análisis de varianza.**

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	MORT-T - SS	MORT-T - MS	MORT-T - F	MORT-T - p
<b>Intercept</b>	1	17,95510	17,95510	253,1798	0,000000
<b>TRATAMIENTO O</b>	3	4,19388	1,39796	19,7122	0,000062
<b>Error</b>	12	0,85102	0,07092		
<b>Total</b>	15	5,04490			

**Anexo 11A -2: Cuadro de análisis de varianza.**

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=19,712, p=,00006 Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMIENTO O	MORT-T - Mean	MORT-T - Std.Err.	MORT-T - - 95,00%	MORT-T - +95,00%	N
<b>1</b>	1	0,25	0,13	-0,040114	0,540114	4
<b>2</b>	2	1,00	0,13	0,709886	1,290114	4
<b>3</b>	3	1,41	0,13	1,124099	1,704328	4
<b>4</b>	4	1,57	0,13	1,283018	1,863247	4

**Anexo 11A -3: Cuadro de análisis de varianza.**

Tukey HSD test; variable MORT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,07092, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	MORT-T - Mean	c	b	a
<b>1</b>	1	0,250000	****		
<b>2</b>	2	1,000000		****	
<b>3</b>	3	1,414214		****	****
<b>4</b>	4	1,573132			****

**Anexo 11A -4: Cuadro de análisis de varianza.**

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	MORT-T - SS	MORT-T - MS	MORT-T - F	MORT-T - p
<b>Intercept</b>	1	28,52520	28,52520	796,8780	0,000000
<b>TRATAMIENTO O</b>	3	1,04524	0,34841	9,7333	0,001551
<b>Error</b>	12	0,42955	0,03580		
<b>Total</b>	15	1,47480			

**Anexo 11A -5: Cuadro de análisis de varianza.**

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=9,7333, p=,00155  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMIENT O	MORT-T - Mean	MORT-T - Std.Err.	MORT-T - - 95,00%	MORT-T - +95,00%	N
1	1	1,10	0,09	0,897439	1,309668	4
2	2	1,10	0,09	0,897439	1,309668	4
3	3	1,41	0,09	1,208099	1,620328	4
4	4	1,72	0,09	1,513464	1,925693	4

**Anexo 11A -6:** Cuadro de análisis de varianza.

	Degr. of - Freedom	MORT-T - SS	MORT-T - MS	MORT-T - F	MORT-T - p
<b>Intercept</b>	1	41,01657	41,01657	992,4693	0,000000
<b>TRATAMIENT O</b>	3	1,48750	0,49583	11,9976	0,000635
<b>Error</b>	12	0,49593	0,04133		
<b>Total</b>	15	1,98343			

**Anexo 11A -7:** Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Wilks lambda=,14691, F(6, 22)=5,8998,  
p=,00086 Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMIENT O	MORT-T - Mean	MORT-T - Std.Err.	MORT-T - - 95,00%	MORT-T - +95,00%	N
1	1	1,21	0,10	0,985639	1,428575	4
2	2	1,49	0,10	1,272205	1,715141	4
3	3	1,65	0,10	1,431123	1,874060	4
4	4	2,05	0,10	1,829579	2,272515	4

**Anexo 11A -8:** Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable MORT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,04133, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	MORT-T - Mean	c	b	a
1	1	1,207107	****		
2	2	1,493673	****	****	
3	3	1,652591		****	****
4	4	2,051047			****

**Anexo 11A -9:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of Freedom	MORT-T - SS	MORT-T - MS	MORT-T - F	MORT-T - p
<b>Intercept</b>	1	107,2822	107,2822	1149,978	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	33,5983	11,1994	120,049	0,000000
<b>Error</b>	12	1,1195	0,0933		
<b>Total</b>	15	34,7178			

#### Anexo 11A -10: Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=120,05, p=,00000 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	TRATAMIENTO	MORT-T - Mean	MORT-T - Std.Err.	MORT-T - -95,00%	MORT-T - +95,00%	N
1	1	1,39	0,15	1,057376	1,722863	4
2	2	1,49	0,15	1,160930	1,826416	4
3	3	2,49	0,15	2,153836	2,819322	4
4	4	4,99	0,15	4,654597	5,320083	4

#### Anexo 11A-11: Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable MORT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,09329, df = 12,000 Include condition					
	TRATAMIENTO	MORT-T - Mean	c	b	a
1	1	1,390119	****		
2	2	1,493673	****		
3	3	2,486579		****	
4	4	4,987340			****

#### Anexo 11A -12: Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of Freedom	MORT-T - SS	MORT-T - MS	MORT-T - F	MORT-T - p
<b>Intercept</b>	1	185,7446	185,7446	2749,115	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	69,4446	23,1482	342,605	0,000000
<b>Error</b>	12	0,8108	0,0676		
<b>Total</b>	15	70,2554			

#### Anexo 11A -13: Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=342,60, p=,00000  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMIENTO	MORT-T - Mean	MORT-T - Std.Err.	MORT-T - - 95,00%	MORT-T - +95,00%	N
1	1	1,73	0,13	1,448878	2,015224	4
2	2	1,86	0,13	1,574882	2,141228	4
3	3	3,15	0,13	2,871098	3,437444	4
4	4	6,88	0,13	6,601267	7,167613	4

#### Anexo 11A -14: Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable MORT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,06757, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	MORT-T - Mean	c	b	A
1	1	1,732051	****		
2	2	1,858055	****		
3	3	3,154271		****	
4	4	6,884440			****

#### Anexo 11A -15: Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of Freedom	MORT-T - SS	MORT-T - MS	MORT-T - F	MORT-T - p
Intercept	1	227,3996	227,3996	2895,490	0,000000
TRATAMIENTO	3	76,6579	25,5526	325,363	0,000000
Error	12	0,9424	0,0785		
Total	15	77,6004			

#### Anexo 11A -16: Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable MORT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,07854, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	MORT-T - Mean	c	b	A
1	1	1,87	****		
2	2	2,28	****		
3	3	3,52		****	
4	4	7,41			****

#### Anexo 11A -17: Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	MORT-T - SS	MORT-T - MS	MORT-T - F	MORT-T - p
<b>Intercept</b>	1	531,0334	531,0334	8618,482	0,000000
<b>TRATAMIENT O</b>	3	121,2272	40,4091	655,825	0,000000
<b>Error</b>	12	0,7394	0,0616		
<b>Total</b>	15	121,9666			

**Anexo 11A -18:** Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable MORT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,06162, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	MORT-T - Mean	c	b	a
<b>2</b>	2	3,078815	****		
<b>1</b>	1	3,154271	****		
<b>3</b>	3	7,326075		****	
<b>4</b>	4	9,485001			****

**Anexo N° 12.** Análisis de varianza efecto del día del experimento en cada tratamiento mortalidad.

**Anexo 12B -1:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	MORT-T - SS	MORT-T - MS	MORT-T - F	MORT-T - p
<b>Intercept</b>	1	65,46110	65,46110	862,0767	0,000000
<b>DIAS</b>	7	18,94428	3,15738	41,5805	0,000000
<b>Error</b>	21	1,59462	0,07593		
<b>Total</b>	27	20,53890			

**Anexo 12B -2:** Cuadro de análisis de varianza.

DIAS; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(6, 21)=41,580, p=,00000 Effective hypothesis decomposition Include condition

	DIAS	MORT-T - Mean	MORT-T - Std.Err.	MORT-T - - 95,00%	MORT-T - +95,00%	N
<b>1</b>	2	1,10	0,14	0,817023	1,390084	4
<b>2</b>	3	1,21	0,14	0,920576	1,493638	4
<b>3</b>	4	1,39	0,14	1,103589	1,676650	4
<b>4</b>	5	1,73	0,14	1,445520	2,018582	4
<b>5</b>	6	1,87	0,14	1,579495	2,152556	4
<b>6</b>	7	3,15	0,14	2,867740	3,440802	4
<b>7</b>	1	0,25	0,14	-0,036531	0,536531	4

**Anexo 12B -3:** Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable MORT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,07593, df = 21,000 Include condition

	DIAS	MORT-T - Mean	d	c	b	A
<b>7</b>	1	0,250000	****			
<b>1</b>	2	1,103553		****		
<b>2</b>	3	1,207107		****		
<b>3</b>	4	1,390119		****	****	
<b>4</b>	5	1,732051		****	****	
<b>5</b>	6	1,866025			****	
<b>6</b>	7	3,154271				****

**Anexo 12B -4:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	MORT-T - SS	MORT-T - MS	MORT-T - F	MORT-T - p
--	--------------------	-------------	-------------	------------	------------

<b>Intercept</b>	1	86,61360	86,61360	2628,240	0,000000
<b>DIAS</b>	6	12,69435	2,11572	64,200	0,000000
<b>Error</b>	21	0,69205	0,03295		
<b>Total</b>	27	13,38640			

#### Anexo 12B -5: Cuadro de análisis de varianza.

DIAS; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(6, 21)=64,200, p=,00000 Effective hypothesis decomposition Include condition

	DIAS	MORT-T - Mean	MORT-T - Std.Err.	MORT-T - - 95,00%	MORT-T - +95,00%	N
1	2	1,10	0,09	0,914792	1,292315	4
2	3	1,49	0,09	1,304911	1,682434	4
3	4	1,49	0,09	1,304911	1,682434	4
4	5	1,86	0,09	1,669294	2,046817	4
5	6	2,28	0,09	2,095000	2,472523	4
6	7	3,08	0,09	2,890054	3,267576	4
7	1	1,00	0,09	0,811239	1,188761	4

#### Anexo 12B -6: Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable MORT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,03295, df = 21,000 Include condition

	DIAS	MORT-T - Mean	1	2	3	4	5
7	1	1,00	****				
1	2	1,10	****	****			
3	3	1,49		****	****		
2	4	1,49		****	****		
4	5	1,86			****		
5	6	2,28				****	
6	7	3,08					****

#### Anexo 12B -7: Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	MORT-T - SS	MORT-T - MS	MORT-T - F	MORT-T - p
<b>Intercept</b>	1	251,1745	251,1745	3863,199	0,00000
<b>DIAS</b>	7	104,4602	17,4100	267,776	0,00000
<b>Error</b>	21	1,3654	0,0650		
<b>Total</b>	27	105,8255			

#### Anexo 12B -8: Cuadro de análisis de varianza.

DIAS; Unweighted Means (matriz) Current effect:  $F(6, 21)=267,78$ ,  $p=0,0000$  Effective hypothesis decomposition Include condition

	DIAS	MORT-T - Mean	MORT-T - Std.Err.	MORT-T - - 95,00%	MORT-T - +95,00%	N
1	2	1,41	0,13	1,149079	1,679348	4
2	3	1,65	0,13	1,387457	1,917726	4
3	4	2,49	0,13	2,221444	2,751713	4
4	5	3,15	0,13	2,889136	3,419406	4
5	6	3,52	0,13	3,252496	3,782765	4
6	7	7,33	0,13	7,060940	7,591210	4
7	1	1,41	0,13	1,149079	1,679348	4

#### Anexo 12B -9: Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable MORT-T (matriz) Homogenous Groups,  $\alpha = ,05000$  Error: Between MS = ,06502,  $df = 21,000$  Include condition

	DIAS	MORT-T - Mean	d	c	b	a
7	1	1,41	****			
1	2	1,41	****			
2	3	1,65	****			
3	4	2,49		****		
4	5	3,15			****	
5	6	3,52			****	
6	7	7,33				****

#### Anexo 12B -10: Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	MORT-T - SS	MORT-T - MS	MORT-T - F	MORT-T - p
<b>Intercept</b>	1	664,9656	664,9656	8041,332	0,00000
<b>DIAS</b>	7	242,2979	40,3830	488,345	0,00000
<b>Error</b>	21	1,7366	0,0827		
<b>Total</b>	27	244,0344			

**Anexo 12B -11: Cuadro de análisis de varianza.**

DIAS; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(6, 21)=488,35, p=0,0000 Effective hypothesis decomposition Include condition

	DIAS	MORT-T - Mean	MORT-T - Std.Err.	MORT-T - - 95,00%	MORT-T - +95,00%	N
1	2	1,72	0,14	1,420567	2,018591	4
2	3	2,05	0,14	1,752035	2,350058	4
3	4	4,99	0,14	4,688329	5,286352	4
4	5	6,88	0,14	6,585428	7,183451	4
5	6	7,41	0,14	7,113346	7,711370	4
6	7	9,49	0,14	9,185989	9,784013	4
7	1	1,57	0,14	1,274120	1,872144	4

**Anexo 12B -12: Cuadro de análisis de varianza.**

Tukey HSD test; variable MORT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,08269, df = 21,000 Include condition

	DIAS	MORT-T - Mean	d	c	b	a
7	1	1,57	****			
1	2	1,72	****			
2	3	2,05	****			
3	4	4,99		****		
4	5	6,88			****	
5	6	7,41			****	
6	7	9,49				****

**Anexo N° 13.** Análisis de varianza efecto del tratamiento por día de Experimento Viabilidad.

**Anexo 13A -1:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	VIAB-T - SS	VIAB-T - MS	VIAB-T - F	VIAB-T - p
<b>Intercept</b>	1	1532,973	1532,973	686765,0	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	0,000	0,000	0,1	0,973169
<b>Error</b>	12	0,027	0,002		
<b>Total</b>	15	0,027			

**Anexo 13A -2:** Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=,07331, p=,97317 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	TRATAMIENT O	VIAB-T - Mean	VIAB-T - Std.Err.	VIAB-T - - 95,00%	VIAB-T - +95,00%	N
<b>1</b>	1	9,79	0,02	9,733698	9,836638	4
<b>2</b>	2	9,80	0,02	9,746423	9,849362	4
<b>3</b>	3	9,79	0,02	9,733564	9,836504	4
<b>4</b>	4	9,79	0,02	9,733631	9,836571	4

**Anexo 13A -3:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	VIAB-T - SS	VIAB-T - MS	VIAB-T - F	VIAB-T - p
<b>Intercept</b>	1	1523,977	1523,977	2000316	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	0,014	0,005	6	0,008296
<b>Error</b>	12	0,009	0,001		
<b>Total</b>	15	0,023			

**Anexo 13A -4:** Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=6,2817, p=,00830 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	TRATAMIENT O	VIAB-T - Mean	VIAB-T - Std.Err.	VIAB-T - - 95,00%	VIAB-T - +95,00%	N
<b>1</b>	1	9,81	0,01	9,780547	9,840687	4
<b>2</b>	2	9,75	0,01	9,716725	9,776864	4
<b>3</b>	3	9,75	0,01	9,716725	9,776864	4
<b>4</b>	4	9,73	0,01	9,703866	9,764005	4

**Anexo 13A -5:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	VIAB-T - SS	VIAB-T - MS	VIAB-T - F	VIAB-T - p
<b>Intercept</b>	1	1511,915	1511,915	722143,9	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	0,060	0,020	9,5	0,001718
<b>Error</b>	12	0,025	0,002		
<b>Total</b>	15	0,085			

#### Anexo 13A -6: Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=9,4939, p=,00172 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	TRATAMIENT O	VIAB-T - Mean	VIAB-T - Std.Err.	VIAB-T - - 95,00%	VIAB-T - +95,00%	N
1	1	9,80	0,02	9,747979	9,847673	4
2	2	9,75	0,02	9,696947	9,796642	4
3	3	9,71	0,02	9,658302	9,757997	4
4	4	9,63	0,02	9,580737	9,680431	4

#### Anexo 13A -7: Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable VIAB-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00209, df = 12,000 Include condition				
	TRATAMIENTO	VIAB-T - Mean	b	a
4	4	9,630584	****	
3	3	9,708150	****	****
2	2	9,746794		****
1	1	9,797826		****

#### Anexo 13A -8: Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	VIAB-T - SS	VIAB-T - MS	VIAB-T - F	VIAB-T - p
<b>Intercept</b>	1	1441,097	1441,097	90531,25	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	1,712	0,571	35,85	0,000003
<b>Error</b>	12	0,191	0,016		
<b>Total</b>	15	1,903			

#### Anexo 13A -9: Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=35,854, p=,00000 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	TRATAMIENT O	VIAB-T - Mean	VIAB-T - Std.Err.	VIAB-T - - 95,00%	VIAB-T - +95,00%	N
1	1	9,75	0,06	9,609347	9,884242	4

2	2	9,73	0,06	9,596488	9,871383	4
3	3	9,54	0,06	9,401517	9,676412	4
4	4	8,94	0,06	8,804638	9,079533	4

#### Anexo 13A -10: Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable VIAB-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,01592, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	VIAB-T - Mean	b	a
4	4	8,942086	****	
3	3	9,538965		****
2	2	9,733936		****
1	1	9,746794		****

#### Anexo 13A -11: Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective  
hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	VIAB-T - SS	VIAB-T - MS	VIAB-T - F	VIAB-T - p
Intercept	1	1276,334	1276,334	56411,71	0,000000
TRATAMIENTO	3	20,394	6,798	300,47	0,000000
Error	12	0,272	0,023		
Total	15	20,666			

#### Anexo 13A-12: Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=300,47, p=,00000  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMIENT O	VIAB-T - Mean	VIAB-T - Std.Err.	VIAB-T - - 95,00%	VIAB-T - +95,00%	N
1	1	9,66	0,08	9,492153	9,819884	4
2	2	9,63	0,08	9,466367	9,794098	4
3	3	9,46	0,08	9,295350	9,623081	4
4	4	6,98	0,08	6,816486	7,144217	4

#### Anexo 13A -13: Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable VIAB-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,02263, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	VIAB-T - Mean	b	a
4	4	6,980352	****	
3	3	9,459215		****
2	2	9,630232		****
1	1	9,656018		****

**Anexo 13A -14:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	VIAB-T - SS	VIAB-T - MS	VIAB-T - F	VIAB-T - p
<b>Intercept</b>	1	1067,536	1067,536	66272,76	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	73,270	24,423	1516,21	0,000000
<b>Error</b>	12	0,193	0,016		
<b>Total</b>	15	73,464			

**Anexo 13A -15:** Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=1516,2, p=,00000 Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMIENT O	VIAB-T - Mean	VIAB-T - Std.Err.	VIAB-T - - 95,00%	VIAB-T - +95,00%	N
1	1	9,59	0,06	9,452831	9,729362	4
2	2	9,46	0,06	9,320950	9,597481	4
3	3	9,15	0,06	9,012461	9,288992	4
4	4	4,47	0,06	4,333870	4,610401	4

**Anexo 13A -16:** Cuadro de análisis de varianza.

Tukey HSD test; variable VIAB-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,01611, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	VIAB-T - Mean	c	b	a
4	4	4,472136	****		
3	3	9,150726		****	
2	2	9,459215			****
1	1	9,591096			****

**Anexo 13A -17:** Cuadro de análisis de varianza.

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	VIAB-T - SS	VIAB-T - MS	VIAB-T - F	VIAB-T - p
<b>Intercept</b>	1	676,9048	676,9048	1016,414	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	190,1035	63,3678	95,151	0,000000

<b>Error</b>	12	7,9917	0,6660		
<b>Total</b>	15	198,0952			

**Anexo 13A -18:** Cuadro de análisis de varianza.

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=95,151, p=,00000  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	<b>TRATAMIEN O</b>	<b>VIAB-T - Mean</b>	<b>VIAB-T - Std.Err.</b>	<b>VIAB-T - - 95,00%</b>	<b>VIAB-T - +95,00%</b>	<b>N</b>
<b>1</b>	1	9,42	0,41	8,530977	10,30905	4
<b>2</b>	2	9,01	0,41	8,124056	9,90212	4
<b>3</b>	3	6,79	0,41	5,904689	7,68276	4
<b>4</b>	4	0,79	0,41	-0,098465	1,67960	4

**Anexo 13A -19:** Cuadro de análisis de varianza

Tukey HSD test; variable VIAB-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,66597, df = 12,000 Include condition

	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>VIAB-T – Mean</b>	<b>c</b>	<b>b</b>	<b>a</b>
<b>4</b>	4	0,790569	****		
<b>3</b>	3	6,793724		****	
<b>2</b>	2	9,013090			****
<b>1</b>	1	9,420011			****

**Anexo N° 14.** Análisis de varianza efecto del día del experimento en cada tratamiento viabilidad.

**Anexo 14B -1:** Cuadro de análisis de varianza

	Degr. of - Freedom	VIAB-T – SS	VIAB-T - MS	VIAB-T - F	VIAB-T - p
<b>Intercept</b>	1	2627,349	2627,349	340873,6	0,000000
<b>DIAS</b>	7	0,489	0,081	10,6	0,000019
<b>Error</b>	21	0,162	0,008		
<b>Total</b>	27	0,651			

**Anexo 14B -2:** Cuadro de análisis de varianza

	DIAS	VIAB-T - Mean	VIAB-T - Std.Err.	VIAB-T - -95,00%	VIAB-T - +95,00%	N
1	2	9,81	0,04	9,719329	9,901905	4
2	3	9,80	0,04	9,706538	9,889114	4
3	4	9,75	0,04	9,655506	9,838083	4
4	5	9,66	0,04	9,564730	9,747306	4
5	6	9,59	0,04	9,499808	9,682385	4
6	7	9,42	0,04	9,328723	9,511299	4
7	1	9,79	0,04	9,693880	9,876456	4

**Anexo 14B -3:** Cuadro de análisis de varianza

Tukey HSD test; variable VIAB-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00771, df = 21,000 Include condition

	DIAS	VIAB-T – Mean	c	b	a
6	7	9,420011	****		
5	6	9,591096	****	****	
4	5	9,656018		****	****
3	4	9,746794		****	****
7	1	9,785168		****	****
2	3	9,797826			****
1	2	9,810617			****

**Anexo 14B -4:** Cuadro de análisis de varianza

	Degr. of - Freedom	VIAB-T - SS	VIAB-T - MS	VIAB-T - F	VIAB-T - p
<b>Intercept</b>	1	2574,950	2574,950	282343,8	0,000000
<b>DIAS</b>	7	1,859	0,310	34,0	0,000000
<b>Error</b>	21	0,192	0,009		
<b>Total</b>	27	2,050			

**Anexo 14B -5:** Cuadro de análisis de varianza

DIAS; Unweighted Means (matriz) Wilks lambda=.03440, F(12, 40)=14,640, p=.00000  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	DIAS	VIAB-T - Mean	VIAB-T - Std.Err.	VIAB-T - -95,00%	VIAB-T - +95,00%	N
1	2	9,75	0,05	9,647495	9,846094	4
2	3	9,75	0,05	9,647495	9,846094	4
3	4	9,73	0,05	9,634636	9,833235	4
4	5	9,63	0,05	9,530933	9,729532	4
5	6	9,46	0,05	9,359916	9,558515	4
6	7	9,01	0,05	8,913790	9,112390	4
7	1	9,80	0,05	9,698593	9,897192	4

#### Anexo 14B -6: Cuadro de análisis de varianza

Tukey HSD test; variable VIAB-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,00912, df = 21,000 Include condition

	DIAS	VIAB-T - Mean	c	b	a
6	7	9,013090	****		
5	6	9,459215		****	
4	5	9,630232		****	****
3	4	9,733936			****
2	3	9,746794			****
1	2	9,746794			****
7	1	9,797893			****

#### Anexo 14B -7: Cuadro de análisis de varianza

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective  
hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	VIAB-T - SS	VIAB-T - MS	VIAB-T - F	VIAB-T - p
Intercept	1	2353,947	2353,947	84723,77	0,000000
DIAS	7	27,470	4,578	164,78	0,000000
Error	21	0,583	0,028		
Total	27	28,053			

#### Anexo 14B -8: Cuadro de análisis de varianza

DIAS; Unweighted Means (matriz) Wilks lambda=.00668, F(12, 40)=37,450, p=0,0000  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	DIAS	VIAB-T - Mean	VIAB-T - Std.Err.	VIAB-T - -95,00%	VIAB-T - +95,00%	N
1	2	9,75	0,08	9,573474	9,920114	4
2	3	9,71	0,08	9,534830	9,881470	4
3	4	9,54	0,08	9,365645	9,712285	4
4	5	9,46	0,08	9,285895	9,632535	4
5	6	9,15	0,08	8,977406	9,324046	4

6	7	6,79	0,08	6,620404	6,967044	4
7	1	9,79	0,08	9,611714	9,958354	4

#### Anexo 14B -9: Cuadro de análisis de varianza

Tukey HSD test; variable VIAB-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,02778, df = 21,000 Include condition

	DIAS	VIAB-T - Mean	c	b	a
6	7	6,793724	****		
5	6	9,150726		****	
4	5	9,459215		****	****
3	4	9,538965			****
2	3	9,708150			****
1	2	9,746794			****
7	1	9,785034			****

#### Anexo 14B -10: Cuadro de análisis de varianza

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective  
hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	VIAB-T - SS	VIAB-T - MS	VIAB-T - F	VIAB-T - p
Intercept	1	1447,765	1447,765	3912,012	0,000000
DIAS	7	282,463	47,077	127,208	0,000000
Error	21	7,772	0,370		
Total	27	290,235			

#### Anexo 14B -11: Cuadro de análisis de varianza

DIAS; Unweighted Means (matriz) Wilks lambda=,00056, F(12, 40)=136,95, p=0,0000  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	DIAS	VIAB-T - Mean	VIAB-T - Std.Err.	VIAB-T - -95,00%	VIAB-T - +95,00%	N
1	2	9,73	0,30	9,101376	10,36650	4
2	3	9,63	0,30	8,998024	10,26314	4
3	4	8,94	0,30	8,309526	9,57465	4
4	5	6,98	0,30	6,347792	7,61291	4
5	6	4,47	0,30	3,839576	5,10470	4
6	7	0,79	0,30	0,158010	1,42313	4
7	1	9,79	0,30	9,152541	10,41766	4

#### Anexo 14B -12: Cuadro de análisis de varianza

Tukey HSD test; variable VIABILIDAD (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = 7,1429, df = 21,000 Include condition: tratamiento = 4

	DIAS	VIABILIDAD - Mean	e	d	c	b	a
--	------	-------------------	---	---	---	---	---

<b>6</b>	6	2,50000	****				
<b>5</b>	5	20,00000		****			
<b>4</b>	4	48,75000			****		
<b>3</b>	3	80,00000				****	
<b>2</b>	2	92,75000					****
<b>1</b>	1	94,75000					****
<b>7</b>	inicial	95,75000					****

**Anexo N° 15.** Análisis de varianza efecto del tratamiento por día de Experimento Motilidad.

**Anexo 15A -1:** Cuadro de análisis de varianza

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of Freedom	MOT-T - SS	MOT-T - MS	MOT-T - F	MOT-T - p
<b>Intercept</b>	1	1530,970	1530,970	625241,1	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	0,000	0,000	0,1	0,976011
<b>Error</b>	12	0,029	0,002		
<b>Total</b>	15	0,030			

**Anexo 15A -2:** Cuadro de análisis de varianza

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=,06776, p=,97601 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	TRATAMIENTO	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - - 95,00%	MOT-T - +95,00%	N
<b>1</b>	1	9,79	0,02	9,731260	9,839075	4
<b>2</b>	2	9,79	0,02	9,731194	9,839009	4
<b>3</b>	3	9,77	0,02	9,718335	9,826150	4
<b>4</b>	4	9,79	0,02	9,731194	9,839009	4

**Anexo 15A -3:** Cuadro de análisis de varianza

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of Freedom	MOT-T - SS	MOT-T - MS	MOT-T - F	MOT-T - p
<b>Intercept</b>	1	1523,977	1523,977	2000316	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	0,014	0,005	6	0,008296
<b>Error</b>	12	0,009	0,001		
<b>Total</b>	15	0,023			

**Anexo 15A -4:** Cuadro de análisis de varianza

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=6,2817, p=,00830 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	TRATAMIENTO	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - - 95,00%	MOT-T - +95,00%	N
<b>1</b>	1	9,81	0,01	9,780547	9,840687	4
<b>2</b>	2	9,75	0,01	9,716725	9,776864	4
<b>3</b>	3	9,75	0,01	9,716725	9,776864	4
<b>4</b>	4	9,73	0,01	9,703866	9,764005	4

**Anexo 15A -5: Cuadro de análisis de varianza**

Tukey HSD test; variable MOT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00076, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	MOT-T - Mean	b	a
4	4	9,73	****	
3	3	9,75	****	
2	2	9,75	****	
1	1	9,81		****

**Anexo 15A -6: Cuadro de análisis de varianza**

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of Freedom	MOT-T - SS	MOT-T - MS	MOT-T - F	MOT-T - p
Intercept	1	1511,915	1511,915	722143,9	0,000000
TRATAMIENTO	3	0,060	0,020	9,5	0,001718
Error	12	0,025	0,002		
Total	15	0,085			

**Anexo 15A -7: Cuadro de análisis de varianza**

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=9,4939, p=,00172 Effective hypothesis decomposition Include condition:

	TRATAMIENTO	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - -95,00%	MOT-T - +95,00%	N
1	1	9,80	0,02	9,747979	9,847673	4
2	2	9,75	0,02	9,696947	9,796642	4
3	3	9,71	0,02	9,658302	9,757997	4
4	4	9,63	0,02	9,580737	9,680431	4

**Anexo 15A -8: Cuadro de análisis de varianza**

Tukey HSD test; variable MOT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00209, df = 12,000 Include condition:

	TRATAMIENTO	MOT-T - Mean	b	a
4	4	9,630584	****	
3	3	9,708150	****	****
2	2	9,746794		****
1	1	9,797826		****

**Anexo 15A -9: Cuadro de análisis de varianza**

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of Freedom	MOT-T - SS	MOT-T - MS	MOT-T - F	MOT-T - p
<b>Intercept</b>	1	1441,097	1441,097	90531,25	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	1,712	0,571	35,85	0,000003
<b>Error</b>	12	0,191	0,016		
<b>Total</b>	15	1,903			

### Anexo 15A -10: Cuadro de análisis de varianza

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=35,854, p=,00000 Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMIENTO	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - - 95,00%	MOT-T - +95,00%	N
1	1	9,75	0,06	9,609347	9,884242	4
2	2	9,73	0,06	9,596488	9,871383	4
3	3	9,54	0,06	9,401517	9,676412	4
4	4	8,94	0,06	8,804638	9,079533	4

### Anexo 15A -11: Cuadro de análisis de varianza

Tukey HSD test; variable MOT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,01592, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	MOT-T - Mean	b	a
4	4	8,942086	****	
3	3	9,538965		****
2	2	9,733936		****
1	1	9,746794		****

### Anexo 15A -12: Cuadro de análisis de varianza

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition: dias = 5

	Degr. of Freedom	MOT-T - SS	MOT-T - MS	MOT-T - F	MOT-T - p
<b>Intercept</b>	1	1276,334	1276,334	56411,71	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	20,394	6,798	300,47	0,000000
<b>Error</b>	12	0,272	0,023		
<b>Total</b>	15	20,666			

**Anexo 15A -13: Cuadro de análisis de varianza**

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=300,47, p=,00000  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMIENTO	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - - 95,00%	MOT-T - +95,00%	N
1	1	9,66	0,08	9,492153	9,819884	4
2	2	9,63	0,08	9,466367	9,794098	4
3	3	9,46	0,08	9,295350	9,623081	4
4	4	6,98	0,08	6,816486	7,144217	4

**Anexo 15A -14: Cuadro de análisis de varianza**

Tukey HSD test; variable MOT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,02263, df = 12,000 Include condition:

	TRATAMIENTO	MOT-T - Mean	b	a
4	4	6,980352	****	
3	3	9,459215		****
2	2	9,630232		****
1	1	9,656018		****

**Anexo 15A -15: Cuadro de análisis de varianza**

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition:

	Degr. of Freedom	MOT-T - SS	MOT-T - MS	MOT-T - F	MOT-T - p
<b>Intercept</b>	1	1067,536	1067,536	66272,76	0,000000
<b>TRATAMIENTO</b>	3	73,270	24,423	1516,21	0,000000
<b>Error</b>	12	0,193	0,016		
<b>Total</b>	15	73,464			

**Anexo 15A -16: Cuadro de análisis de varianza**

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=1516,2, p=,00000  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	TRATAMIENTO	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - - 95,00%	MOT-T - +95,00%	N
1	1	9,59	0,06	9,452831	9,729362	4
2	2	9,46	0,06	9,320950	9,597481	4
3	3	9,15	0,06	9,012461	9,288992	4
4	4	4,47	0,06	4,333870	4,610401	4

**Anexo 15A -17: Cuadro de análisis de varianza**

Tukey HSD test; variable MOT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,01611, df = 12,000 Include condition

	TRATAMIENTO	MOT-T - Mean	c	b	a
4	4	4,472136	****		
3	3	9,150726		****	
2	2	9,459215			****
1	1	9,591096			****

**Anexo 15A -18: Cuadro de análisis de varianza**

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of Freedom	MOT-T - SS	MOT-T - MS	MOT-T - F	MOT-T - p
Intercept	1	676,9048	676,9048	1016,414	0,000000
TRATAMIENT O	3	190,1035	63,3678	95,151	0,000000
Error	12	7,9917	0,6660		
Total	15	198,0952			

**Anexo 15A -19: Cuadro de análisis de varianza**

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=95,151, p=,00000  
Effective hypothesis decomposition Include condition:

	TRATAMIENT O	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - - 95,00%	MOT-T - +95,00%	N
1	1	9,42	0,41	8,530977	10,30905	4
2	2	9,01	0,41	8,124056	9,90212	4
3	3	6,79	0,41	5,904689	7,68276	4
4	4	0,79	0,41	-0,098465	1,67960	4

**Anexo 15A -20: Cuadro de análisis de varianza**

TRATAMIENTO; Unweighted Means (matriz) Current effect: F(3, 12)=95,151, p=,00000  
Effective hypothesis decomposition Include condition:

	TRATAMIENT O	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - - 95,00%	MOT-T - +95,00%	N
1	1	9,42	0,41	8,530977	10,30905	4
2	2	9,01	0,41	8,124056	9,90212	4
3	3	6,79	0,41	5,904689	7,68276	4
4	4	0,79	0,41	-0,098465	1,67960	4

**Anexo 15A -20: Cuadro de análisis de varianza**

Tukey HSD test; variable MOT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,66597, df = 12,000 Include condition

	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>MORB-T - Mean</b>	<b>c</b>	<b>b</b>	<b>a</b>
<b>4</b>	4	0,790569	****		
<b>3</b>	3	6,793724		****	
<b>2</b>	2	9,013090			****
<b>1</b>	1	9,420011			****

**Anexo Nº 16.** Análisis de varianza efecto del día del experimento en cada tratamiento motilidad.

**Anexo 16B -1:** Cuadro de análisis de varianza

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	MOT-T - SS	MOT-T - MS	MOT-T - F	MOT-T - p
<b>Intercept</b>	1	2627,349	2627,349	340873,6	0,000000
<b>DIAS</b>	7	0,489	0,081	10,6	0,000019
<b>Error</b>	21	0,162	0,008		
<b>Total</b>	27	0,651			

**Anexo 16B -2:** Cuadro de análisis de varianza

DIAS; Unweighted Means (matriz) Wilks lambda=,16653, F(12, 40)=4,8351, p=,00008 Effective hypothesis decomposition Include condition						
	DIAS	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - -95,00%	MOT-T - +95,00%	N
<b>1</b>	2	9,81	0,04	9,719329	9,901905	4
<b>2</b>	3	9,80	0,04	9,706538	9,889114	4
<b>3</b>	4	9,75	0,04	9,655506	9,838083	4
<b>4</b>	5	9,66	0,04	9,564730	9,747306	4
<b>5</b>	6	9,59	0,04	9,499808	9,682385	4
<b>6</b>	7	9,42	0,04	9,328723	9,511299	4
<b>7</b>	1	9,79	0,04	9,693880	9,876456	4

**Anexo 16B -3:** Cuadro de análisis de varianza

Tukey HSD test; variable MOT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,00771, df = 21,000 Include condition					
	DIAS	MOT-T - Mean	c	b	a
<b>6</b>	7	9,420011	****		
<b>5</b>	6	9,591096	****	****	
<b>4</b>	5	9,656018		****	****
<b>3</b>	4	9,746794		****	****
<b>7</b>	1	9,785168		****	****
<b>2</b>	3	9,797826			****
<b>1</b>	2	9,810617			****

**Anexo 16B -4:** Cuadro de análisis de varianza

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition					
	Degr. of - Freedom	MOT-T - SS	MOT-T - MS	MOT-T - F	MORB-T - p
<b>Intercept</b>	1	2573,969	2573,969	279382,1	0,000000

<b>DIAS</b>	7	1,838	0,306	33,2	0,000000
<b>Error</b>	21	0,193	0,009		
<b>Total</b>	27	2,031			

#### Anexo 16B -5: Cuadro de análisis de varianza

DIAS; Unweighted Means (matriz) Wilks lambda=,03759, F(12, 40)=13,860, p=,00000  
Effective hypothesis decomposition Include condition

	DIAS	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - -95,00%	MOT-T - +95,00%	N
1	2	9,75	0,05	9,646989	9,846600	4
2	3	9,75	0,05	9,646989	9,846600	4
3	3	9,73	0,05	9,634130	9,833741	4
4	4	9,63	0,05	9,530427	9,730038	4
5	5	9,46	0,05	9,359410	9,559021	4
6	6	9,01	0,05	8,913284	9,112896	4
7	1	9,79	0,05	9,685296	9,884907	4

#### Anexo 16B -6: Cuadro de análisis de varianza

Tukey HSD test; variable MOT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,00921, df = 21,000 Include condition

	DIAS	MOT-T - Mean	c	b	a
6	7	9,013090	****		
5	6	9,459215		****	
4	5	9,630232		****	****
3	4	9,733936			****
2	3	9,746794			****
1	2	9,746794			****
7	1	9,785101			****

#### Anexo 16B -7: Cuadro de análisis de varianza

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	MOT-T - SS	MOT-T - MS	MOT-T - F	MOT-T - p
<b>Intercept</b>	1	2353,009	2353,009	84597,10	0,000000
<b>DIAS</b>	6	27,407	4,568	164,23	0,000000
<b>Error</b>	21	0,584	0,028		
<b>Total</b>	27	27,991			

**Anexo 16B -8:** Cuadro de análisis de varianza

DIAS; Unweighted Means (matriz) Wilks lambda=,00682, F(12, 40)=37,030, p=0,0000 Effective hypothesis decomposition Include condition

	DIAS	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - -95,00%	MOT-T - +95,00%	N
1	2	9,75	0,08	9,573379	9,920209	4
2	3	9,71	0,08	9,534735	9,881565	4
3	4	9,54	0,08	9,365550	9,712380	4
4	5	9,46	0,08	9,285800	9,632630	4
5	6	9,15	0,08	8,977311	9,324141	4
6	7	6,79	0,08	6,620309	6,967139	4
7	1	9,77	0,08	9,598828	9,945658	4

**Anexo 16B-9:** Cuadro de análisis de varianza

Tukey HSD test; variable MOT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = ,02781, df = 21,000 Include condition

	DIAS	MORB-T - Mean	c	b	a
6	7	6,793724	****		
5	6	9,150726		****	
4	5	9,459215		****	****
3	4	9,538965			****
2	3	9,708150			****
1	2	9,746794			****
7	1	9,772243			****

**Anexo 16B -10:** Cuadro de análisis de varianza

Univariate Results for Each DV (matriz) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition Include condition

	Degr. of - Freedom	MOT-T - SS	MOT-T - MS	MOT-T - F	MOT-T - p
Intercept	1	1447,765	1447,765	3912,012	0,000000
DIAS	7	282,463	47,077	127,208	0,000000
Error	21	7,772	0,370		
Total	27	290,235			

**Anexo 16B -11:** Cuadro de análisis de varianza

DIAS; Unweighted Means (matriz) Wilks lambda=,00056, F(12, 40)=136,95, p=0,0000 Effective hypothesis decomposition Include condition

	DIAS	MOT-T - Mean	MOT-T - Std.Err.	MOT-T - -95,00%	MOT-T - +95,00%	N
1	2	9,73	0,30	9,101376	10,36650	4
2	3	9,63	0,30	8,998024	10,26314	4
3	4	8,94	0,30	8,309526	9,57465	4

4	5	6,98	0,30	6,347792	7,61291	4
5	6	4,47	0,30	3,839576	5,10470	4
6	7	0,79	0,30	0,158010	1,42313	4
7	11	9,79	0,30	9,152541	10,41766	4

### Anexo 16B -12: Cuadro de análisis de varianza

Tukey HSD test; variable MOT-T (matriz) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error:  
Between MS = ,37008, df = 21,000 Include condition

	DIAS	MOT-T - Mean	d	c	b	a
6	7	0,790569	****			
5	6	4,472136		****		
4	5	6,980352			****	
3	4	8,942086				****
2	3	9,630584				****
1	2	9,733936				****
7	1	9,785101				****