



Universidad Estatal Península de Santa Elena

Facultad de Ciencias Agrarias

Carrera de Agropecuaria

**TÉCNICA DE CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN
CAPRINO, SANTA ELENA**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del título de:

INGENIERA AGROPECUARIA

Autora: Génesis Carolina Guerrero Cruz

La Libertad, 2021



Universidad Estatal Península de Santa Elena

Facultad de Ciencias Agrarias

Carrera de Agropecuaria

**TÉCNICA DE CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN
CAPRINO, SANTA ELENA**

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERA AGROPECUARIA

Autora: Génesis Carolina Guerrero Cruz

Tutora: Ing. Ligia Araceli Solís Lucas, Ph.D.

La Libertad, 2021

TRIBUNAL DE GRADO



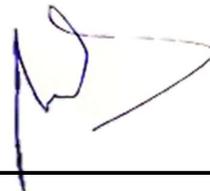
Ing. Nadia Quevedo Pinos, Ph.D
**DIRECTORA DE CARRERA
DE AGROPECUARIA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**



Ing. Julio Villacrés Matías, MSc
**PROFESOR ESPECIALISTA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Ing. Ligia Araceli Solís Lucas, Ph.D.
**PROFESORA TUTOR/A
MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Ing. Andrés Drouet Candell, MSc.
**PROFESOR GUÍA DE LA UIC
SECRETARIO**

AGRADECIMIENTOS

Expresar mis más sentidos agradecimientos a Dios que siempre me ha guiado por el buen camino y ayudado día a día para no desmayar y seguir adelante. Quiero agradecer a mis padres, hermanos, mis tíos por nunca dejarme sola, por brindarme su amor, apoyo, paciencia y estar conmigo aconsejándome para seguir por el buen camino, por seguir durante todo mi proceso de formación

Agradezco infinitamente a la Universidad Estatal Península de Santa Elena por haberme acogido en su facultad de Ciencias Agrarias, de igual manera a los profesores que me fueron formando a lo largo del camino, por todo el apoyo y conocimientos brindados.

De manera muy especial mi agradecimiento unánime a mi tutora de tesis a la Ing. Araceli Solís Lucas por ser una persona generosa, inteligente, que me instruyó y me guió para realizar esta investigación y terminar con éxito. De igual manera al Ing. Andrés Mancheno por haberme brindado sus conocimientos y apoyo durante este tiempo.

Así mismo, agradezco a mis compañeros, amigos y a las personas que estuvieron conmigo apoyándome para no rendirme en ningún momento y seguir adelante en mi formación académica.

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación se lo dedico a Dios por darme la fuerza de seguir y no rendirme durante este camino.

A mi madre Mary Cruz Catuto, por darme la fortaleza para seguir y culminar con mis estudios y cumplir con uno de mis metas propuestas

A mi padre quien estuvo alentándome y aconsejándome para no rendirme en cada paso que daba en mis prácticas.

A mis hermanos por brindarme todo el cariño y el apoyo en todo momento.

A una persona que estuvo en todo el proceso sin dejarme sola, quien me daba consejos y ánimo para que continúe con mis estudios sin rendirme, que siempre me decía “debes sacar fuerzas y luchar por tus sueños” F.R. Gracias.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación “Técnica de crío preservación de semen caprino, Santa Elena” tuvo como objetivo evaluar la técnica de criopreservación sobre la calidad post descongelamiento de semen caprino en el Centro de Apoyo Río Verde. Se recolectó semen por medio del equipo electroeyaculador que consistió en enviar pequeñas ondas eléctricas por la vía rectal de los machos y así estimularlos. A las muestras colectadas se les realizó evaluaciones macroscópicas y microscópicas tanto en semen fresco como post descongelado. En la técnica de criopreservación del germoplasma se utilizó el diluyente optixcell que incluye como componentes carbohidratos, sales minerales, tampón, antioxidantes, glicerol, fosfolípidos, agua ultrapura, antibióticos, lo que ayuda a conservar los espermatozoides después del descongelamiento. El semen procesado se envasó en pajuelas de 0,50cc, que fueron congeladas y almacenadas en nitrógeno líquido. Las variables estudiadas en semen fresco y post descongelado fueron motilidad masal, individual, morfología espermática y vitabilidad espermática. Los resultados en semen fresco indicaron para motilidad masal un 80% de ondas densas de movimiento, motilidad individual un 77%-80% con movimientos progresivo muy rápido (difícil de seguir visualmente), morfoanomalía hasta un 15% tanto en cabeza y cola, vitabilidad espermática hasta un 94% en las diferentes muestras. Para semen post descongelado, los resultados obtenidos en motilidad masal no fue mayor a un 55%, que indica ondas y remolinos vigorosos; motilidad individual entre 50 a 61% indica desplazamiento (bueno). La variable morfoanomalía que presentó cola y cabeza no fue mayor de un 16%. En la variable de vitabilidad espermática dio un valor óptimo 46%-58% de espermatozoides vivos.

Palabras clave: criopreservación de semen, electroeyaculación, espermatozoides, espermiograma.

ABSTRACT

The present research work "Goat semen cryopreservation technique, Santa Elena" aimed to evaluate the cryopreservation technique on the post-thaw quality of goat semen at the Río Verde Support Center. Semen was collected by means of the electroejaculatory equipment that consisted of sending small electrical waves through the rectal route of the males and thus stimulating them. The collected samples underwent macroscopic and microscopic evaluations both in fresh and post-thaw semen. In the germplasm cryopreservation technique, the optixcell diluent was used, which includes as components carbohydrates, mineral salts, buffer, antioxidants, glycerol, phospholipids, ultrapure water, antibiotics, which helps preserve the sperm after thawing. The processed semen was packed in 0.50cc straws, which were frozen and stored in liquid nitrogen. The variables studied in fresh and post-thaw semen were individual and mass motility, sperm morphology and sperm vitality. The results in fresh semen indicated for mass motility 80% dense waves of movement, individual motility 77% -80% with very fast progressive movements (difficult to follow visually), morphoanomaly up to 15% in both head and tail, vitality sperm up to 94% in the different samples. For post-thaw semen, the results obtained in mass motility was not greater than 55%, which indicates vigorous waves and eddies; Individual motility between 50 to 61% indicates displacement (good). The morphoanomaly variable that presented tail and head was not greater than 16%. In the sperm vitality variable, it gave an optimal value of 46% -58% of live spermatozoa.

Key words: cryopreservation of semen, electro ejaculation, sperm, spermogram.

"El contenido del presente Trabajo de Graduación es de mi responsabilidad; el patrimonio intelectual del mismo pertenece a la Universidad Estatal Península de Santa Elena".

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and a central vertical stroke, positioned above a horizontal line.

Firma digital del estudiante

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	4
1.1 Reproducción en caprinos.....	4
1.1.1 Aspectos reproductivos del macho caprino	4
1.1.2 Determinación de la edad y peso vivo a la pubertad	4
1.2 Técnica de Reproducción en caprinos.....	4
1.2.1 Manejo del macho	4
1.3 Equipos y materiales de uso en la técnica de reproducción en caprinos	5
1.3.1 Eyaculación	5
1.3.2 Semen caprino	5
1.3.3 La electroeyaculación.....	5
1.3.4 Colecta y evaluación de semen.....	6
1.4 Manejo del semen fresco y congelado	6
1.4.1 Manejo del semen fresco	6
1.4.2 Dilución del semen	7
1.4.3 Manejo del semen congelado	7
1.4.4 Medios comerciales	7
1.4.5 Acondicionamiento del semen caprino para su congelamiento	8
1.4.6 Congelamiento del semen en pajuelas.....	8
1.4.7 Descongelamiento y evaluación del semen caprino.	8
1.5 Evaluación macroscópica del semen caprino.....	9
1.5.1 Volumen.....	9
1.5.2 Color:.....	9
1.5.3 Olor	9
1.5.4 Aspecto.....	9
1.6 Evaluación microscópica	9
1.6.1 Concentración:	9
1.6.2 Motilidad en masa microscópica.....	10
1.6.3 Motilidad Individual progresivo.....	10
1.6.4 Vigor:	11
1.6.5 Morfología del espermatozoide.....	11
1.7 Ejemplos de criopreservación	11

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
2.1 Localización y descripción del área estudio.....	13
2.2 Materiales y equipos	13
2.2.1 Material Biológico.....	13
2.2.2 Material de campo.....	14
2.2.3 Equipos.....	14
2.2.4 Materiales de laboratorio.....	14
2.2.5 Reactivos	14
2.3 Tipo de investigación.....	15
2.4 Manejo del experimento	15
2.4.1 Limpieza del área y animales	15
2.4.2 Manejo de los machos:	15
2.4.3 Manejo del laboratorio:	15
2.4.4 Recolección del semen:.....	15
2.5 Variables experimentales.....	16
2.5.1 Evaluación macroscópica	16
2.5.2 Evaluación Microscópica	16
CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
3.1 Características macroscópicas y microscópicas del semen fresco	21
3.2 Características microscópicas del semen fresco.....	22
3.3 Características microscópicas en semen post descongelado	23
3.4 Medidas de resumen de las variables en estudio.....	23
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	25
Conclusiones.....	25
Recomendaciones	25
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS....;ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.	
ANEXOS.....	31

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tabla de consistencia y concentraciones.....	10
Tabla 2. Valoración semicuantitativa de la motilidad en masa microscópica.....	10
Tabla 3. Escala de nivel de movimientos.....	11
Tabla 4. Escala de los aspectos de semen	14
Tabla 5. Características macroscópicas en semen fresco	21
Tabla 6. Características microscópicas en semen fresco.....	22
Tabla 7. Características microscópicas en semen post descongelado	23
Tabla 8. Medidas de resumen de las variables en estudio.....	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización del lugar donde se realizó el estudio	13
---	----

ÍNDICE DE ANEXOS

- Figura 1A.** Entrenamiento de los machos.
- Figura 2A.** Limpieza y cortes de los pelos prepuciales en el primer macho.
- Figura 3A.** Simulación de la colecta de semen.
- Figura 4A.** Utilización de vagina artificial.
- Figura 5A.** Uso del electroeyaculador para la colecta de semen en primer macho.
- Figura 6A.** Evaluación de la motilidad masal e individual en la primera muestra.
- Figura 7A.** Conteo de espermatozoides en la cámara de Neubauer.
- Figura 8A.** Observar la morfología y vitabilidad de los espermatozoides.
- Figura 9A.** Uso del electroeyaculador para la colecta de semen en el segundo macho.
- Figura 10A.** Evaluación de la motilidad masal e individual en el segunda muestra.
- Figura 11A.** Conteo de espermatozoides en la cámara de Neubauer.
- Figura 12A.** Observar la morfología y vitabilidad de los espermatozoides.
- Figura 13A.** Uso del electroeyaculador para la colecta de semen en tercer macho..
- Figura 14A.** Evaluación de la motilidad masal e individual en la primera muestra..
- Figura 15A.** Conteo de espermatozoides en la cámara de Neubauer.
- Figura 16A.** Evaluación de la morfología y vitabilidad de los espermatozoides.
- Figura 17A.** Uso del electroeyaculador para la colecta de semen en el cuarto macho.
- Figura 18A.** Observar la morfología y vitabilidad de los espermatozoides.
- Figura 19A.** Dilución, dejándose reposar 45 minutos.
- Figura 20A.** Se realizó el llenado y sellado con el alcohol povilínico.
- Figura 21A.** Congelación de las pajillas en cooler con temperatura de 4°C.
- Figura 22A.** Congelación de pajillas con vapor de Nitrógeno líquido.
- Figura 23A.** Las pajillas de cada muestra se las lleva al tanque de Nitrógeno.

Figura 24A. Evaluación microscópicas y macroscópicas en semen descongelado en 35°C.

Figura 25A. Descongelamiento de las pajillas a 37°C.

Figura 26A. Semen postdescongelado del primer macho.

Figura 27A. Semen postdescongelado del segundo macho.

Figura 28A. Semen postdescongelado del tercer macho.

Figura 29A. Evaluación morfológica y vitabilidad espermática en el primer macho.

Figura 30A. Evaluación morfológica y vitabilidad espermática en el primer macho.

Figura 31A. Evaluación morfológica y vitabilidad espermática en el tercer macho.

INTRODUCCIÓN

La existencia de los caprinos en el mundo es alrededor de 1005 millones de cabezas con la mayor población ubicados en los países con alto nivel de pobreza, cuya finalidad es el autoconsumo y venta doméstica para así sobrevivir (Bacilio, 2015). En el Ecuador según las cifras del MAGAP, se aprecia una población de caprinos de 130.091 cabezas, de las cuales el 44.5% pertenecen a la región Costa, 43.4% a la región Sierra (Cánepa, 2015).

El caprino es un animal que se define por su docilidad, precocidad, rusticidad y adaptación al medio ambiente, una especie para reproducción y producción. Esta especie ha pasado a formar parte de la alimentación del hombre, acompañando en sus diferentes desplazamientos y participando de su vida nómada y sedentaria (Bacilio, 2015).

En el Ecuador, los caprinos son parte de la actividad socio-económica de pequeños productores pecuarios. Las razas predominantes son Anglo Nubian, Criolla, Bóer y Sanen, localizándose en la Sierra los cuatro genotipos de cabras, mientras que en la Costa predomina la Anglo-Nubian y Criolla y en la región Oriente e Insular se localiza la Criolla (Camacho, 2018).

En Santa Elena, el 25% de tenedores de ganado caprino contribuye a la subsistencia económica de las familias, sin embargo, el manejo reproductivo es deficiente y existe un marcado % de consanguineidad (Solís *et al.*, 2020)

Según Gonzáles (2005), actualmente la biotecnología reproductiva comprende una serie de biotécnicas que aumenta la eficiencia en reproducción animal, ayuda al mejoramiento genético de las especies, y aumentar el número de animales en un corto plazo, como la técnica de crío preservación que es eficiente en la cual se almacena el material genético de la mayoría de especies como la de los caprinos, para obtener una seguridad sanitaria y minimizar el riesgo de brotes de enfermedades; pero, es

importante conocer los aspectos relacionados directamente a esta técnica de reproducción animal (Hernández *et al.*, 2020).

La crio preservación de semen es innovador en la biotecnología en reproducción animal con la finalidad de conservar el germoplasma, que, junto con la inseminación artificial (IA), proporcionan un ahorro en la economía para los productores que se dedican al ámbito ganadero; esta biotecnología beneficia al reducir los costos en el manejo de un macho reproductor, y también disminuir los riesgos de propagar enfermedades por transmisión sexual (Anchatuña, 2017).

Es importante considerar que la congelación y descongelación del semen caprino produce daños a los espermatozoides en la morfología espermática, motilidad, vigor y con un aproximado de muerte de espermatozoides del 30%, reduciendo el porcentaje de espermatozoides móviles en un 50%. Por lo que una opción para conservar en un buen estado el semen y los espermatozoides se utiliza diluyentes como el optixcell que es a base de amortiguadores de pH (tris, ácido cítrico), azúcares con bajo peso molecular (fructuosa, glucosa) que pasan a través de la membrana celular sirviendo como fuente energía para el espermatozoide, el que se utiliza en una relación de 1:1 (Parada, 2015).

El presente estudio pretende promover la inseminación artificial en cabras, ya que en la provincia de Santa Elena es poco utilizada en las explotaciones caprinas que actualmente no presentan progreso genético debido a que los reproductores son seleccionado de los animales de la misma finca, lo que atare con ello problemas de consanguinidad ya que los cruzamientos se realizan sin controles y las castraciones en esta especie son una actividad poco común de los pequeños ganaderos.

Problema Científico:

¿Utilizar la técnica de criopreservación de semen es una alternativa viable para conservar una buena calidad seminal en la reproducción caprina?

Objetivo General:

Evaluar la técnica de crío preservación sobre la calidad del semen caprino en fresco y post descongelado.

Objetivos Específicos:

- Evaluar las características macroscópicas en semen caprino fresco.
- Evaluar la calidad del semen caprino antes y después del proceso de críoconservación.

Hipótesis:

- La calidad espermática del semen de caprino sometidos a técnicas de crío preservación se ve afectada a la post congelación.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Reproducción en caprinos

1.1.1 Aspectos reproductivos del macho caprino

El fotoperiodo y los factores ambientales son importantes e influyen mucho en los machos caprinos al presentar variaciones estacionales en el servicio y en la calidad espermática; los niveles sanguíneos de andrógenos (testosterona) van incrementando dependiendo del clima en donde se encuentran los machos; ellos son del clima cálido, mientras que en invierno la testosterona decrece (Urviola *et al.*, 2017).

Señala el autor mencionado anteriormente, que en el sistema hormonal intervienen los andrógenos que son producidos en los testículos, que ayuda a mantener funcionalmente en actividad manifestándose al macho caprino los caracteres sexuales secundarios.

1.1.2 Determinación de la edad y peso vivo a la pubertad

El buen funcionamiento del aparato reproductor y la actividad sexual depende tanto el desarrollo corporal como de una buena alimentación, manejo sanitario entre otros factores importantes. El macho, debe tener un peso óptimo de 30 kg, por lo que el factor nutricional es uno de los aspectos más importantes para que llegue a la madurez sexual; el macho cabrío a los 3 y 4 meses de edad ya está en el momento de producir espermatozoides, la libido y la erección del pene se presenta después, pero para evitar preñeces no deseadas es necesario que los animales sean separados dependiendo de su sexo (Solís *et al.*, 2014).

1.2 Técnica de Reproducción en caprinos

1.2.1 Manejo del macho

Para realizar reproducción animal se debe de comenzar con el respectivo adiestramiento de los machos, donde se elige los animales que se va a trabajar y dependiendo del método ya sea con vagina artificial (maniquí) o electro eyaculador y tener en cuenta una serie de cuidados en los animales, donde se busca reforzar los reflejos condicionados del animal que conduce al cortejo, la monta, desvaine, penetración y la eyaculación; esta práctica debe estar en presencia del personal

establecido en el campo, los machos deben de ser registrados al momento de hacer la práctica, se debe visualizar el estado nutricional del animal al momento del adiestramiento para saber si son aptos o no, los machos con menor estado nutricional manifiesta un menor estado de libido (Aisen, 2015).

1.3 Equipos y materiales de uso en la técnica de reproducción en caprinos

1.3.1 Eyaculación

La eyaculación empieza con la presencia de la libido o también conocido como el deseo sexual en el caprino lo cual interviene la testosterona (Valdez, 2013). Una hembra en celo ayuda que el macho aumente la actividad sexual, el pene se mantiene dentro de la vaina hasta que monta, se da el movimiento de propulsión, seguido de la eyaculación, puede ser inhibida por varios factores externos por ejemplo, temperatura y presión, los factores fisiológicos; dolores, lesiones musculares entre otro también presentan los factores patológicos; adherencias en el pene, enfermedades (Valdez, 2013).

1.3.2 Semen caprino

Según Hernández (2020) el semen de macho caprino es de color blanco grisáceo o amarillento, la densidad como el color del semen muestra la relación directamente con la concentración de espermática, pudiendo así diferenciar de un eyaculado a otro aún en el mismo macho, el volumen del eyaculado de 1.2 ml depende de la edad y del peso corporal del animal, la concentración espermática está desde 2-6 millones de espermatozoides por ml y consistencia inestable desde cremosa espesa (indica buena calidad seminal) hasta clara-acuosa o blanquecino traslúcido que indica que no tiene buena calidad seminal y no es apto para las evaluaciones (Hernández, 2020).

1.3.3 La electroeyaculación

El electroeyaculador es un equipo que envía una serie de pulsos cortos, de bajo voltaje de corriente a los genitales y los nervios pélvicos que ayudan a que el animal desenvaine y eyacule, es una fuente de energía que contiene una batería que ayuda a controlar los circuitos para que no ocasione electrocución accidental en el animal. Para realizar esta práctica es necesario que el animal se le realice corte de pelo del prepucio y un lavado en la zona genital, la sonda se lubrica antes de introducir en el recto del macho, se prosigue al estímulo hasta así lograr la erección y eyaculación, una vez

retirada la sonda el pene vuelve a su lugar, esta práctica no debe durar más de 5 minutos (Mejía, 2017).

1.3.4 Colecta y evaluación de semen

Según Mejía (2017), cuando se realiza una planificación de extracción de semen caprino ya sea para su manejo tanto fresco o post descongelado, es importante tener en cuenta el estado nutricional y sanitario que se encuentra el animal, una de las técnicas que se recomienda para tener una buena colecta de semen es la utilización de electroeyaculador dicho implemento provee corrientes eléctricas para que pueda producir la eyaculación en el tubo recolector graduado que se encuentra en la canasta (Mejía, 2017).

La evaluación seminal es un análisis de muestras del macho también se le conoce como espermiograma consiste en varias pruebas que se evalúa factores a nivel microscópico y macroscópico, tiene como finalidad de clasificar la muestra del semen si es apto o no para poder realizar la inseminación artificial (Hernández, 2020).

1.4 Manejo del semen fresco y congelado

1.4.1 Manejo del semen fresco

Según Ramos (2019), la IA con la utilización de semen fresco y post descongelado hace énfasis al manejo del eyaculado entre su adquisición y la deposición en el tracto reproductivo de la hembra. Una vez que el semen sea evaluado en una forma macro y microscópica donde dio un resultado óptimo ya que cumple con las normas para ser utilizado.

El diluyente es calentado en baño maría a 28°-30°C para que sus componentes se activen al momento de hacer la dilución, se debe realizar una mezcla realizando movimientos oscilatorios. El semen fresco caprino diluido y refrigerado a 5°C, no debe de ser conservado por largos periodos a 8-12 horas, ya que pierde el nivel de poder fecundar (Ramos, 2019).

1.4.2 Dilución del semen

La dilución del semen caprino se debe de llevar a cabo cuidadosamente a una temperatura ambiente de 32°C y 35°C de una forma lenta para que no salga afectada las células espermáticas, es necesario realizar evaluaciones del semen diluido (Avila, 2019)

1.4.3 Manejo del semen congelado

Según Ramos (2019), el proceso de congelación de semen caprino se debe de realizar en dos etapas, enfriamiento y congelación, uno de los factores más importante a considerar en este proceso es la agregación del crioprotector. El glicerol se puede agregar ya sea directamente en el diluyente o añadirse en fracción separada del diluyente. El descongelamiento del semen se debe de realizar a una temperatura de 36°C en un ambiente a 25°C. después del descongelamiento se debe utilizar en la inseminación artificial (Ramos, 2019).

1.4.4 Medios comerciales

La parte fundamental del medio comercial para la criopreservación del semen caprino es prolongar la capacidad de la fertilización de los espermatozoides al reducir o detener su movilidad y reacciones metabólicas, el producto espermático ya sea bovino o caprino se puede conservar en estado líquido o sólido. En este caso en los sementales caprinos se va a evaluar con el diluyente optixcell, en semen fresco y congelado donde se analizará las variables; motilidad progresiva, morfología espermática y vitalidad espermática (Melo, 2020)

- **Diluyente Optixcell**

Este diluyente es recomendado para semen fresco y congelado donde ayuda a la motilidad en concentraciones subóptimas, está basada en liposomas sintetizados (sin proteína animal), esto reemplaza la yema de huevo (Melo, 2020).

Composición:

Carbohidratos, sales minerales, tampón, antioxidantes, glicerol, fosfolípidos, agua ultrapura, antibióticos (Gentamicina, Tilosina, Lincomicina y Espectinomicina).

1.4.5 Acondicionamiento del semen caprino para su congelamiento

Según Cueto *et al.* (2000), las pajillas pueden ser congeladas en pastillas de hielo seco o vapores de nitrógeno líquido, es importante mantener las pajillas en el tanque de nitrógeno si se va a realizar cualquiera de estas dos maneras es importante conservar las pajuelas en termo de nitrógeno líquido. En el proceso de congelamiento se debe de realizar cualquiera de estas dos maneras es importante conservar las pajuelas en termo de nitrógeno líquido. En el proceso de congelamiento se debe de realizar en un lugar a baja temperatura y homogeneizar (Cueto *et al.*, 2000).

1.4.6 Congelamiento del semen en pajuelas

Según Calvo *et al.* (2016), el semen evaluado se debe diluir, la dilución final se envasa en pajillas de 0.25 cc o 0.50 cc extrayendo una gota para sellarlas con alcohol polivinílico en polvo, después se les coloca en el rack, donde se las introduce en agua en 4°C durante 3 horas, se prosigue con la congelación en nitrógeno líquido a 2 cm, las pajuelas deben de estar en diferentes alturas y tiempos, primero a 6 cm en 6 minutos, 4 cm en 4 minutos, por último en el cooler hasta que las pajuelas se estabilicen, se lleva a cabo a congelación mediante en vapor de NL-196°C, colocando las gradillas en el tanque (Calvo *et al.*, 2016).

1.4.7 Descongelamiento y evaluación del semen caprino.

Las pajillas se deben calentar en el agua a 35-37°C, donde se extraerá la dilución, para hacer la respectiva evaluación; se debe colocar en baño maría por 30-40 s las pajillas de 0.25 ml y 0.5 ml., donde se seca y se corta para verter en tubo eppendorf y conservar en baño maría para realizar las respectivas evaluaciones (Hernández, 2020).

1.5. Evaluación macroscópica del semen caprino

1.5.1 Volumen: este parámetro se mide utilizando tubos falcón de recolección graduado, cuándo se hace la extracción seminal utilizando el equipo electroeyaculador donde se obtiene el eyaculado de de 1-1.5 ml., dependiendo de la condición corporal del animal (Llivi, 2015).

1.5.2 Color: normalmente el color del semen de los caprinos es blanquecino amarillento son aptos para la evaluación, mientras que el semen que es de color rosado o blanco-traslucido, marrón y verdoso son señales de que el macho presenta alguna patología. Cuando se torna de un color gris es por alguna contaminación (Andrade *et al.*, 2020).

1.5.3 Olor: es característico de cada especie animal, no es muy intenso, cuando el prepucio está lesionado presenta contaminación torna olor desagradable (Llivi, 2015).

1.5.4 Aspecto: este parámetro indica la consistencia de las muestras, depende del número de espermatozoides/mm³ (Agüero, 2012).

1.6. Evaluación microscópica

Para evaluar la calidad seminal se realiza por medio de valores que va indicando ya sea la concentración, motilidad masal, motilidad individual, vigor y morfología espermática, como en las siguientes tablas;

1.6.1 Concentración: los animales que presentan buena condición corporal son los que presentan de 1500 -5000 millones de espermatozoides/ml. Tanto la consistencia como la concentración se evaluará con valores de 0 a 5 (Ariagno, 2016).

Tabla 1. Consistencia y concentraciones en la evaluación microscópica de semen

Valor	Color/consistencia	Concentración espermática(x10 ⁶ /ml)
5	Creмосa espesa	5000
4	Creмосa	4000
3	Creмосa suave	3000
2	Lechosa	2000
1	Aubosa	700
0	Acuosa	Insignificante

Fuente: Vera (2009)

1.6.2 Motilidad en masa microscópica: la evaluación seminal se refiere a la cantidad y calidad del movimiento espermático ya sea en estado fresco o post congelado, para la evaluación se observará los 5 valores con la finalidad de saber si el eyaculado es apto para su procesamiento hasta obtener las pajuelas (Moncayo, 2016).

Tabla 2. Valoración semicuantitativa de la motilidad en masa microscópica

Valor	Clase	Descripción
5	Muy buena	Ondas densas de movimiento muy rápidas.
4	Buena	Ondas y remolinos vigorosos pero no tan rápidas.
3	Regular	Ondas de movimiento lento
2	Pobre	No aparecen ondas, pero se ven movimientos espermáticos.
1	Muy pobre	Muy pocos movimientos
0	Muertos	Sin movimientos

Fuente: Vera (2009)

1.6.3 Motilidad Individual progresivo: según Hernández (2016), los espermatozoides con motilidad individual progresiva son aquellos que se presentan desplazamiento energético, activo y rectilíneo en sentido de avance. El porcentaje que se indica es para mostrar el movimiento rectilíneo progresivo del total de espermatozoides aceptados, el valor optimo es del 50% (Hernández, 2016).

Muy Bueno = 80-100%

Bueno =60-79%

Regular =40-59%

Pésimo= menos de 40%

1.6.4 Vigor: la motilidad individual y el vigor de los espermatozoides se evalúan al mismo tiempo, hace referencia la velocidad de los espermatozoides y se clasifica en escala (Maurat, 2018):

Tabla 3. Escala de nivel de movimientos.

Grado	Nivel de movimiento
5	Movimiento progresivo muy rápido (difícil de seguir visualmente)
4	Movimiento progresivo rápido
3	Movimiento progresivo continuo a velocidad lenta
2	Movimiento lento de cola con algo de movimiento progresivo
1	Leve movimiento de cola sin desplazamiento progresivo
0	Sin movimiento

Fuente: Maurat (2018)

1.6.5 Morfología del espermatozoide: morfología espermática es un parámetro importante, indica el descenso de la fertilidad en los animales, en esta parte se utiliza un reactivo llamado eosina, ayuda a determinar el porcentaje de espermatozoides que presenta alguna anomalía ya sea en la cabeza, cuello o cola, para realizar esta evaluación es necesario tener un microscopio óptico (40x) provisto en platina térmica (37°C) contando los espermatozoides. Las categorías de las anomalías de los espermatozoides se agrupan en cromosomas dañados o desprendidos, microcéfalo, macrocéfalo, decapitados, mala implantación de la pieza intermedia, presencia de gota citoplasmática y colas torcidas (Gimeno, 2014).

1.7 Ejemplos de crío preservación

Existen varias técnicas de biotecnologías para reproducción animal por ejemplo la crío preservación de embriones consiste en conservar los embriones obtenidos de las madres superovuladas se da más en el caso de los bovinos, en los últimos años se ha desarrollado la crío preservación de los oocitos y embriones *in vitro*, lograr un buen número de embriones por cada ciclo estral de la madre donadora élite, asistida con varios tratamientos superovulatorios transfiriendo a una vaca receptora con una excelente condición y apta para llevar a cabo la preñez y el nacimiento de las crías, para una mejor reproducción, logrando una buena explotación de la especie (Rodríguez *et al.*, 2010).

Otro ejemplo de crio preservación es el que consiste en la conservación de espermatozoides es una biotecnología importante está asociada con la inseminación artificial, ayuda a conservar el germoplasma animal colectados por los equipos (vagina artificial o electro eyaculador), donde se lleva un protocolo de congelación y descongelación para la conservación de la motilidad y mantener un buen nivel de viabilidad espermática (Barbosa *et al.*, 2014).

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Localización y descripción del área estudio

Como área de estudio se escogió al centro de Apoyo Río Verde, en la provincia de Santa Elena (Figura 1), que presenta climas seco y lluvioso, con bajas precipitaciones de junio a octubre y en los meses de estación seca, julio a noviembre, la precipitación es cercana a cero. En la temperatura, los valores mínimos y máximos oscilan entre 24 °C y 24 -32°C, respectivamente (García, 2015).



Figura 1. Localización del lugar donde se realizó el estudio

2.2. Materiales y equipos

2.2.1 Material Biológico: se evaluaron 4 caprinos preseleccionados de acuerdo a su edad y estado nutricional, los que previamente tuvieron adiestramiento para realizar la colecta de semen por medio del electroeyaculador y se llevó a una evaluación de la calidad espermática tanto microscópica y macroscópica en semen fresco como post descongelado.

2.2.2 *Material de campo*

- Maniquí
- Overol
- Guantes
- Botas
- Recipientes
- Agua
- Hojas de campo
- Marcador permanente de pajuelas

2.2.4 *Materiales de laboratorio*

- Caja Petri
- Vasos de precipitación
- Probetas de 100 ml.
- Probetas de 10ml.
- Agua bidestilada
- Tubos para conservar el diluyente
- Pajuelas
- Tanque de nitrógeno
- Alcohol Polivinílico
- Refrigerador
- Guantes
- Termómetro de mercurio
- Termo de agua
- Baño termostático, gradilla.
- Protocolo seminal

2.2.3 *Equipos*

- Vagina artificial
- Baño maría
- Plancha térmica
- Microscopio de contraste
- Baño maría
- Termo de nitrógeno
- Platina térmica

2.2.5 *Reactivos*

- Diluyente Optixcell
- 1 frasco de 50ml. de eosina.

2.3. Tipo de investigación

La investigación fue descriptiva, ya que inició con la recolección de semen, para posteriormente seguir con protocolos internacionales y evaluar el semen en fresco y congelado, y por medio de sus características, describir la calidad espermática que esta posee al ser sometido a métodos de conservación.

2.4. Manejo del experimento

2.4.1 Limpieza del área y animales: se realizó la limpieza del área y a los animales se les dio un buen manejo, se limpió y cortó los pelos prepuciales para así evitar alguna presencia de cuerpos extraños en la colecta.

2.4.2 Manejo de los machos: se seleccionaron 4 machos que presentaron un óptimo estado nutricional, salud y características fenotípicas; una vez elegido los machos se realizó la vacunación, desparasitación y vitaminización. Luego de esto, a los caprinos adiestrados, se les realizó la práctica con el electroeyaculador.

2.4.3 Manejo del laboratorio: se limpió y organizó los equipos y materiales para la evaluación de las muestras de semen de los caprinos y se tomó las precauciones necesarias para evitar algún tipo de contaminación.

2.4.4 Recolección del semen: la colecta del semen se realizó por medio del electroeyaculador y con tubos graduados; consistió en introducir el instrumento por vía rectal para enviar choques eléctricos leves al sistema reproductivo de los machos y con la ayuda de un maniquí como soporte se realizó la extracción de semen.

2.5. Variables experimentales

Las variables fueron tomadas de acuerdo al tipo de evaluación, macroscópica y microscópica.

2.5.1 Evaluación macroscópica

Para la evaluación macroscópica, una vez obtenido el semen, es colocado en tubos de ensayos en agua a baño maría a 36°C para realizar las evaluaciones. Se realizó un protocolo para la conservación de los espermatozoides, como se detalla en la revisión bibliográfica.

Volumen: se determinó con la ayuda del tubo recolector que presenta graduaciones en mililitros.

Color: con la ayuda de los tubos de ensayos se puede diferenciar los tipos de colores que existe en la escala, en la que, el color rosado o blanco-traslucido, marrón y verdoso son señales de alguna patología; color gris indica contaminación.

Aspecto: se determinó por el grado de opacidad de las muestras. Con la ayuda de la escala se puede determinar el aspecto de las muestras (Tabla 4).

Tabla 4. Aspectos de semen

Valor	Color/aspecto
5	Creмосa espesa
4	Creмосa
3	Creмосa suave
2	Lechosa
1	Aubosa
0	Acuosa

2.5.2 Evaluación Microscópica

La evaluación microscópica se observó los diferentes parámetros como motilidad individual o progresiva y motilidad masal, concentración, morfología espermática,

a) **Motilidad masal:** para la motilidad masal se evaluó la cantidad y calidad del movimiento espermática en estado fresco y descongelado.

Motilidad individual: en este parámetro se agregó una gota de semen fresco y se evaluó el % de movimiento de los espermatozoides.

Concentración espermática (CE): la concentración se determinó con la cámara de Neubauer. El equipo contiene dos cámaras una superior y otra en la parte inferior; se realizó una dilución de 1:400, se colocó 2.5 ml de H₂O y 2.5 ml de semen; se extrajo con la micropipeta 5 ml de la dilución y se colocó en la cámara de Neubauer la cual está dividida en 5 cuadrantes, se contaron los espermatozoides en la esquina y centro de cada cuadrante, se sumaron los espermatozoides encontrados en cada cuadrante; el resultado fue expresado en millones por mililitro ($\times 10^6$ esp/ml).

$$CE = NE \times NC \times AC \times 1000 \times FD$$

NE= número de espermatozoides contados en los 5 cuadrantes

NC= número de cuadrantes (5 cuadrantes).

AC= altura de cada cuadrícula.

FACTOR= 1000

FD= factor de dilución 1:400

Morfología espermática (ME): en este parámetro se indicó la fertilidad de los animales. En una porta objeto se colocó 2.5 ml de semen fresco y 2.5 ml de eosina, se mezcló y homogeneizó para observar al microscopio con lente de 40X los espermatozoides. Aquellos espermatozoides que tomaron una tinción morada en la cabeza se consideraron muertos y los que no presentaron tinción espermatozoides vivos.

Los espermatozoides normales y anormales: los espermatozoides vivos normales y muerto normales y con morfo-anomalías y fue calculada mediante observación en el microscopio con lente de 40X utilizando una regla de tres.

a) Regla de tres para espermatozoides anormales y normales:

-El total de la muestra se considera el 100%. De este total se observaron los espermatozoides normales y se transforma en %. La diferencia entre el total de espermatozoides normales menos el 100% de la muestra fue el porcentaje de espermatozoides anormales.

b) Regla de tres para espermatozoides vivos y muertos:

-El total de la muestra se considera el 100%. De este total se observaron los espermatozoides muertos y se transformó en %. La diferencia entre el total de espermatozoides muertos menos el 100% de la muestra fue el porcentaje de espermatozoides vivos.

Espermatozoides Viables (EV)

EV= volumen x concentración x morf normales x mot. individual

Volumen= el eyaculado de las muestras de los caprinos

Concentración= valor calculado con la cámara de Neubauer

Morfologías normales= el porcentaje Morf. Normales dividido para 100.

Motilidad individual= el porcentaje Mot. Individual dividido para 100.

Total de Pajuelas (TP)

$$TP= EV / 40$$

EV= espermatozoides viables

Se utilizó una pajilla de 0.5 cc una concentración de 40-50 millones espermatozoides; se trabajó con 40 millones de espermatozoides.

Volumen final (VF)

$$VF= TP / Pajuela$$

Pajilla= acorde al tipo de pajuela, se utilizó la de 0.5 cc → 2.

Volumen de dilución final (VDF)

$$\text{Volumen de dilución final} = VF - VE - VP$$

VF= volumen final

VE= Volumen del eyaculado

VP= Volumen de la predilución

Una vez obtenida el Volumen de dilución final, se realiza la pre dilución:

$$\text{VDF} / 3 = \text{Diluyente} -$$

ese valor se le restó al Volumen final y dio como resultado de H₂O.

Acondicionamiento: las muestras de los machos se les dejaron reposar durante 45 minutos en temperatura ambiente alejadas de la luz y del polvo, lo que permite que salga todo el H₂O e ingrese el diluyente y los espermatozoides comiencen acondicionarse.

Llenado de las pajuelas: una vez realizada las evaluaciones micro y macroscópicas, se prosiguió al llenado de las pajuelas con las tres diluciones y se les marcó para diferenciar.

Pajillas + dilución + alcohol polivinílico + agua destilada

Por cada dilución de los machos se llenaron las pajillas, se escogió tres pajillas y se absorbió por el extremo que contenía el algodón, con una jeringa se extrajo una gota dejando una pequeña burbuja de aire en el otro extremo, la parte de dónde quedó el aire se llenó de alcohol polivinílico y se introdujo al vaso con agua, así sellando la pajilla.

Congelación: una vez realizado todo el procedimiento del llenado y sellado de las pajillas se realizó el proceso de congelamiento. En el cooler se colocó agua con cubos de hielos por 30 minutos ocasionando un descenso de la temperatura a menos de 4°C, momento en el que se ingresó a las pajillas durante 3 horas, tiempo en el que se las retiró, secó y se las ubicó en el rack, para continuar con la segunda parte del congelamiento. En el cooler se colocó nitrógeno líquido a 2 cm de altura y se introdujo el rack con las pajillas a 6 cm de altura por 6 minutos y después 4 cm de altura por 4 minutos; transcurrido este tiempo se retiró las pajillas y se las colocó en cada porta pajuelas del tanque de nitrógeno. Previo a esto, se marcó las muestras acorde al animal al que pertenecían para diferenciarlas y se las ingresó al tanque de nitrógeno líquido.

Descongelamiento: consistió en elegir 10 pajuelas de cada macho y descongelar a 37°C en 45 segundos e inmediatamente cortar la pajilla en el extremo sellado con el alcohol polivinílico, y realizar las evaluaciones microscópicas: motilidad individual, motilidad masal, morfología espermática y viabilidad del espermatozoide.

2.6.Análisis estadístico

Los datos de las evaluaciones microscópicas y macroscópicas tanto en semen fresco como descongelado fueron analizados a través de medidas resume utilizando el software INFOSTAT, versión libre.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Características macroscópicas y microscópicas del semen fresco

Las características macroscópicas de las muestras de semen fresco, Tabla 4, muestran que los 4 machos tuvieron un volumen de eyaculado de 1 a 2 ml considerado dentro del rango normal. Los tres primeros machos presentaron buen aspecto, de cremosa a espeso; el color varió de blanquecino a amarillento y olor Sui Generis. El macho 4 presentó un color blanquecino-traslucido, sin embargo, no fue factible medir las otras variables por lo defectuoso del semen.

Tabla 5. Características macroscópicas en semen fresco caprino

Macho	Edad	Volumen (ml)	Aspecto	Color	Olor
1	4	1	Creмосa	Blanquecina-amarillenta	Sui Generis
2	2	1.5	Espesa	blanquecina-amarillenta	Sui Generis
3	3	2	Creмосa	blanquecina-amarillenta	Sui Generis
4	2	1.6	Lechosa	blanquecino-traslucido	Sui Generis -

El volumen del eyaculado depende del estado nutricional, edad, estado fisiológico, manejo sanitario, el lugar de donde se realizó la práctica, por lo que el volumen obtenido se encuentra dentro de los rangos normales (Ramos, 2019). Al respecto Rojas (2014) manifiesta que el color del eyaculado de los caprinos es de un color amarillo, que varía entre espeso y cremoso dependiendo de la concentración de los espermatozoides; se debe recalcar que el color blanco-amarillento encontrado en la presente investigación está dentro de los reportados en la técnica de criopreservación de semen caprino. En otra investigación, Moncayo (2016) identificó el olor con el término Sui generis y señala que, si el olor no es muy intenso, el animal no padece lesiones; cuando el prepucio está lesionado, se tornará en un olor a putrefacción. En la presente investigación, en los tres primeros machos caprinos se identificó el olor como Sui generis, mientras que del cuarto cabrón no se obtuvo resultado, posiblemente por alguna lesión o contaminación.

3.2 Características microscópicas del semen fresco

El análisis de las características microscópicas de las diferentes muestras indica que los tres primeros machos tenían una mejor calidad seminal, que va desde 1060000000 de espermatozoides, para el macho de 4 años de edad, se obtuvo 2400000000 espermatozoides.

La motilidad masal e individual evaluada en porcentaje fue de un 80% para los machos 1, 2 y 3; el macho número 4 obtuvo un valor de menos del 40% con una consistencia nubosa, por lo que fue descartado para realizar las mediciones posdescongelamiento. Las morfo anomalías no sobrepasaron el 15%, con un 3% de espermatozoides que presentaron deformidades en la cabeza y un 12% con cola enrollada.

Tabla 6. Características microscópicas en semen fresco

Macho	Edad	C.E.	Mot. masal (%)	Mot. individual (%)	Morfo-anomalías (%)	Viabilidad espermática(%)
1	4	2400x10 ⁶	80	80	13	94
2	2	2180 x10 ⁶	80	77	15	91
3	3	2120 x10 ⁶	80	83	12	93
4	2	1060 x10 ⁶	<40	<40		

Mot. Motilidad; C.E. Concentración espermática

Los valores de concentración espermática (CE) de esta investigación son similares a los obtenidos por Parada (2019) quién reportó concentraciones espermáticas de 1.0x10⁶ hasta 4.5x10⁶, con consistencia de lechoso y cremoso espeso. En lo referente a la motilidad masal, con los resultados de los tres primeros machos se coincide con Nieto (2010) pues obtuvo un promedio de 70 a 86% en semen fresco; lo que indica una buena calidad seminal y con buen movimiento, mientras que el valor menos del 40% indicaría que la muestra estaba defectuosa. Las muestras con un mejor desempeño en la variable motilidad individual (77% hasta 83%) en los tres machos están en el rango de la investigación de Livi (2015). La viabilidad espermática se reportó con valores similares de un semen fresco, es decir que las muestras presentan una calidad

alta de espermatozoides vivos, coincidiendo son los resultados indicados por Ramos (2019).

3.3. Características microscópicas en semen post descongelado

Al evaluar las características microscópicas se observó que la dilución después del congelamiento presentó resultados satisfactorios. La motilidad masal para los tres machos fue de 50%. El valor más alto de la motilidad individual fue para el primer macho con un promedio de 61.5 %: Las morfo anomalías se presentaron más en el segundo macho con un promedio de 16.7%, mientras que la viabilidad espermática más alta fue para el primer macho con un valor promedio de 58.5%. Los resultados encontrados indican que las pajillas estaban óptimas para realizar la inseminación artificial, Tabla 6. Los valores encontrados entran en el rango de la investigación realizada por Lozada (2016), que obtuvo valores de un 60.4% de motilidad tanto masal como individual.

Tabla 7. Características microscópicas en semen post descongelado

Macho	Concentración	Mot. Masal (%)	Mot. Individual (%)	Morfo-Anomalías (%)	Viabilidad Espermática (%)
1	2400x10 ⁶	50	61.1	14.9	58.5
2	1920 x10 ⁶	50	51.5	16.7	48.3
3	1860 x10 ⁶	50	57.8%	14.3	54.2
4	1060 x10 ⁶	<40	<40		

3.4 Medidas de resumen de las variables en estudio

La Tabla 7 muestra los promedios de las características microscópicas en semen post descongelado que se realizó de los diferentes machos. Los valores son cercanos a la investigación de Cabrera (2012) quien obtuvo promedios de 56.7 y 59.1%, en las variables de estudio como motilidad individual, masal y vitabilidad espermática mostrando que los espermatozoides pueden mantenerse vivos en el proceso de post descongelado.

Tabla 8. Medidas de resumen de las variables en estudio

Variables	n	Media	Desv. Estándar	Min	Máx
Motilidad Individual	30	52.53	10.15	35.00	70.00
Morfo anomalías	30	14.97	1.90	12.00	19.00
Viabilidad espermática	30	51.50	6.24	40.00	60.00

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- En las características macroscópicas evaluadas, las muestras de semen mostraron valores 1 a 2 ml, color blanquecino- amarillento que indica que el semen está en un buen estado, el olor “Sui generis” buen olor, presentó aspectos de lechosa (1060×10^6 de espermatozoides) hasta cremosa (2400×10^6 de espermatozoides) con el aspecto se pudo determinar la concentración de las muestras.
- En las características microscópicas de semen fresco que fueron evaluadas el porcentaje tanto en motilidad individual y masal no fue mayor de un 83%, la morfología no fue mayor de un 15% tanto en la cola y cabeza de los espermatozoides, la vitabilidad espermática de un 94% en los machos. En semen post descongelado se enfocó en motilidad masal de un 50%, motilidad individual hasta un 61% como valor máximo, la vitabilidad de los espermatozoides hasta un 58% que indicó que las pajillas de los machos están aptas para ser utilizadas en inseminación artificial.
- Se concluye que la técnica de crio preservación no afecta la calidad seminal tanto en las características microscópicas al momento de ser sometida a la post descongelación dando resultados óptimos para realizar Inseminación artificial a las hembras.

Recomendaciones

- Tener un entrenamiento con los animales antes de realizar la recolección de semen en el campo.
- Usar caprinos con un buen manejo tanto en la alimentación como en salud para que no perjudique al momento de colecta de semen.

- La asepsia del lugar y el aseo del prepucio del animal. El polvo en la muestra perjudica las evaluaciones. De igual forma, la asepsia de los materiales de campo y de laboratorio para que no se contaminen la muestras.
- Seguir con el protocolo de colecta, dilución, congelación y descongelamiento, respetando el tiempo que se indica para tener un buen resultado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bacilio B. (2015) *Estudio socioeconómico de la ganadería caprina (caprahircus) en la zona norte de la parroquia colonche, cantón santa elena*. Maestría. Facultad De Ciencias Agrarias. Universidad Estatal Península De Santa Elena).
- Cánepa J. (2015) *Estudio de factibilidad para la producción, industrialización y comercialización de leche pasteurizada de cabra (capra hircus) en la provincia de pichincha*. Maestría. Colegio de Ciencias e Ingeniería. Universidad San Francisco De Quito.
- Camacho O. (2018) *Caracterización Fenotípica De La Cabra Criolla Y Su Sistema De Producción, En La Parroquia Mangahurco Del Cantón Zapotillo*. Maestría. Facultad Agropecuaria Y De Recursos Naturales Renovables
- Agüero G. (2012) *Evaluación de las Características Seminales de Sementales Bovinos mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA)*. Maestría. Facultad De Ciencias Veterinaria. Universidad Central De Venezuela.
- Andrade G. y Palma R. (2020) *Efecto de dos diluyentes y tiempo de permanencia sobre la viabilidad del semen de bovinos mestizos lecheros*. Maestría. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabímanuel Félix López.
- Ariagno J. (2016) *Guía práctica para la evaluación del semen*. Disponible en:<https://www.aba-online.org.ar/sitio/archivos/pdf/520/62/revista-aba-80-3-2016-guia-practica-para-la-evaluacion-ariagno-y-col-web.pdf>
- Rodríguez P. y Jiménez C. (2010) *Criopreservación de embriones bovinos producidos in vitro*. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/rfmvz/v58n2/v58n2a05.pdf>
- Avila G. (2019) *Estudio de factibilidad para la implementación de un laboratorio de producción de semen porcino comercial*. Maestría. Facultad De Ciencias Agrarias. Universidad Estatal Península de Santa Elena.

- Calvo J. (2016) *Obtención, evaluación y congelación de semen de antilope adulto (addax nasomaculatus)*. Maestría. Montevideo-Uruguay. Scielo.
- Cueto M. (2000) *Reproducción en caprinos*. Maestría. Centro Regional Patagonia Norte.
- Gimeno M. (2014) *Morfología espermática y parámetros seminales básicos en varones normo y oligoastenoteratozoospermicos*. Maestría. Universitat Politècnica De València.
- Hernández P. y Mercedes C. (2020) *Evaluación de la concepción en cabras utilizando semen crio preservado*". Maestría. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo.
- Llivi M. (2015) *Comparación de la fertilidad de semen fresco y semen crioconservado de cabras saanen, usando inseminación artificial, mediante el porcentaje de concepción*. Maestría. Universidad Central Del Ecuador.
- Lozada S. (2016) *Evaluación del uso de megadosis de vitamina c en ovinos machos reproductores a través del espermatograma*. Maestría. Universidad Central Del Ecuador.
- Maurat L. (2018) *Valoración de la calidad seminal en toros reproductores de 24 a 36 meses de edad de la raza charoláis de la provincia de morona santiago*. Maestría. Escuela Superior Politecnica De Chimborazo.
- Mejía J. (2017) *Evaluación pre y post congelación del semen obtenido con vagina artificial y electroeyaculador en el ganado criollo*. Maestría. Universidad De Cuenca.
- Melo Q. (2020) *Actualización en los diferentes protocolos utilizados en la criopreservación del semen caprino (capra aegagrus hircus)*. Maestría. Universidad De Cundinamarca.

- Moncayo P. (2016) *Evaluación de la calidad seminal de reproductores bovinos antes y después del proceso de criopreservación*. Maestría. Universidad Politécnica Salesiana de Quito.
- Nieto M. (2010) *Calidad espermatológica poscongelación de caprinos saanen en dos diferentes épocas del año*. Maestría. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Parada B. (2019) *Tratamientos posdescongelado del semen de carnero. Efecto de diferentes fracciones del plasma seminal sobre la cinética espermática*. Maestría. Universidad De La República.
- Ramos F. (2019) *Comparación de tres dilutores en la crio-conservación y viabilidad espermática de semen caprino en la estación experimental tunshi*. Maestría. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo.
- Rojas T. (2014) *Optimización del protocolo de crioconservación de semen caprino de la raza autóctona en peligro de extinción blanca de rasquera*. Maestría. Universidad Autónoma De Barcelona.
- Solís-Lucas, L, Lanari MA y Oyarzabal, MI 2020 'Tipificación Integral de Sistemas Caprinos de la Provincia de Santa Elena, Ecuador', La Granja: Revista de Ciencias de la Vida 31(1) 2020:82-95. Link: <https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/31.2020.06>
- Valdez D. (2013) *Efecto del dodecil sulfato iónico adicionado a un diluyente libre de yema de huevo sobre la calidad del semen ovino congelado*. Maestría. Universidad De Cuenca.
- Vera T. (2009) *Evaluación de viabilidad y fertilidad de espermatozoides caprinos congelados con diluyente sin proteína animal y el agregado de plasma seminal pos descongelado*. Maestría. Universidad Central Del Ecuador.
- Anchatuña C. (2017) *Efecto de distintos tiempos de equilibrio sobre la calidad espermática pre y post-congelación de semen bovino de toros*

reproductores holstein friesian. Maestría. Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia, Universidad Central Del Ecuador.

Cabrera P. (2012) *Viabilidad espermática e integridad del acrosoma en semen congelado de toros nacionales*. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S160991172012000200009

García E. (2015) *Estudio de factibilidad financiera para la producción de huevos de codorniz, en el centro de prácticas río verde, Santa Elena*. Maestría. Facultad De Ciencias Agrarias. Universidad Estatal Península de Santa Elena.

ANEXOS



Figura 1A. Entrenamiento de los machos.



Figura 2A. Limpieza y cortes de los pelos prepuciales en el primer macho.



Figura 3A. Simulación de la colecta de semen.



Figura 4A. Utilización de vagina artificial.



Figura 5A. Uso del electroejaculador para la colecta de semen en primer macho.



Figura 6A. Evaluación de la motilidad masal e individual en la primera muestra.



Figura 7A. Tinción,espermatozoides con morfoanomalías, espermatozoides vivos y muertos.

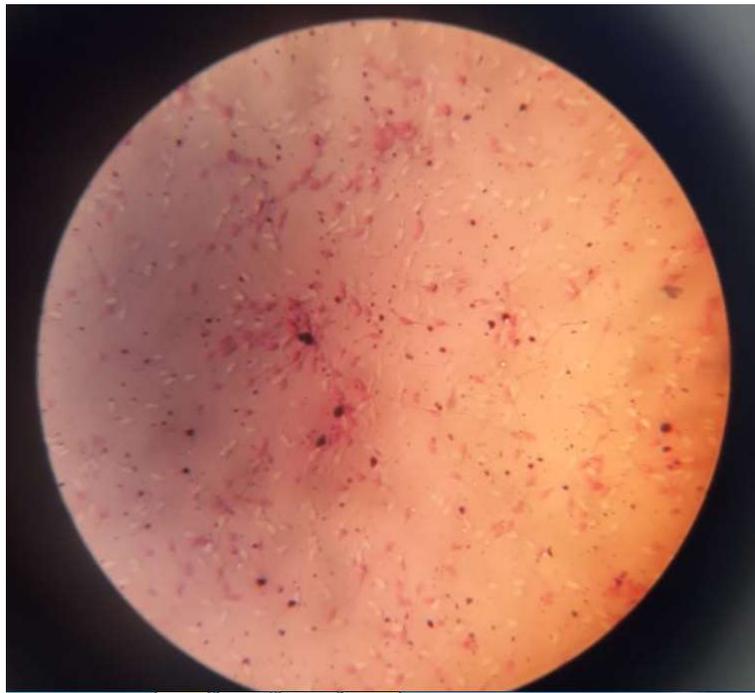


Figura 8A.La tinción ayudó a observar los espermatozoides con morfoanomalías, espermatozoides vivos y muertos.



Figura 9A. Uso del electroejaculador para la colecta de semen en el segundo macho.



Figura 10A. Evaluación de la motilidad masal e individual en el segunda muestra.

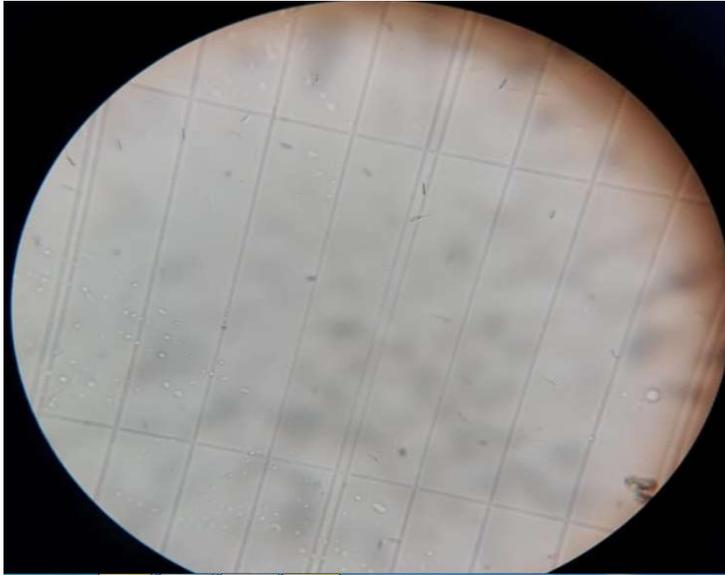


Figura 11A. Conteo de espermatozoides en la cámara de Neubauer.

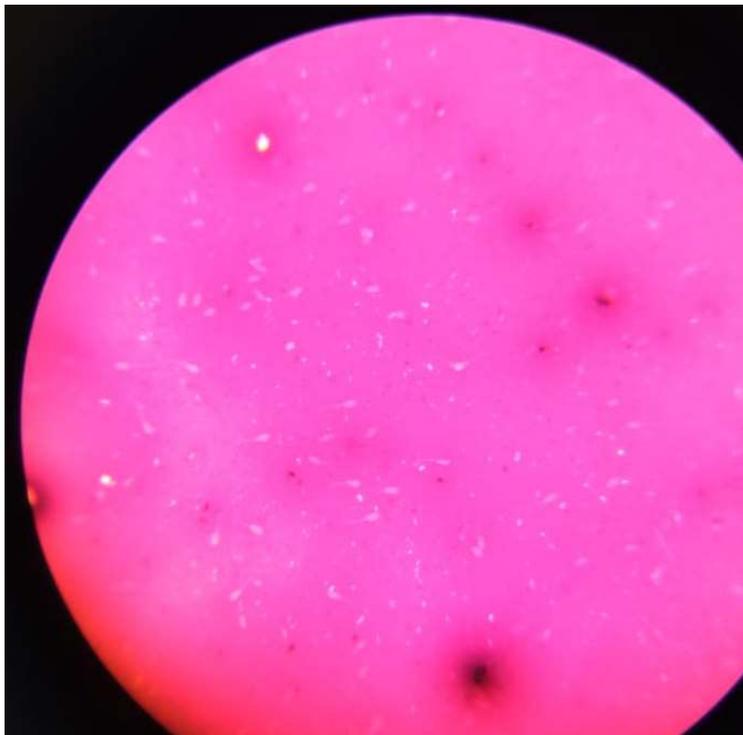


Figura 12A. Observar la morfología y vitabilidad de los espermatozoides.



Figura 13A. Uso del electroeyaculador para la colecta de semen en tercer macho.

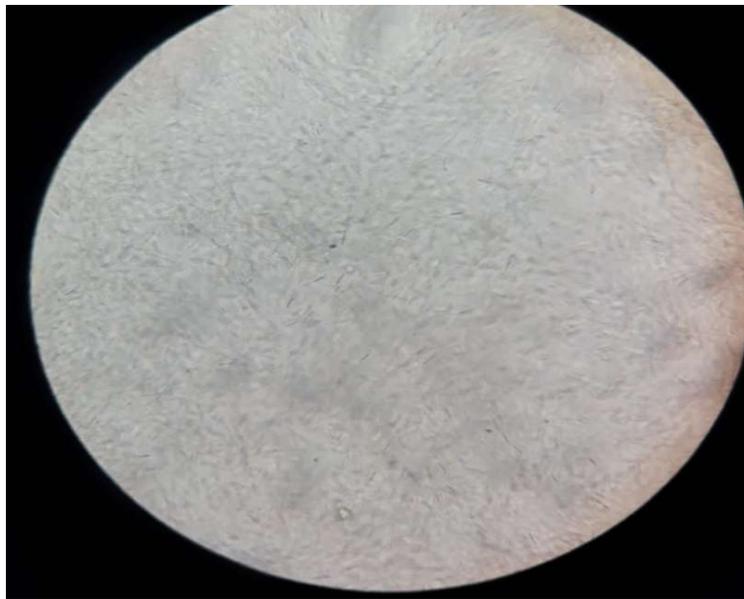


Figura 14A. Evaluación de la motilidad masal e individual en la segunda muestra.



Figura 15A. Conteo de espermatozoides en la cámara de Neubauer.

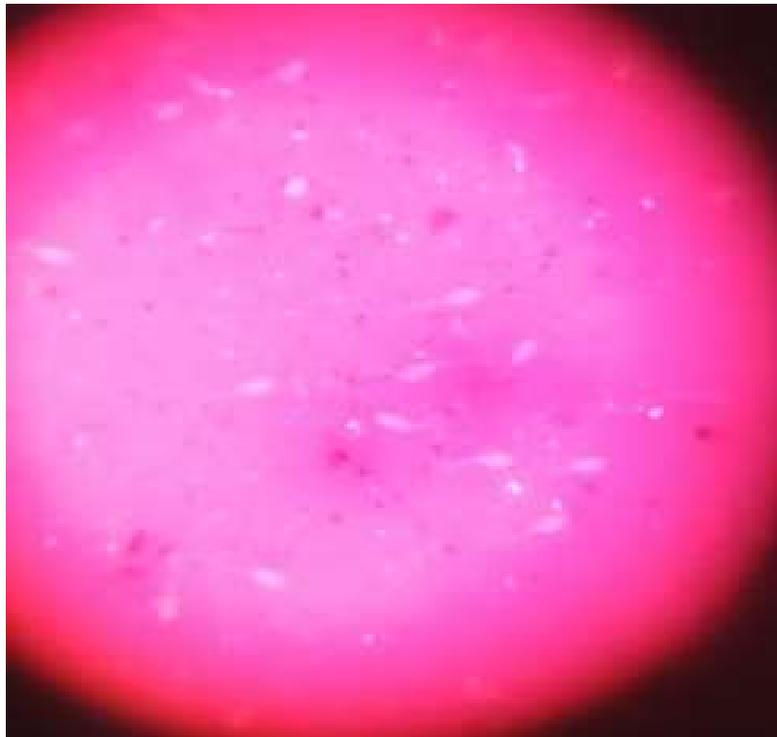


Figura 16A. Evaluación de la morfología y vitabilidad de los espermatozoides.



Figura 17A. Uso del electroejaculador para la colecta de semen en el cuarto macho.



Figura 18A. Evaluación de la motilidad masal e individual en la tercera muestra



Figura 19A. Dilución, dejándose reposar 45 minutos.



Figura 20A. Se realizó el llenado y sellado con el alcohol povilínico.



Figura 21A. Congelación de las pajillas con vapor de Nitrógeno líquido.



Figura 22A. Congelación de pajillas con vapor de Nitrógeno líquido.



Figura 23A. Las pajillas de cada muestra se las lleva al tanque de Nitrógeno.



Figura 24A. Descongelamiento de las pajillas a 37°



Figura 25A. Se realizó la evaluación microscópica y macroscópica en semen

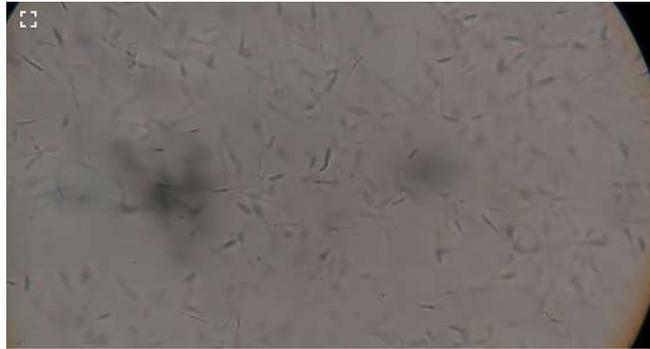


Figura 26A. Semen postdescongelado del primer macho.

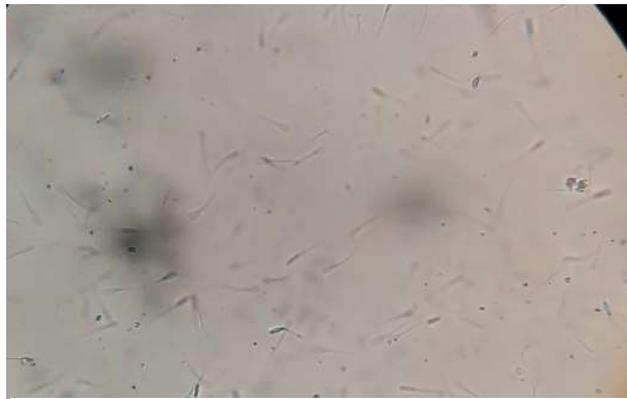


Figura 27A. Semen postdescongelado del segundo macho.



Figura 28A. Semen postdescongelado del tercer macho.

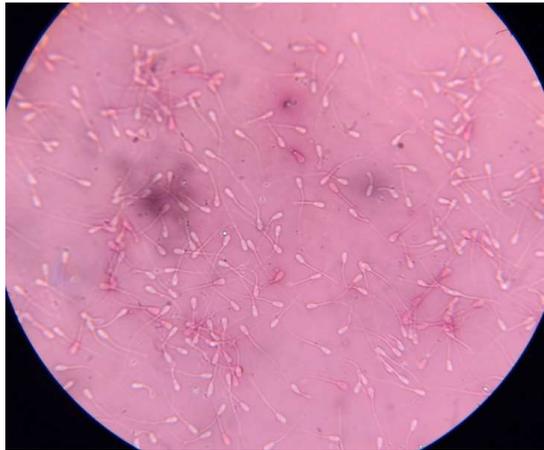


Figura 29A.Evaluación morfológica y vitabilidad espermática en el primer macho.

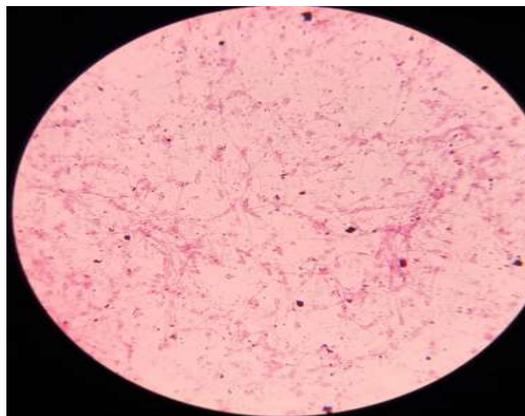


Figura 30A.Evaluación morfológica y vitabilidad espermática en el primer macho.

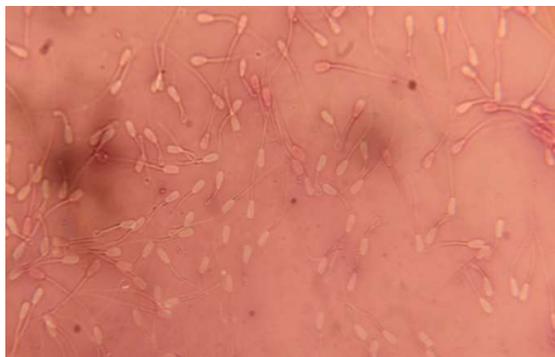


Figura 31A.Evaluación morfológica y vitabilidad espermática en el tercer macho.