



**UNIVERSIDAD LAICA ELOY ALFARO DE MANABÍ**  
**EXTENSIÓN EL CARMEN**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**  
Creada Ley No 10 – Registro Oficial 313 de Noviembre 13 de 1985



**PORTADA**

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**


TRABAJO EXPERIMENTAL PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
INGENIERO AGROPECUARIA

**“Morfometría espermática del toro criollo manabita”**

**AUTOR:** Loor Parraga Nel Alexander

**TUTOR:** Ing. Campos Vera Roberto Jacinto

El Carmen, enero del 2022.

	<b>NOMBRE DEL DOCUMENTO:</b> <b>CERTIFICADO DE TUTOR(A)</b>	<b>CÓDIGO: PAT-01-F-010</b>
	<b>PROCEDIMIENTO: TITULACIÓN DE ESTUDIANTES DE GRADO</b>	<b>REVISIÓN: 2</b>
		Página i de 52

## CERTIFICACIÓN.

En calidad de docente tutor de la Extensión El Carmen, carrera de Ingeniería Agropecuaria de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, certifico:

Haber dirigido y revisado el trabajo de titulación, cumpliendo el total de 440 horas, bajo la modalidad de proyecto de investigación, cuyo tema del proyecto es “Morfometría espermática del toro criollo manabita”, el mismo que ha sido desarrollado de acuerdo a los lineamientos internos de la modalidad en mención y en apego al cumplimiento de los requisitos exigidos por el Reglamento de Régimen Académico, por tal motivo CERTIFICO, que el mencionado proyecto reúne los méritos académicos, científicos y formales, suficientes para ser sometido a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

La autoría del tema desarrollado corresponde al señor **Loor Parraga Nel Alexander**, estudiante de la carrera de Ingeniería Agropecuaria, período académico 2021 (2), quien se encuentra apta para la sustentación de su trabajo de titulación.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de Ley en contrario.

El Carmen, 28 de enero del 2022.

Lo certifico,

Ing. Campos Vera Roberto Jacinto

**Docente Tutor**

**Área:** Agricultura, Silvicultura, Pesca y Veterinaria.

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, Loor Parraga Nel Alexander con cédula de ciudadanía 093206130-2, egresada de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí Extensión El Carmen, de la carrera de Ingeniería Agropecuaria declaro bajo juramento que las opiniones, criterios y resultados encontrados con la aplicación de los diferentes instrumentos de investigación, que están resumidas en las recomendaciones y conclusiones de la presente investigación con el tema “**Morfometría espermática del toro criollo manabita**”, es información exclusiva del autor apoyado con los criterios de autores profesionales de diferentes índoles presentado en las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento que fundamenta este trabajo investigativo.

A través de la presente declaro que el patrimonio intelectual correspondiente a este trabajo bajo la modalidad de proyecto de investigación, según la ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente pertenece a la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí Extensión El Carmen.

---

Loor Parraga Nel Alexander

**AUTOR**

**UNIVERSIDAD LAICA "ELOY ALFARO" DE MANABÍ**  
**EXTENSIÓN EL CARMEN**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TÍTULO:**

MORFOMETRIA ESPERMATICA DEL TORO CRIOLLO MANABITA.

**AUTOR:** Nel Alexander Loor Parraga

**TUTOR:** Ing. Campos Vera Roberto Jacinto

**TRABAJO EXPERIMENTAL PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**  
**INGENIERO AGROPECUARIA**

**TRIBUNAL DE TITULACIÓN**

**MIEMBRO** \_\_\_\_\_

**MIEMBRO** \_\_\_\_\_

**MIEMBRO** \_\_\_\_\_

## **DEDICATORIA.**

Este trabajo está dedicado a los lectores que buscan conocer los beneficios del análisis del seminal morfológicos, que quieren comparar datos de laboratorio en la preservación del ganado criollo manabita.

## **AGRADECIMIENTO.**

En primer lugar le agradezco a DIOS por haberme permitido tener la motivación de querer superarme porque sin Dios nada es posible, segundo le agradezco a mi madre Rosario Parraga por siempre aconsejarme y apoyarme en querer poder hacer las cosas bien para ser un profesional educándome desde muy temprana edad, a mis familiares que me dieron también un granito de arena cuando más lo necesitaba y a mi gran amiga Silvana que me ayudo emocionalmente en poder terminar la carrera y por las impresiones que más ocupaba para terminar mi documento.

## RESUMEN.

Esta investigación se llevó a cabo en la provincia de Manabí, por lo que fue objeto de estudios el semen del toro criollo manabita en la cual se hizo una revisión bibliográfica en la que se habla de donde descendiendo el toro criollo manabita y donde se originó. Esta investigación tiene un análisis descriptivo para ello se obtuvo pajuelas criopreservadas de esta especie para así tener una base de la especie que por años se ha venido perdiendo y mezclando con otros genes. Para ello se ha determinado la morfometría espermática para saber que conllevan tener criopreservado el semen del toro como es las variables de motilidad, vitalidad, morfología y anormalidades que tienen las 10 pajuelas estudiadas, separando en 5 muestras dos pajuelas en cada muestra en el laboratorio de Bossgen que está ubicado en la provincia de Machachi y ahí se pudo evidencia por medio del método CASA que la motilidad tiene un movimiento singular o esporádico y ninguna actividad de masa con un 15% siendo una motilidad regular, así mismo se pudo evidenciar por el método de tinción vital, cuando la membrana plasmática tiene una ruptura se muestra de color rojo los espermatozoides muertos, teniendo un 10% de promedio de ellos y para la morfología y anormalidades espermática separamos en dos grupos las 10 pajuelas, se evidencio por el método de tinción con un promedio de 2.5% en cabeza, 5% de pieza media y 6% en la cola por lo que vienen siendo anormalidades primarias menores que son cuando se presentan en los testículos.

**Palabras clave:** **acrosoma;** membrana de doble capa ubicado en la capa apical de la cabeza espermática, **anormalidades;** característica descriptiva de forma subjetiva. **Eumétrico:** término utilizado para definir en las distintas especies un volumen medio

## **ABSTRACT.**

This investigation was carried out in the province of Manabí, for which the semen of the Manabí Creole bull was studied, in which a bibliographical review was made in which it is discussed where the Manabí Creole bull descended and where it originated. In this research, it has a descriptive analysis in knowing how good it is to cryopreserve the straws of this species in order to have a species base that for years has been lost and mixed with other genes. For this, sperm morphometry has been determined to investigate the causes and effects of having the bull's semen cryopreserved, such as motility, vitality, morphology and anomalies that the 10 straws studied have, in this we can separate them into 5 samples, two straws in each sample by taking them to the Bossgen laboratory which is located in the province of Machachi and there it was possible to demonstrate through the CASA method that the motility has a singular or sporadic movement and no mass activity with 15% being a regular motility, likewise could be evidenced by the vital staining method, when the plasma membrane has a rupture, the dead spermatozoa are shown in red, having an average of 10% of them and for sperm morphology and abnormalities we separated the 10 straws into two groups, it was evidenced by the staining method they have an average of 2.5% in the head, 5% in the middle piece and 6% in the tail, so they are the norm minor primary cities that are when they occur in the testicles.

Keywords: acrosome; double-layer membrane located in the apical layer of the sperm head, abnormalities; descriptive characteristic subjectively.



## ÍNDICE DE CONTENIDO.

PORTADA.....	I
CERTIFICACIÓN.....	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTO.....	v
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	4
1. MARCO TEÓRICO.....	4
1.1. Antecedentes del toro criollo manabita.....	4
1.2. Bases Teóricas.....	4
1.3. Característica del ganado criollo.....	5
1.4. Características del ganado criollo Manabita.....	5
1.5. Características fenotípicas del toro criollo.....	7
1.5.1. Jaspeado Manabita.....	7
1.6. Producción y calidad seminal.....	8
1.6.1. El semen.....	8
1.6.2. Donde se produce el semen.....	8

1.7.	Calidad espermática. ....	8
1.7.1.	Preparación a la pre-electroeyaculador. ....	9
1.7.2.	Valoración de la calidad espermática. ....	11
1.8.	Métodos para evaluar la calidad espermática. ....	11
1.8.1.	Evaluación Microscópica. ....	11
1.8.2.	Motilidad espermática. ....	12
1.8.3.	Motilidad Masal. ....	13
1.8.4.	Movilidad Individual. ....	14
1.9.	Vitalidad. ....	15
1.10.	Morfología. ....	16
1.11.	Morfología y anormalidades. ....	19
1.11.1.	Anomalías que afectan a la calidad seminal. ....	20
CAPÍTULO II.....		22
2.	MATERIALES Y MÉTODOS. ....	22
2.1.	Materiales Químicos ....	22
2.2.	Materiales Físicos. ....	22
2.3.	Unidad de estudio. ....	23
2.4.	Localización del experimento. ....	23
2.5.	Características Agroecológicas. ....	24
2.6.	Fase de Laboratorio. ....	24

2.7. Marco Procedimental .....	24
2.8. Nivel Empírico .....	25
CAPÍTULO III.....	27
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....	27
3.1. Motilidad. ....	27
<i>Fuente: Elaboración propia.....</i>	27
<p>Los resultados obtenidos en motilidad no son estadísticamente significativos en relación a los resultados obtenidos al 95% de probabilidad. Por lo tanto, según (Moncayo, 2016) describe que para evaluar la motilidad se usa una escala de 1 a 5, evaluando como 1 al semen que no presenta ondas y 5 cuando las ondas se mueven rápidamente formando remolinos. Por lo tanto comparando con la figura 1 los resultados fueron movimientos singulares o esporádicos y ninguna actividad de masa siendo unos espermatozoides regulares. ....</p>	
3.2. Vitalidad .....	28
3.3. Morfología y Anormalidades. ....	29
4. CONCLUSIONES. ....	31
5. RECOMENDACIONES. ....	32
6. BIBLIOGRAFÍA. ....	33
7. ANEXOS .....	36
ANEXOS .....	36

## ÍNDICE DE TABLA

Tabla I. Datos obtenidos de motilidad espermática. ....	27
Tabla II. Datos obtenidos de la Vitalidad en su porcentaje. ....	28
Tabla III. Grupo 1 .....	29
Tabla IV. Grupo 2.....	30

## ÍNDICE DE ANEXO

Anexo 1. Llenando del nitrógeno líquido. ....	37
Anexo 2. Compra de pajuelas .....	37
Anexo 3. Laboratorio de Bossgen en Machachi. ....	38
Anexo 4. Resultados de análisis del Laboratorio Bossgen. ....	39

## **INTRODUCCIÓN.**

Los toros criollos, es una especie por la cual tienen algunas características buenas como por ejemplo: un flujo materno, excepcional rusticidad y una alta capacidad de aprovechamiento cuando hay escases y variedad de vegetación natural por la cual requiere una menor exigencia a las técnicas de manejo en crianzas. (Aguirre, 2012), Señala que el bovino criollo es valioso por su rusticidad, por lo cual se puede utilizar como un animal de triple propósito: Carne, Leche y trabajo. Dependiendo de las perspectiva y condiciones adversas de crianza se puede criar en pastizales secos y bajo en minerales ya que sus índices de producir se adaptan y son aceptables, por lo cual es por ellos el estudio de mantener el desarrollo ganadero en el país.

La expansión de razas mejoradas a lo largo del desarrollo de todo el país y la expansión de las razas nativas criollas, es gracias al incremento de la población y su expansión hacia ciudades con la finalidad de ir mejorando genéticamente y a la vez ir conservando su valoración a la adaptación para la intensificación de los sistemas de producción. (Cevallos Falquez, 2016), señalan que con la implementación de herramientas mejoradas de gen estas vienen siendo un papel importante para las estrategias que permiten ir mejorando las especies deseadas y maximizar su éxito.

La presente investigación está enfocada al estudio de la morfometría espermática del toro criollo manabita, por lo tanto, se quiere conocer por este estudio la motilidad, vitalidad, anormalidades y morfología en su semen que pueda impedir el buen desarrollo del ovocito fecundado.

Dicho esto, según (Taipe Taipe, 2015), señala que el bovino criollo, es una especie que está al borde de la extinción, esto se debe a que han entrado de otras especies de localización europea, cuya expectativa fue incrementando la producción de leche e ingresos económicos. También por la cual causa la pérdida de esta especie que son: a) la exigencia del mercado, b) los cruzamientos de otras razas, c) la destrucción del hábitat, d) desastres naturales, e) políticas que exigen cambio, pero no mantienen a largo plazo, f) globalización que desconocen los mercados internacionales con el beneficio que promueven.

Por lo tanto, no se conocen los beneficios de producción y es más los de producción y en este último lleva un papel importante y menciona este estudio de la eficiencia reproductiva que se mide con la producción y calidad espermática. (Taipe Taipe, 2015).

El manejo y fertilidad de los toros son de vital importancia para los ganaderos, por su posible responsabilidad en los rebaños. Debido a esto los métodos modernos, al mismo tiempo dejaron de implementarlos y la producción aumentó, y esto hizo que los productores por desconocimiento abandonaran la explotación de estas dichas razas criollas y fueron relacionándolas con otras razas de alta producción que ocasionó una pérdida de bovino criollo y variabilidad de genes con otras razas.

Desde hace mucho(Katz, 1981), señala que han dedicado arduo trabajo y muchos recursos para intentar eliminar subjetividad inherente a la evaluación microscópica en la calidad del semen.

Es por ello que esas investigaciones han ido desarrollando en los sistemas computarizados (CASA) para el cual el análisis de esperma, permitiendo el estudio de múltiples características funcionales y morfológicas de los espermatozoides, intentando predecir la capacidad fecundante del semen de la forma más objetiva posible y es por eso los siguientes objetivos de dicha investigación

**Objetivo general.**

Determinar la morfometría espermática del toro criollo Manabita.

**Objetivos específicos.**

- Analizar y comparar la motilidad espermática del toro criollo Manabita.
- Analizar y comparar la vitalidad espermática del toro criollo Manabita.
- Observar la morfología y determinar las anormalidades espermáticas del toro criollo Manabita.

## **CAPÍTULO I**

### **1. MARCO TEÓRICO.**

#### **1.1. Antecedentes del toro criollo manabita.**

El toro criollo desciende directamente de los animales que llegaron a la isla que actualmente conforman República Dominicana y Haití en 1493 con motivo del segundo viaje de Colón, extendiéndose posteriormente por todo el continente americano. (Orly Cevallos-Falquez1, 2016).

El Ganado Vacuno viene descendiendo de los españoles en la época de la conquista. Llegaron a Ecuador en el año 1532, la primera, a partir de animales provenientes de las Antillas que se extendieron por Venezuela, Colombia, Ecuador y Perú, asentándose finalmente en las regiones de sierra en Ecuador (Catena, 2015).

#### **1.2. Bases Teóricas.**

Existen en el país zonas que varían con alturas de 1500 a 3000 msnm, por la cual la producción forrajera es escasa y la mezcla por pastos naturales. Los animales de razas criollas que viven en estas zonas se han adaptado, gracias al mal manejo que le brindan es lo que afecta su calidad productiva y reproductiva. Por lo tanto, las cualidades de estas razas son; su buen instinto materno, rusticidad y una buena capacidad que aprovechan la escases de alimento que existen en



diferentes zonas, por lo que hace que requiera un manejo menos técnico y crianza. (Mejía Gutiérrez, 2014)

### **1.3. Característica del ganado criollo.**

Son animales de naturaleza manso, pequeño, largo, que tiene bajo peso por el ambiente en que habita, por sus medidas e índices. Esta raza en la zona de Manabí también se utiliza para triple propósito; leche, carne y como animal de trabajo, también es de recalcar una alta productividad de capacidad genética y eficiencia al producir, además es destacada por sus bajas tasas de dificultad al parto y alta viabilidad, excelentes en su habitud materna y producción de leche en condiciones de pasto sin suplementos. (2016).

El ganado criollo es el resultado durante años del proceso selectivo de razas soportado durante cinco siglos por la descendencia del ganado llegado a América procedente de la península Ibérica, Bajo la presión en la mezcla natural, originando genes que se caracterizan por su adaptación y calidad biológica de estos animales en la zona. (Perezgrovas, R., Vázquez, D., Rodríguez, G., Y Galdámez, D, 2011).

### **1.4. Características del ganado criollo Manabita.**

El ganado criollo manabita lleva un perfil fronto-nasal rectilíneo, eumétrico, generalmente de capa en sus distintos matices, como se encuentran en criollos negros, blancos, bayos y

jaspeados, tienen el pelaje corto, liso, mucosas y pezuñas pigmentadas, los cuernos nacen por delante de la línea de la nuca, orejas medianas en posición horizontal, pliegues de la papada continua o discontinua, con ausencia de giba y de pliegue umbilical. (Cevallos Falquez. O., 2016)

Así mismo (Cevallos Falquez, 2016) , Señala que las características fanerópticas en el ganado criollo manabita encontraron la predominancia de cuernos tipo proceros, tiene una presencia de animales con cuernos de tipo lira y en menor cuantía de tipo espiral. Después, prevalecieron las capas monocolors, seguidas por capas bicolors y se pudo evidenciar la existencia de capas de tipo tricolor. No obstante, predominó la coloración base de la capa en rojo en más de 80% de los casos, que continuo con los tipos de color castaño, bayo, berrendo en colorado y colorado propiamente dicho, mientras que las capas con color base en blanco, en negro y en jaspeado fueron escasos. También presentaron pigmentación intensa en mucosas y pezuñas, siendo una minoría de animales en los que se Observó escasa o nula pigmentación.

También la existencia de pelo corto y fino en la totalidad de los animales analizados, así como también ausencia de morrillo o giba y de pliegue umbilical en todos los ejemplares analizados, lo que confirmó la escasa influencia de genotipos cebuinos en esta fue de tipo discontinuo, a semejanza de la mayor parte de las razas autóctonas ibéricas adaptadas a climas cálidos, y pocas de tipo continuo, como tipología más propia del ganado criollo cebuino. Por último, la borla de la cola fue generalmente de tipo mediano, en menor medida de tipo pequeño y minotariamente de tipo grande. (Cevallos Falquez, 2016).

## **1.5. Características fenotípicas del toro criollo.**

El toro tiene una conformación más carnífera y es de mayor tamaño, oscilando su peso entre 600 y 800 kg, lo que confirma la existencia de un claro dimorfismo sexual. El macho reproductor, en el ganado bovino, tiene un papel fundamental, dependiendo particularmente del método que se utilice puede también servir a varias hembras y mucho más si se utilizan las técnicas de biotecnología. (De Alba, 2011)

### **1.5.1. Jaspeado Manabita.**

Hay Bovinos que se encuentran con manchas blancas en el vientre y extremidades oscuras y llegan hasta encima de los corvejones y rodillas, con cabeza y mucosa oscuras, hocico, morro, orejas, cascos, borla de cola y también en el extremo del escroto pigmentado o negro, la lengua y los cuernos pueden ser pigmentados.

La cabeza bien proporcionada, primigenia de tamaño mediano y fina, con cuernos largos en forma de lira, media luna o corona, que pueden o no ser pigmentados. Perfil recto, cara magra y expresiva frente ancha y recta, ojos vivos con arrugas alrededor de las órbitas, morro puede o no ser pigmentado, cuello fuerte y de longitud mediana que le da apariencia delgada.

## **1.6. Producción y calidad seminal.**

### **1.6.1. El semen.**

Es un líquido viscoso y blanquecino donde se encuentran los espermatozoides y son reputados como la células más especializada de todas, la particularidad de tener una cabeza la cual contiene la información genómica, una pieza media con mitocondrias que da movilidad al flagelo, son propiedad que dan una variedad morfológica entre las especies, no todos los espermatozoides son iguales ya que no todos tienen el mismo proceso de capacitación y reacción acrosomal al mismo tiempo dentro del aparato reproductor de la hembra. Por ello es importante conocer los procesos que sufren los espermatozoides desde su producción hasta los cambios bioquímicos que desencadenan la interacción con el ovocito para dar lugar a la fertilización. (Rodríguez, 2014)

### **1.6.2. Donde se produce el semen.**

Los testículos producen espermatozoides y liberan a la sangre hormonas sexuales masculinas (testosterona). Un sistema de conductores que incluyen el epidídimo y los conductores deferentes guardan los espermatozoides y los conducen al exterior a través del pene. El semen está compuesto por los espermatozoides producidos por el testículo y diversas secreciones de las glándulas sexuales accesorias que son la próstata y la glándula bulbo uretrales. (Roman, 2014)

## **1.7. Calidad espermática.**

Se define a una buena calidad de espermatozoide a la buena capacidad que tienen al desplazarse desde el sitio de su posición del semen hasta el sitio de la fertilización, para penetrar

en un ovocito y activarlo para desarrollar un embrión. Se puede definir en términos de motilidad, morfología, integridad de la membrana plasmática, actividad metabólica y capacidad de reacción del acrosoma, entre otros. (Mocé, 2008)

La calidad del semen, se refiere a la capacidad fecundante aceptable biológica y productivamente. Por ellos, uno de los objetivos prioritarios de la inseminación artificial ha sido la predicción de la capacidad fecundante del semen comercializado. Es así, que a lo largo del tiempo ha venido sucediendo un desarrollo con diferentes métodos de diagnósticos para predecir esta capacidad del semen.

Para ello se ha recurrido como medidas de la motilidad, del volumen, de la concentración y de la morfología espermática como medidas básicas de la posible actitud fecundante de un eyaculado. Pero a estas metodologías simples se han agregado otras más complejas y en principio con mayor capacidad de predicción hasta la más actuales como la contratación de semen bovino congelado mediante sistemas de análisis computarizado, citometría de flujo y test de funcionalidad espermática basada en la fecundación in vitro. (Muiñoz Otero, 2008)

### **1.7.1. Preparación a la pre-electroeyaculador.**

Antes de utilizar el electroeyaculador se debe tener preparado el animal, se debe cortar el vello del prepucio, limpiar la zona del pene, del recto y estimular mediante masaje transrectal y posteriormente introducir la sonda por el recto. (Arieta R. F., 2014). Es necesario disponer de una

manga de manejo o de un muelco de contención lo suficiente resistente y seguro para movilizar al animal y de ser necesario con un suelo estriado o antideslizante para evitar caídas durante la estimulación. (De la Fuente, 1994)

El electro eyaculador no es más que un electrodo conectado a una batería que genera estimulaciones rítmicas provocadas por estímulos eléctricos con una carga no mayor a 20 voltios y entre 0 y 1000 miliamperios. (Lopez, 2014). Al momento del manejo del electroeyaculador se debe colocar el electrodo sobre unas ampollas de Henle y las glándulas vesiculares. Es importante que el electrodo se ajuste contra el ano y moverlo hacia adelante y atrás, de esta manera se aplica el estímulo eléctrico sobre los centros nerviosos que producen la erección y la eyaculación. (Barrios, 2002).

Al inicio la intensidad de los estímulos accionados debe ser mínima y se deben ir incrementando paulatinamente hasta que se produzca la eyaculación, por lo tanto, cada estímulo debe durar al menos de un segundo y se deben aplicar entre 5 y 10 estímulos por cada grado de intensidad. (Morillos, 2012).

Por lo tanto, dicho esto, es importante considerar el intervalo de recolección seminal, debido a que, una baja frecuencia puede afectar la motilidad y vitalidad espermática, en cambio, una alta frecuencia puede afectar la concentración y madurez. Estudios en la raza Holstein sugieren una frecuencia de recolecta de dos veces por semana. (Morillos, 2012).

### **1.7.2. Valoración de la calidad espermática.**

Por lo general la calidad espermática se emplea, como predicción para evaluar la calidad de los espermatozoides y de la fertilidad del macho y aunque el mejor sistema para determinarlo sería estimar el porcentaje de gestación que se obtiene tras inseminar un determinado número de hembras, normalmente se recurre a la evaluación en condiciones de laboratorio de una serie de parámetros relacionados con la fertilidad. (Mejía Gutiérrez, 2014)

El éxito del diagnóstico del semen en toros, se debe obtener el máximo de información de muchas muestras de eyaculación. Por lo tanto, estos estudios se vienen desarrollando a partir de una serie de parámetros macro y microscópicos que se integran en una prueba de valoración. Pero estas correlaciones no son definitivas, se brindan información válida acerca de la calidad seminal, debido a que una muestra de buena calidad no siempre es fértil, una de baja calidad rara vez lo será. Los parámetros comúnmente usados para conocer la calidad seminal de un eyaculador son: color, volumen, concentración, motilidad masal, motilidad progresiva, viabilidad y morfología, porcentaje de espermatozoides normales y anormales. (Mejía Gutiérrez, 2014)

## **1.8. Métodos para evaluar la calidad espermática.**

### **1.8.1. Evaluación Microscópica.**

#### **Computer Assited Semen Analysis (CASA).**

El sistema CASA es un método que disminuye la subjetividad y el error asociado a los análisis convencionales de semen. Con los módulos que conforman el equipo CASA, se puede

valorar la calidad del movimiento de los espermatozoides, la morfometría, integridad de las membranas, fragmentación del ADN y la fluorescencia. (Valverde, 2018)

El sistema está constituido por un microscopio de fases, por el cual lleva una cámara de video conectada, a su vez ambos están conectados a una computadora, con lo que se pueden digitalizar las imágenes del tamaño y de los movimientos espermáticos. Las imágenes digitalizadas permiten analizar la velocidad de las células, el movimiento rectilíneo, circular o lateral. (Brogliatti, 2016).

### **1.8.2. Motilidad espermática.**

La motilidad espermática es uno de los parámetros a conocer tanto la calidad seminal como la correlación con la fertilidad. Hasta nuestros días, la motilidad se ha venido desarrollando de forma subjetiva mediante la observación al microscopio de los porcentajes de células móviles. (Arrollo, 2015). Para que ocurra la fecundación, los espermatozoides debe tener motilidad progresiva, este parámetro es el más utilizado para valorar la calidad de un eyaculado o de una dosis seminal. (Mohamed, 2009)

Hoy en día señala (Análisis del semen bovino, 2015) que la aparición de los sistemas informatizados de digitalización de imágenes abre un nuevo campo en el estudio de motilidad espermatozoides. Estos sistemas, denominados genéricamente CASA (Computer Assisted



Molility Analysis), han automatizado y simplificado el proceso. El análisis computarizado que se utiliza en la motilidad fue propuesto la primera vez hace 25 años y es utilizado actualmente en centro de investigación en andrología y centros de reproducción asistida.

El análisis CASA establece, de una manera efectiva, medidas cuantitativas del movimiento individual, progresivo, local e inmotilidad de los espermatozoides. Con este tipo de análisis se espera obtener medidas correctas de la motilidad espermática que proporcionen información exacta acerca del estado funcional del axonema y de las membranas espermáticas

Por otro lado, los sistemas automáticos de medición de imágenes se basan en la captura sucesiva de espermatozoides en movimiento proveniente de un microscopio. Estas imágenes se digitalizan identificando las células espermáticas estableciendo de trayectorias definidas. Las trayectorias se procesan matemáticamente, obteniendo así resultados numéricos precisos. Los parámetros determinados para cada espermatozoide tienen la velocidad de movimiento por encima de la base de varios descriptores, las trayectorias que realizan en la cabeza del espermatozoide y la frecuencia de los cambios de dirección que efectúa. (Análisis del semen bovino, 2015).

### **1.8.3. Motilidad Masal.**

Se observa a partir de muestras de eyaculaciones densas y los espermatozoides deben presentar movimientos en onda. (Moncayo, 2016). Este depende de la concentración; porcentaje

de células con movimientos progresivos y velocidad de movimiento de espermatozoides. (Mohamed, 2009). Para evaluar se usa una escala de 1 a 5, evaluando como 1 al semen que no presenta ondas y 5 cuando las ondas se mueven rápidamente formando remolinos.

**Figura 1.** Escala para evaluar motilidad masal del eyaculado.

	<b>Grado</b>	<b>Movimiento en ondas</b>	<b>Valor descriptivo.</b>
+++	5/5 y 4/5	Corrientes turbulentas o vertiginosas que se mueven muy rápidamente	Muy Buena
++	3/5	Ondas Lentas	Buena
+	1/5 y 2/5	Movimiento singulares o esporádicos y ninguna actividad de masa	Regular
-	0	Necrospermia o inmovilidad total	Mala

*Nota: Tomado de Evaluación del semen Ax y otros (2000, pag 281)*

#### **1.8.4. Movilidad Individual.**

Esta muestra se puede expresar como un porcentaje de células móviles bajo un campo microscópico. Debido a que el semen bovino es muy concentrado, no se puede realizar este análisis con semen fresco, por lo tanto, se lo debe diluir, colocar una gota sobre un portaobjeto con una temperatura de 37°C y observando al microscopio en una lente de 100x. (Mohamed, 2009).

Considerando también que en una escala de 0 a 100% el >70% son excelente, entre 50 a 70% buenas, 30 a 50% regulares y <30% malas.

Según (Rutter, 2006) señala que se trata de evaluar el porcentaje de espermatozoides a través de:

- Movimiento progresivo rectilíneo.
- Movimiento en el lugar (circular, ondulatorio, entre otro).
- Espermatozoides inmóviles (muertos o en estado de anabiosis).

### **1.9. Vitalidad.**

El procedimiento más habitualmente utilizado para la valoración de la vitalidad son las técnicas de tinción vital de la que permiten diferenciar los espermatozoides vivos de los muertos debido a la permeabilidad de la membrana plasmática a los colorantes vitales; por lo tanto, aquellas células que presentan una membrana plasmática funcional no permiten el paso del colorante, mientras que si está alterada el colorante penetrará en el interior de la célula. (Valverde, 2018).

Por otra parte, señala que la rotura de la membrana plasmática está claramente asociada con la pérdida de viabilidad celular, pero una membrana plasmática intacta no siempre indica que la célula sea viable. El procesamiento del semen, incluida su criopreservación, es estresante para el espermatozoide y afecta, primeramente, a sus membranas. Los daños que pueden producirse en

éstas pueden ser modificados en su organización, permeabilidad y composición lipídica. Las membranas espermáticas que suelen verse dañadas por las criopreservación incluyen la membrana plasmática, la membrana externa del acrosomal y las membranas mitocondriales. (Análisis del semen bovino, 2015)

También podemos ver que, en cualquier caso, el método de criopreservar, cuyo propósito es garantizar la supervivencia del semen, causa daños irreparables en la membrana plasmática, lo que conlleva la muerte de un gran número de espermatozoides o, en los supervivientes, cambios similares a los observados durante la capacitación espermática, que provoca un acortamiento de su periodo de vida útil. (Análisis del semen bovino, 2015)

#### **1.10. Morfología.**

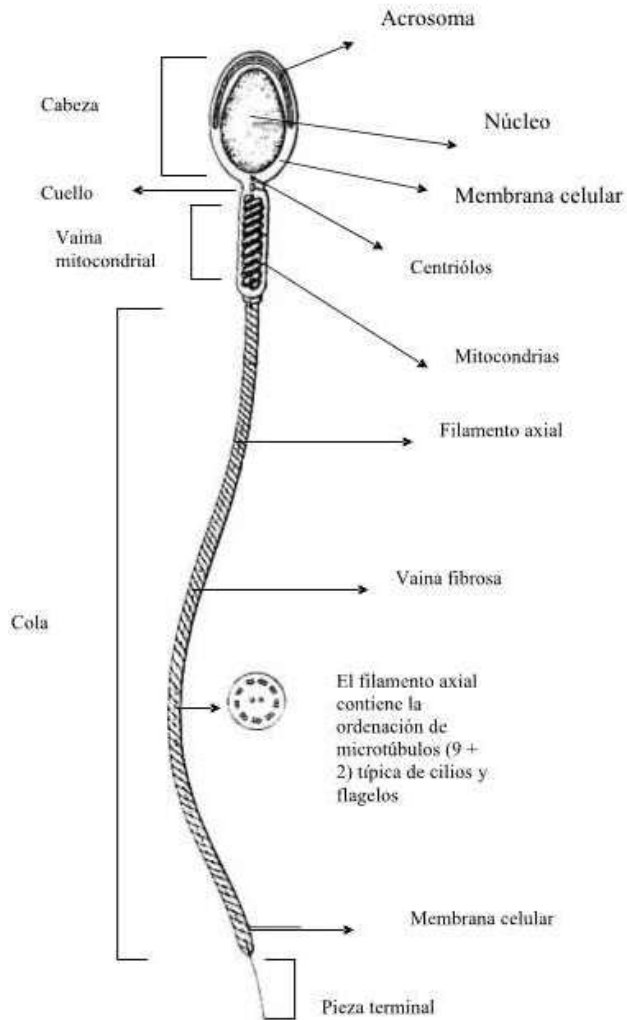
El análisis morfológico de los espermatozoides es uno de los principales componentes de la evaluación de las características de una muestra seminal. La valoración de la morfología del espermatozoide se basa en la relación directa que haya entre la proporción de espermatozoides anormales en el eyaculado, el tipo de defecto morfológico y su relación con la fertilidad in vivo de los toros. (Análisis del semen bovino, 2015)

El estudio de la forma del espermatozoide que permite determinar las posibilidades de fertilización de la célula. Aquellos eyaculados con una gran cantidad de células anormales tendrán

menos posibilidades de ser fértiles. (Gualancañay, 2012). Los espermatozoides del toro, miden de longitud entre 68 y 74 micras, y están constituidos por cabeza, cuello, pieza intermedia y cola.

Este análisis de morfología espermática se puede utilizar para eliminar toros con pobre calidad seminal y refleja la funcionalidad de los testículos, epidídimos y glándulas accesorias, por lo que siempre deben estar incluidas en las pruebas de evaluación espermática. (2015).

**Figura 2: Anatomía del espermatozoide.**



(Ordoñez, 2005).

### **1.11. Morfología y anormalidades.**

El análisis morfológico de los espermatozoides es una prueba de control de calidad que, refleja el estado fisiológico de la funcionalidad de los testículos, epidídimo y glándulas accesorias de los reproductores. Las morfo anomalías se producen por una espermatogénesis defectuosa, por herencia, enfermedades, estrés por calor o frío, exposiciones a condiciones ambientales adversas, reposo sexual prolongado (>60 días) o por el uso de técnicas inadecuadas en la manipulación del semen. (Valverde, 2018)

Para poder valorar la morfología espermática se toma mediante el método de tinción o muestra fijada, que se puede ver bajo microscopio de contraste de fases a 100x aumento. Cuando se ve que el porcentaje es elevado de anomalías específicas y que no sufre cambios en valoración seriadas, se debe pasar en un problema genético. La clasificación más clásica para morfoanomalías del espermatozoide es de acuerdo a su origen. (De Alba Romero, 2014); (Barth, 1989) y (Bloom, 1977)

- Primarias: se originan dentro del testículo durante la espermatogénesis. Dependiendo de si se originan en el testículo (anomalías menores)
- Secundarias: se originan a nivel epididimario, una vez terminada la formación del espermatozoide. A lo largo del tránsito epididimal o tras la eyaculación (anomalías mayores)

También (Gomez, 2015) menciona que la clasificación más utilizada en las bibliografías, pero no por ello las más exactas. Las malformaciones primarias por definición, con aquellas que se originan dentro del testículo durante la espermatogénesis y malformaciones secundarias son aquellas que se originan dentro del epidídimo; por lo tanto, cabe recalcar que por definición se detecta el origen y no la severidad del defecto.

Por otra parte (Barth, 1989) , señala que se ha de tener muy presente con las muestras de semen cuando su porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales es inferior a 70% y se han de destacar para la congelación para su desarrollo.

#### **1.11.1. Anomalías que afectan a la calidad seminal.**

Unos de los factores que afecta a la calidad del semen son de origen infeccioso o no infeccioso. El adecuado conocimiento de estos factores permitirá trazar estrategias adecuadas, ya sean tratar al animal o descartarlo como reproductor. Dentro de los factores del tipo infeccioso se puede mencionar a la virosis. Estos virus se localizan a nivel testicular y encuentra en la barrera hemato-testicular un adecuado mecanismo para evitar los dispositivos de defensa y los posibles tratamientos que se llevan a cabo para atacarlos, lo que conlleva que el testículo se convierte en un adecuado reservorio para los virus entre otros agentes infecciosos. (Arrollo, 2015)



Dentro de esta gama de enfermedades virales se puede encontrar al herpes virus bovino (BHV-1) causante de la Rinotraqueitis bovina infecciosa (IBR); El virus de la diarrea viral bovina (BVDV), que puede ser transmitido en el semen en alta concentración pero no se ha asociado con alteración en la morfología espermática; Otro virus que a la fecha es exótico en Colombia, es el orbivirus de la Lengua azul (BTV), el cual se elimina en el semen en alta concentración y se asocia con defectos de los espermatozoides del toro afectado. (Quispe Quispe, 2015)

(Muiños, 2005) Describe que, se han descrito diferentes clasificaciones de anomalías espermáticas a distintos criterios por lo que pueden ser.

- Dependiendo del origen en el testículo (anomalías mayores) o a lo largo de tránsito epidídimo o tras la eyaculación (anomalías menores).
- Si están asociadas a la infertilidad o no (primarias o secundarias, respectivamente)
- De la región espermática implicada (anomalías de la cabeza, de la pieza intermedia o de la pieza principal).

## CAPÍTULO II

### 2. MATERIALES Y MÉTODOS.

#### 2.1. Materiales Químicos

- Eosina-nigrosina
  - Fructosa
  - Agua destilada
  - Nitrógeno Líquido
- 

#### 2.2. Materiales Físicos

- Termómetro
  - Papel secante
  - Papel parafilm
  - Baño María
  - Platinas térmicas
  - Vasos de precipitación
  - Tubos Eppendorf
- 
- Pipetas
  - Puntas de pipetas
  - Porta objeto
  - Cámara Leja
  - Cámara de Neubauer

- Estufa
- Microscopio de contraste de fase
- Sistema de Análisis Seminal Asistido por Computadora- CASA
- Envasadora y selladora de pajuelas
- Vitrina de refrigeración
- Tijeras
- Jeringas
- Guantes de manejo
- Guantes ginecólogos
- Registro de Observación
- Cámara fotográfica

### **2.3. Unidad de estudio**

Como unidad estudio se utilizó el semen criopreservado durante 2 años, de 10 toros criollos proveniente de la zona de Manabí.

### **2.4. Localización del experimento.**

La investigación se realizó en la provincia de Manabí (Ecuador), la cual limita al norte con la provincia de Esmeraldas, al sur con las provincias de Santa Elena y Guayas, al este con las provincias de Santo Domingo de los Tsáchilas, Los Ríos y Guayas, y al oeste con el Océano Pacífico, ubicado desde 0°25' LN hasta 1°57' LS, y 79°24' a 80°55' LO (Climate-data.org, 2018).

## **2.5. Características Agroecológicas.**

Según (Navarra, 2018) se distinguieron dos zonas agroecológicas en la localidad estudiada.

- 1) Bosque seco tropical (BST), con una altitud, temperatura y precipitación promedio anual de 300msnm, 25°C y 1500mm, respectivamente.
- 2) Bosque húmedo tropical (BHT), con una altitud, temperatura y precipitación promedio anual de 600msnm, 25,5°C y 3000mm, respectivamente.

## **2.6. Fase de Laboratorio.**

Se retiró la pajuela del termo de nitrógeno líquido, que se encontraba a -196°C, y se introdujo en baño maría a una temperatura de 36,9°C por 90 segundos, una vez pasados los 90 segundos se colocaron 90 uL de la solución + 10 uL de la muestra en un tubo de ensayo para hacer la dilución, luego se tomó una gota de 5 uL de la dilución y se colocó sobre una cámara Leja debidamente atemperado (37°C), para su valoración objetiva mediante la observación a través de un microscopio óptico (20x \* 0,50 ph), el cual estaba conectado a un computador que tenía instalado el sistema CASA.

## **2.7. Marco Procedimental**

Dicho estudio de trabajo se realizó en el cantón El Carmen donde se pudo obtener las 10 pajuelas poscriopreservado de semen criollo manabita, las cuales fueron trasladadas al laboratorio de Bossgen ubicado en el cantón Machachi, después se registró las observaciones de los datos

obtenidos, en la cual se procedió a la tabulación de la información y descripción de los resultados y la comparación de los datos obtenidos con los estudios que ya han sido investigados.

## **2.8. Nivel Empírico**

Se pudo obtener los resultados del análisis en laboratorio y tomando en cuenta los parámetros de (Mohamed, 2009) y (Carlos Olegario Hidalgo Ordóñez. , 2015). Consecuente a esto se colocó las pajuelas poscriopreservados de los toros criollo, se las traslado al laboratorio que está ubicado en el cantón de Machachi se dejo un tiempo en descongelación y se pudo continuar con el análisis microscopio de la calidad espermática del toro criollo Manabita.

Se retiró la pajuela del termo de nitrógeno líquido, que se encontraba a  $-196^{\circ}\text{C}$ , y se introdujo en baño maría a una temperatura de  $36,9^{\circ}\text{C}$  por 90 segundos, una vez pasados los 90 segundos esperamos el secado de las pajuelas, teniendo el resultado en tubos de eppendorf de 1,5 ml.

Para poder resolver este dato con ayuda de una micropipeta con puntas estériles, se empleó 25 uL de semen fresco encima de un portaobjeto temperado a  $37^{\circ}\text{C}$  sobre una plancha térmica y sin cubreobjeto.

En la especificación de los espermatozoides vivos y muertos, se empleó una gota de 10uL de semen y una gota del mismo volumen del colorante eosina-nigrosina sobre un portaobjeto templado a 37°, se igualó la mezcla suavemente se apartó en reposo por aproximadamente 30 segundos.

Una vez pasado este tiempo, se realizó un frotis añadiendo una gota de aceite de inmersión para la observación bajo el microscopio con un aumento de 100X.

Se evaluaron las 10 pajuelas tomando dos por muestras consecuente a esto se procedió a contar el número de espermatozoides vivos y muertos.

Para el análisis de morfología y anomalías separamos en dos grupos las 10 pajuelas cada grupo constan de 5 pajuelas por el método de tinción observamos las características que tiene el espermatozoides y las anomalías que mostraron.

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

#### 3.1. Motilidad.

Analizar objetivamente la motilidad espermática pos criopreservado del toro criollo manabita.

*Tabla I. Datos obtenidos de motilidad espermática.*

Pajuelas	Motilidad	
	Datos obtenidos	Datos esperados
Muestra 1	20%	50%
Muestra 2	20%	50%
Muestra 3	15%	50%
Muestra 4	15%	50%
Muestra 5	10%	50%

*Fuente: Elaboración propia*

Los resultados obtenidos en motilidad no son estadísticamente significativos en relación a los resultados obtenidos al 95% de probabilidad. Por lo tanto, según (Moncayo, 2016) describe que para evaluar la motilidad se usa una escala de 1 a 5, evaluando como 1 al semen que no presenta ondas y 5 cuando las ondas se mueven rápidamente formando remolinos. Por lo tanto comparando con la figura 1 los resultados fueron movimientos singulares o esporádicos y ninguna actividad de masa siendo unos espermatozoides regulares.

### 3.2. Vitalidad

Los siguientes datos podemos analizar los datos obtenidos de la Vitalidad en su porcentaje y dando a comprender si con requeridos y comparando con lo esperado.

*Tabla II. Datos obtenidos de la Vitalidad en su porcentaje.*

<b>Vitalidad</b>		
<b>Pajuelas</b>	<b>Datos obtenidos</b>	<b>Datos esperados</b>
Muestra 1	15%	70%
Muestra 2	15%	70%
Muestra 3	10%	70%
Muestra 4	10%	70%
Muestra 5	5%	70%

*Fuente: Elaboración propia*

Los resultados obtenidos en vitalidad no llegan a lo esperado por lo tanto se puede distinguir de los espermatozoides vivos de los muertos, como dice (Valverde, 2018) que la ruptura de la membrana plasmática hace visualizar de color verde los espermatozoides implementando eosina-nigrosina entonces el porcentaje de espermatozoides vivos es muy bajo en todas las muestras.



### 3.3. Morfología y Anormalidades.

Con respecto a las anomalías morfológicas que pudieron identificar mediante dos grupos, cada grupo consta de cinco pajuelas cada una por la que se pudo identificar por el método de tinción las anomalías de la cabeza%, pieza media% y la cola%, en el siguiente cuadro podemos ver el porcentaje de cada una.

*Tabla III. Grupo 1*

Anormalidades		Lesión
Morfológicas	%	
Cabeza	2%	Primaria
Pieza media	1%	Primaria
Cola	7%	Primaria

*Fuente: Elaboración propia*

En la siguiente tabla 2 podemos ver que la cabeza tiene un porcentaje de anomalías en 2%, la Pieza media tiene 1% y la parte de la cola tiene una anomalía de 7%

**Tabla IV. Grupo 2**

<b>Anormalidades</b>		<b>Lesión</b>
<b>Morfológicas</b>	<b>%</b>	
Cabeza	3%	Primaria
Pieza media	6%	Primaria
Cola	1%	Primaria

*Fuente: Elaboración propia*

En la siguiente tabla 3 podemos ver que la cabeza tiene un porcentaje de anomalías en 3%, la Pieza media tiene 6% y la parte de la cola tiene una anomalía de 1%

Se puede comparar que según con lo que dice (Barth, 1989), (Bloom, 1977) las lesiones que tienen del grupo 1 como del grupo 2, están dentro del rango establecido ya que Barth menciona que cuando pasan del 70% es considerado un espermatozoide infértil por otro lado (Gomez, 2015) menciona que la clasificación más utilizada en las bibliografías, pero no por ello las más exactas, ya que la anomalías que presentan son primarias menores por lo que son lesiones que se producen en el testículo.

#### **4. CONCLUSIONES.**

La motilidad del semen criopreservado de toro criollo manabita no alcanzó el rango que debe tener un espermatozoide de buena calidad siendo insuficiente para la reproducción. Teniendo la motilidad un promedio de 15%.

La vitalidad del semen criopreservado de toro criollo manabita no alcanzó el rango que debe tener un espermatozoide de buena calidad siendo insuficiente para la reproducción. Teniendo una vitalidad promedio de 10%.

La Morfología espermática del semen criopreservado de toro criollo manabita cumple con el rango que debe tener un espermatozoide de buena calidad siendo suficiente para la reproducción. Siendo anormalidades primarias y sin pasar del rango y así pueda fecundar sin tener algún tipo de malformación.

## **5. RECOMENDACIONES.**

- Continuar con el estudio de los toros criollos con el fin de ampliar conocimiento científico.
- Concientizar a los ganaderos sobre la conservación y utilización del toro criollos en las explotaciones.
- Realizar más estudios sobre la criopreservación de semen del toro criollo manabita.
- Evaluar factores que pueden interferir en el porcentaje de fertilidad.
- Realizar futuras investigaciones con nuevos toros criollo para evaluar su calidad seminal.

## 6. BIBLIOGRAFÍA.

- Aguirre, L. U. (2012). Evaluación fenotípica y seminal con fines de conservación del bovino "Encerrado" presente en la región alto Andina del Ecuador. *Redalyc*, , 185-189.
- Arieta, R. F. (2014). Métodos de extracción de semen bovino. *elec vet*, 15(5):1-8.
- Arrollo, G. (2015). *Revisión de los aspectos y reproductivos de la raza criollo*. Sucre: UDS.
- Barrios, D. (2002). Considerados básicas sobre la extracción de semen de toro mediante electroeyaculador. *Considerados.pdf*.
- Barth, A. D. (1989). Abnormal Morphology of bovine Spermatozoa. *Iowa State University Press*.
- Bloom, E. (1977). Sperm morphology with reference to bull infertility. *Firs All-India Symp. Anim. Reprod* , 61-81.
- Cabrera V., P. y. (2012). Viabilidad espermática e integridad del acrosoma en semen congelado de toros nacionales. *Rev. Inv. Vet. Perú*, 23(2):192-200.
- Carlos Olegario Hidalgo Ordóñez. . (2015). Análisis del semen bovino. *Tecnología Agroalimentaria*, 2.
- Catena, M. y. (2015). EVALUACIÓN DE SEMEN BOVINO CONGELADO. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 1(3):18-31.
- Cevallos Falquez, O. B.-G. (2016). Caracterización zoométrica y morfológica del ganado criollo de Manabí. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia*, 323.
- Cevallos Falquez, O., B. C. (2016). Caracterización zoométrica y morfometría del ganado criollo de Manabí. *FCV-LUZ.XXVI(5):313-323*.
- De Alba Romero, M. (2014). Valoración de la calidad del semen Bovino En M. d. De alba Romero, Jornada ANEMBE Problem reproductivos de las vacas. *Madrid: Universidad Complutense.*, 40-44.
- De Alba, J. (2011). *Los criollos lecheros tropicales*. Mexico: Ediciones Papiro Omega S.A. de C.V.
- De la Fuente, J. M. (1994). Aplicación de tecnologías reproductivas en el ganado avileño. *Rev. Bovis.*, 59:59-79.
- Gomez, .. V. (2015). Protocolo para la evacuación de semen en rumiantes. *Sitio Argentino de Producción Animal*.

- Gualancañay, B. (2012). Manejo de toros donadores de semen. *Escuela superior Politecnica de Chimborazo*.
- Katz, D. a. (1981). *sperm motility assessment by video- micrography*. fertil. Steril.
- Lopez, J. (2014). Colecta de semen en las distintas especies. *Reproduccion Veterinaria*.
- Lozano, H. (2009). Factores que afectan la calidad seminal en toros. *Revista de la facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 16.
- Mejia Gutiérrez, J. (2014). *Evaluacion pre y post del semen obtenido con vagina artificial y lectroyaculador en el ganado criollo*. cuenca : FCA.
- Mocé, E. y. (2008). *in vitro evaluation of sperm quality*. anim. 105: 104-108: Reprod Sci.
- Mohamed, S. (2009). *Estudios de efectos genéticos y ambientales de caracteres seminales de toros Holstein*. Valencia: Universidad Politecnica de Valencia.
- Moncayo, A. (2016). *Evaluación de la calidad seminal de reproductores bovinos antes y después del proceso de criopreservación*. Quito: UPS.
- Morillos, M. S. (2012). Evaluación del potencial reproductor del macho bovino. . *Instituto de investigaciones Agrícolas, Centro nacional de Investigaciones Agropecuarias*, 23-28.
- Muñoz, R. F. (2005). NUEVAS TECNOLOGIAS APLICADAS AL PROCESADO Y EVALUACION DEL SEMEN BOVINO EN CENTROS DE INSEMINACION ARTIFICIAL. 175-177.
- Muñoz Otero, R. (2008). Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de Sistema CASA y citometría de flujo. *identificación de subpoblaciones espermática*, Universidad de Santiago de compostela.
- Navarra, M. (junio de 2018). *Meteorología y climatología de Navarra*. Obtenido de clasificación climatica Koppen: <http://meteo.navarra.es/definiciones/koppen.cfm>.
- Núñez Domínguez, R., Ramírez Valverde, R., Saavedra Jimenez., y GarcíaMuñoz, J. (2016). *La adaptabilidad de los recursos zoogenéticos criollos, base para enfrentar los desafíos de la producción animal*. Mexivo: UACH.
- Ordoñez, C. O. (2005). Analisis del semen Bovino. *Tecnología Agroalimentaria*.
- Orly Cevallos-Falquez1. (2016). Caracterización zoométrica y morfológica del. *Universidad de Zulia*. Obtenido de file:///F:/disk%20d/Downloads/Revista\_cientifica\_26\_5\_Art\_7.pdf

- Perezgrovas, R., Vázquez, D., Rodríguez, G., Y Galdámez, D. (2011). *aproximacion fenotipica a la diversidad de los bovinos criollos en la region central montañosa de chiapas*. Mexico. Mexico: AICA.
- Posado Ferreras, R. (2014). *Estudio seminal del toro lidia fragmentación del ADN espermático*. Madrid: UCDM.
- Quispe Quispe, A. (2015). *Evaluación de la sobrevivencia y fertilidad in vivo de espermatozoides del epididimo de toros criollos*. Puno- Perú: UNA.
- Roca, A. (2003). Analysis in laboratory practice. *clib lab anal*, 247-258.
- Rodríguez, A. G. (2014). *Metodos de extracción de semen bovino*. Mexico: UAM.
- Roman, A. D. (2014). Metodos de extracción de semen Bovino. *REDVET*, 8.
- Rutter, B. y. (2006). *Bases para la evaluación de la aptitud reproductiva del toro*. Ecuador: Buiatria.
- Taipe Taipe, M. v. (2015). *Analisis y efecto de a suplementación con mezcla mineral sobre la calidad seminal pre y pos crio´reservación en toros Boss Taurus*. Santo Domingo: UTE.
- Valverde, A. Y.-V. (2018). Sistema de analisis computarizado de semen en la reproduccion animal. *Agron. Mesoan.*, 29(2).

**1. ANALYSIS**



*Anexo 1. Llenando del nitrógeno líquido.*



*Anexo 2. Compra de pajuelas*



*Anexo 3. Laboratorio de Bossgen en Machachi.*



Anexo 4. Resultados de análisis del Laboratorio Bossgen.

N° 000228

**Bossgen**  
CENTRO DE MEJORAMIENTO GENÉTICO BOVINO  
"BOSSGEN"  
INFORME TÉCNICO ANÁLISIS DE CALIDAD SEMINAL

CLIENTE: LESLY ERAS      SEXO: M  
SOLICITADO: 17/03/2021      RAZA: BRASILEÑA  
FECHA: BOVINA      NOMBRE: 15  
SUPER: INICIAL      PRESENTADOR: 0.00  
PROCEDENCIA: INICIAL

PRUEBAS MACROSCÓPICAS BÁSICAS	
Volumen / ml	0.50 ml
Color	AMARILLO
Olor	Característico
PH	7.0
Otros	-
PRUEBAS MICROSCÓPICAS BÁSICAS	
Motilidad individual %	20 %
Motilidad supervivencia %	20 %
Esp. Vivos % (Inción)	15 %
Mortalidad Esp. % (Inción)	85 %
Concentración Aproximada/millones esp / pajuela	24 * 10 <sup>6</sup>
ANORMALIDADES MORFOLÓGICAS	
Cabeza % (Inción)	-
Pieza Media % (Inción)	10%
Cola % (Inción)	7%

OBSERVACIONES: El resultado sirve solo para la muestra analizada.

**Biogensa**  
 Luis López  
 Ing. Biotecnólogo  
 LABORATORIO  
 PRODUCTOGENSA CIA. LTDA.  
 RUC. 1701818172001      CLIENTE

Scanned with Fast Scan

N° 000225

**Bossgen**  
CENTRO DE MEJORAMIENTO GENÉTICO BOVINO  
"BOSSGEN"  
INFORME TÉCNICO ANÁLISIS DE CALIDAD SEMINAL

CLIENTE: LESLY ERAS      SEXO: M  
SOLICITADO: 17/03/2021      RAZA: BRASILEÑA  
FECHA: BOVINA      NOMBRE: 15  
SUPER: INICIAL      PRESENTADOR: 0.00  
PROCEDENCIA: INICIAL

PRUEBAS MACROSCÓPICAS BÁSICAS	
Volumen / ml	0.50 ml
Color	AMARILLO
Olor	Característico
PH	7.0
Otros	-
PRUEBAS MICROSCÓPICAS BÁSICAS	
Motilidad individual %	15 %
Motilidad supervivencia %	15 %
Esp. Vivos % (Inción)	10%
Mortalidad Esp. % (Inción)	90%
Concentración Aproximada/millones esp / pajuela	21 * 10 <sup>6</sup>
ANORMALIDADES MORFOLÓGICAS	
Cabeza % (Inción)	6%
Pieza Media % (Inción)	3%
Cola % (Inción)	1%

OBSERVACIONES: El resultado sirve solo para la muestra analizada.

**Biogensa**  
 Luis López  
 Ing. Biotecnólogo  
 LABORATORIO  
 PRODUCTOGENSA CIA. LTDA.  
 RUC. 1701818172001      CLIENTE

Scanned with Fast Scan

N° 000226

**Bossgen**  
CENTRO DE MEJORAMIENTO GENÉTICO BOVINO  
"BOSSGEN"  
INFORME TÉCNICO ANÁLISIS DE CALIDAD SEMINAL

CLIENTE: LESLY ERAS      SEXO: M  
SOLICITADO: 17/03/2021      RAZA: BRASILEÑA  
FECHA: BOVINA      NOMBRE: 15  
SUPER: INICIAL      PRESENTADOR: 0.00  
PROCEDENCIA: INICIAL

PRUEBAS MACROSCÓPICAS BÁSICAS	
Volumen / ml	0.50 ml
Color	AMARILLO
Olor	Característico
PH	7.0
Otros	-
PRUEBAS MICROSCÓPICAS BÁSICAS	
Motilidad individual %	15 %
Motilidad supervivencia %	15 %
Esp. Vivos % (Inción)	10%
Mortalidad Esp. % (Inción)	90%
Concentración Aproximada/millones esp / pajuela	21 * 10 <sup>6</sup>
ANORMALIDADES MORFOLÓGICAS	
Cabeza % (Inción)	6%
Pieza Media % (Inción)	3%
Cola % (Inción)	1%

OBSERVACIONES: El resultado sirve solo para la muestra analizada.

**Biogensa**  
 Luis López  
 Ing. Biotecnólogo  
 LABORATORIO  
 PRODUCTOGENSA CIA. LTDA.  
 RUC. 1701818172001      CLIENTE

Scanned with Fast Scan

N° 000227

**Bossgen**  
CENTRO DE MEJORAMIENTO GENÉTICO BOVINO  
"BOSSGEN"  
INFORME TÉCNICO ANÁLISIS DE CALIDAD SEMINAL

CLIENTE: LESLY ERAS      SEXO: M  
SOLICITADO: 17/03/2021      RAZA: BRASILEÑA  
FECHA: BOVINA      NOMBRE: 15  
SUPER: INICIAL      PRESENTADOR: 0.00  
PROCEDENCIA: INICIAL


PRUEBAS MACROSCÓPICAS BÁSICAS	
Volumen / ml	0.50 ml
Color	AMARILLO
Olor	Característico
PH	7.0
Otros	-
PRUEBAS MICROSCÓPICAS BÁSICAS	
Motilidad individual %	20 %
Motilidad supervivencia %	20 %
Esp. Vivos % (Inción)	15 %
Mortalidad Esp. % (Inción)	85 %
Concentración Aproximada/millones esp / pajuela	24 * 10 <sup>6</sup>
ANORMALIDADES MORFOLÓGICAS	
Cabeza % (Inción)	-
Pieza Media % (Inción)	10%
Cola % (Inción)	7%

OBSERVACIONES: El resultado sirve solo para la muestra analizada.

**Biogensa**  
 Luis López  
 Ing. Biotecnólogo  
 LABORATORIO  
 PRODUCTOGENSA CIA. LTDA.  
 RUC. 1701818172001      CLIENTE

Scanned with Fast Scan

N° 000229





**Bossgen**  
CENTRO DE MEJORAMIENTO GENÉTICO BOVINO  
"BOSSGEN"  
INFORME TÉCNICO ANÁLISIS DE CALIDAD SEMINAL

CLIENTE: LEYDY ENAS	REGISTRO: 38
SOLICITADO: FECHA: 17/02/2021	PAJUELA: CRULLA
ESPECIE: BOVINA	ACABRE: 52
PROCEDENCIA: NACIONAL	PRESENTACION: 1,80

PRUEBAS MACROSCÓPICAS BÁSICAS	
Volumen / ml	0.50 ml
Color	AMARILLO
Olor	Característico
PH	7.0
Otros	-
PRUEBAS MICROSCÓPICAS BÁSICAS	
Motilidad individual %	10 %
Motilidad supervivencia %	10 %
Esp. Vivos % (tinción)	5 %
Mortalidad Esp. % (tinción)	95 %
Concentración Aproximada/miliones esp / pajuela	20 * 10 <sup>6</sup>
ANORMALIDADES MORFOLÓGICAS	
Cabeza % (tinción)	2 %
Piiza Media % (tinción)	12 %
Cola % (tinción)	10 %

OBSERVACIONES: El resultado sirve solo para la muestra analizada.

  
 Luis Lopez  
 Ing. Biocientífico  
 LABORATORIO

  
 PRODUBIOGENSA CIA. LTDA.  
 RUC. 1791818172001

CLIENTE

Scanned with Fast Scan

Anexo 5. Resultados de análisis del Laboratorio Bossgen.

N° 00238



**Bossgen**  
CENTRO DE MEJORAMIENTO GENÉTICO BOVINO  
"BOSSGEN"  
INFORME TÉCNICO ANÁLISIS DE CALIDAD SEMINAL

CLIENTE: LEYDY ENAS	REGISTRO: 38
SOLICITADO: FECHA: 17/02/2021	PAJUELA: CRULLA
ESPECIE: BOVINA	ACABRE: 52
PROCEDENCIA: NACIONAL	PRESENTACION: 1,80

PRUEBAS MACROSCÓPICAS BÁSICAS	
Volumen / ml	0.50 ml
Color	AMARILLO
Olor	Característico
PH	7.0
Otros	-
PRUEBAS MICROSCÓPICAS BÁSICAS	
Motilidad individual %	10 %
Motilidad supervivencia %	10 %
Esp. Vivos % (tinción)	5 %
Mortalidad Esp. % (tinción)	95 %
Concentración Aproximada/miliones esp / pajuela	20 * 10 <sup>6</sup>
ANORMALIDADES MORFOLÓGICAS	
Cabeza % (tinción)	2 %
Piiza Media % (tinción)	12 %
Cola % (tinción)	10 %


OBSERVACIONES: El resultado sirve solo para la muestra analizada de la misma pajuela.

  
 Luis Lopez  
 Ing. Biocientífico  
 LABORATORIO

  
 PRODUBIOGENSA CIA. LTDA.  
 RUC. 1791818172001

CLIENTE

N° 00238



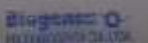
**Bossgen**  
CENTRO DE MEJORAMIENTO GENÉTICO BOVINO  
"BOSSGEN"  
INFORME TÉCNICO ANÁLISIS DE CALIDAD SEMINAL

CLIENTE: LEYDY ENAS	REGISTRO: 38
SOLICITADO: FECHA: 17/02/2021	PAJUELA: CRULLA
ESPECIE: BOVINA	ACABRE: 52
PROCEDENCIA: NACIONAL	PRESENTACION: 1,80

PRUEBAS MACROSCÓPICAS BÁSICAS	
Volumen / ml	0.50 ml
Color	AMARILLO
Olor	Característico
PH	7.0
Otros	-
PRUEBAS MICROSCÓPICAS BÁSICAS	
Motilidad individual %	10 %
Motilidad supervivencia %	10 %
Esp. Vivos % (tinción)	5 %
Mortalidad Esp. % (tinción)	95 %
Concentración Aproximada/miliones esp / pajuela	20 * 10 <sup>6</sup>
ANORMALIDADES MORFOLÓGICAS	
Cabeza % (tinción)	2 %
Piiza Media % (tinción)	12 %
Cola % (tinción)	10 %

OBSERVACIONES: El resultado sirve solo para la muestra analizada de la misma pajuela.

  
 Luis Lopez  
 Ing. Biocientífico  
 LABORATORIO

  
 PRODUBIOGENSA CIA. LTDA.  
 RUC. 1791818172001

CLIENTE