



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Previo a la Obtención del Título de:  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**MODALIDAD TRABAJO COMUNITARIO**

**TEMA:**

**“ASESORAMIENTO TÉCNICO PARA LA ADQUISICIÓN DE  
REACTIVOS Y MATERIALES PARA LA CONGELACIÓN DE SEMEN  
DE DIFERENTES ESPECIES”**

**AUTORES:**

**Ávila Cevallos Ricardo André  
Macías Muñoz Angie Madelayne**

**TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN:**

**Dra. Felicia Rollers Gutiérrez**

**Santa Ana- Manabí- Ecuador  
2021**

## **TEMA**

“ASESORAMIENTO TÉCNICO PARA LA ADQUISICIÓN DE REACTIVOS Y MATERIALES PARA LA CONGELACIÓN DE SEMEN DE DIFERENTES ESPECIES”

## **DEDICATORIA 1**

Principalmente quiero dedicar este trabajo a mi madre Minis Cevallos por ser la persona que me ha apoyado en todo momento. A mis hermanos y a mis amigas Andrea, Rosalía y Marjorie quienes han sido un apoyo incondicional en mi vida y han estado siempre conmigo.

También quiero dedicarle este trabajo a aquellas personas que nunca dejaron de creer en mí como Nancy López que ha sido como una segunda madre para mí. A los Doctores de la facultad por ayudarme en todas mis dudas y hacer esto posible. A Isabelita por siempre darme consejos que me sirvieron para no darme por vencido. A mi grupo de amigos de toda la vida quienes me han acompañado en toda mi etapa estudiantil.

Y finalmente dedico esta tesis a la Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias Veterinarias, esperando que esta tesis sirva de apoyo a otros estudiantes en su preparación para ser médicos veterinarios.

**RICARDO ANDREÉ ÁVILA CEVALLOS**

## **DEDICATORIA 2**

El trayecto recorrido para prepararme como futuro profesional, ha requerido de mucho esfuerzo y dedicación de mi parte para alcanzar objetivos y metas propuestas por sí misma, sin embargo, es necesario destacar el aporte y colaboración de ciertas personas que intervinieron de la mejor manera posible en mi crecimiento educativo ya sea de forma directa o indirecta.

Una de las principales personas a quien dedico mi trabajo de titulación, es a mis padres, Elvis José Macías Palacios y Margarita Araceli Muñoz Cedeño, quienes han sido el pilar fundamental para que yo pueda realizar mis estudios, brindándome apoyo desde el punto de vista económico y emocional.

A todos aquellos docentes que formaron parte de mi aprendizaje, ya que, a través de cada una de las cátedras impartidas en el aula de clase, compartían sus conocimientos y experiencias que fueron necesarios para mi crecimiento profesional.

Por último, a mis compañeros de la universidad que siempre estuvieron presente en aquellos momentos donde necesitaba ayuda, brindándome motivación para seguir adelante con mis estudios.

**ANGIE MADELAYNE MACÍAS MUÑOZ.**

## **AGRADECIMIENTO 1**

Le agradezco a nuestra tutora de tesis la Dra. Felicia Rollers por todo el apoyo e invaluable ayuda. A mis amigos y compañeros con los que compartí mis años en la Universidad, especialmente para Marjorie, Jennifer, Johan y Joseline, con quienes he estudiado y he compartido grandes momentos, gracias por hacer de mi etapa universitaria un recuerdo agradable.

De igual doy un especial agradecimiento a los docentes de la Facultad de Ciencias Veterinarias ya que con su experiencia y conocimientos hicieron esto posible.

A mi familia por todo el apoyo que me brindó y un agradecimiento especial a mi compañera de tesis Angie Macías por su paciencia y dedicación.

**RICARDO**

## **AGRADECIMIENTO 2**

Principalmente quiero brindar un profundo agradecimiento a la carrera de Medicina Veterinaria por abrirme sus puertas y poder realizar mis estudios académicos, adquiriendo un sinnúmero de conocimientos.

A mis padres por haberme brindado ese apoyo incondicional, y estar siempre presente en esta etapa educativa hacia mi vida profesional.

A los docentes por ser una gran guía de apoyo, para que el sueño de ser profesional se hiciera realidad. Por otro lado, agradezco a mis compañeros con los cuales compartí muchas experiencias en la universidad que resultaron ser positivas para mí.

Y sin duda alguna un agradecimiento especial para la tutora de tesis, la Dra. Felicia Rollers, y a mi compañero Ricardo Ávila, que trabajando en conjunto se pudo lograr con el objetivo de culminar el trabajo de titulación.

**ANGIE**

## **CERTIFICACIÓN DEL TUTOR.**

### **CERTIFICACIÓN.**

Yo, Dra. Felicia Rollers Gutiérrez, tutora del presente trabajo de tesis certifico:

Que el proyecto de tesis titulada **“ASESORAMIENTO TÉCNICO PARA LA ADQUISICIÓN DE REACTIVOS Y MATERIALES PARA LA CONGELACIÓN DE SEMEN DE DIFERENTES ESPECIES”**

Realizado por los jóvenes egresados:

- Egdo. Ávila Cedeño Ricardo Andreé
- Egdo. Macías Muñoz Angie Madelayne

Culmino bajo mi tutoría, revisando que se haya cumplido con todas las sugerencias y correcciones enunciadas y escritas mediante informe emitido por el revisor es así que considero que el trabajo de tesis se encuentra listo para ser presentado al H. Consejo Directivo.

Cumpliendo a cabalidad con los requisitos que para este efecto se requiere.

**Dra. Felicia Rollers Gutiérrez**

**TUTOR.**

# **UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ**

**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

## **TEMA**

**“Asesoramiento técnico para la adquisición de reactivos y materiales para la congelación de semen de diferentes especies”**

## **TRABAJO DE TITULACION**

Sometida a consideración del Tribunal de defensa y legalizada por el Honorable Consejo Directivo como requisito previo a la obtención del Título de:

## **MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**APROBADA POR EL TRIBUNAL**

.....  
Dr. Edis Macías Rodríguez, PhD.  
**DECANO DE LA FACULTAD**

.....  
Dra. Felicia Rollers Gutiérrez.  
**TUTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

.....  
Dr. Rodolfo Pedroso  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

.....  
Dra. Laura de la Cruz  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

.....  
Dr. Juan José Zambrano  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

## AUTORIZACIÓN DE LOS AUTORES

Ricardo Andreé Ávila Cevallos y Angie Madelayne Macías Muñoz, somos responsables de los resultados obtenidos en el presente trabajo de titulación, denominado "Asesoramiento técnico para la adquisición de reactivos y materiales para la congelación de semen de diferentes especies" así como las ideas y conclusiones de la misma, son únicas y total de los autores.

Autores:

.....

Egdo. Ricardo Andreé Ávila Cevallos

.....

Egdo. Angie Madelayne Macías Muñoz

# ÍNDICE DE CONTENIDO

## INDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	LOCALIZACIÓN .....	3
III.	FUNDAMENTACIÓN .....	4
3.1.	Diagnóstico de la comunidad.....	4
3.2.	Identificación de problema.....	4
3.3.	Priorización del Problema.....	5
IV.	JUSTIFICACIÓN .....	6
V.	OBJETIVOS .....	7
5.1.	Objetivo General.....	7
5.2.	Objetivos Específicos .....	7
VI.	MARCO DE REFERENCIA.....	8
6.1.	Inseminación artificial .....	8
6.2.	Historia de la Inseminación Artificial .....	8
6.3.	Recolección y conservación del semen .....	9
6.4.	Métodos de recolección de semen .....	11
6.4.1.	Vagina artificial .....	11
6.4.2.	Masaje transrectal .....	12
6.4.3.	Estimulación eléctrica por vía rectal.....	12
6.5.	Congelación del semen .....	13
6.6.	Criopreservación del semen .....	16
6.7.	Protocolos de criopreservación.....	16
6.8.	Reactivos y materiales para la congelación de semen.....	17
6.8.1.	Pajuelas vacías .....	17
6.8.2.	Micropipeta.....	18
6.8.3.	Destilador de agua .....	18
6.8.4.	Diluyente para conservación del semen .....	19
VII.	BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	26
VIII.	METODOLOGÍA .....	27
8.1.	MATRIZ DE INVOLUCRADOS.....	28
8.2.	ARBOL DEL PROBLEMA.....	29

8.3.	ÁRBOL DE OBJETIVOS.....	30
8.4.	MATRIZ DEL MARCO LÓGICO .....	31
IX.	RECURSOS A UTILIZAR.....	33
9.1.	RECURSOS HUMANOS .....	33
9.2.	RECURSOS MATERIALES.....	33
9.3.	RECURSOS FINANCIEROS .....	33
X.	PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS OBTENIDOS EN LA SOLUCIÓN DEL PROBLEMA.....	34
10.1.	Compra de diluyente de semen bovino .....	34
10.2.	Compra de Pajuelas vacías.....	35
10.3.	Compra de canuto para globet de inseminación.....	35
10.4.	Compra de destilador de agua y accesorios.....	36
10.5.	Compra de micropipeta y soporte universal micropipetas 8pts.....	36
XI.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	38
11.1.	CONCLUSIONES .....	38
11.2.	RECOMENDACIONES .....	39
XII.	SUSTENTABILIDAD Y SOSTENIBILIDAD.....	40
12.1.	SUSTENTABILIDAD .....	40
12.2.	SOSTENIBILIDAD .....	40
XIII.	PRESUPUESTO .....	41
XIV.	CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES .....	42
XV.	BIBLIOGRAFIA .....	43
XVI.	ANEXOS.....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.-</b> Localización del área de trabajo.....	3
<b>Figura 2.-</b> Diluyente de semen bovino OPTIXCELL IMV .....	34
<b>Figura 3.-</b> Pajuelas vacías IMV 0.50 CC x unidad.....	35
<b>Figura 4.-</b> Canuto para globet de inseminación 9.2/10 MM .....	35
<b>Figura 5.-</b> Destilador de agua 4 litros 220v y accesorios.....	36
<b>Figura 6.-</b> Micropipeta y soporte universal micropipetas 8pts.....	36

## RESUMEN

El siguiente trabajo de titulación con la modalidad de desarrollo comunitario tiene como objetivo principal el asesoramiento técnico para la adquisición de reactivos y materiales para la congelación de semen en diferentes especies en el laboratorio de reproducción de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Para que esta tesis se pudiera realizar se obtuvo 1 diluyente de semen bovino OPTIXCELL IMV, pajuelas vacías IMV 0.50 CC x unidad, canuto para globet de inseminación 9.2/10 MM, destilador de agua 4 litros 220v y accesorios, micropipeta vv 20-200 UL GP y soporte universal de micropipetas 8pts. La aportación de estos materiales/equipos cumplirán un rol importante en la congelación del semen utilizados para la inseminación artificial que se llevará a cabo en el laboratorio de biotecnologías reproductivas de la FCV cuyo objetivo principal es proporcionar el conocimiento necesario a los futuros estudiantes para que desempeñen funciones de manera satisfactoria.

**Palabras clave:** Semen, Congelado, Reactivos

## **SUMMARY**

The following degree work with the modality of community development has as its main objective the technical advice for the acquisition of reagents and materials for the freezing of semen in different species in the reproduction laboratory of the Faculty of Veterinary Sciences. In order for this thesis to be carried out, 1 OPTIXCELL IMV bovine semen extender, IMV empty straws 0.50 CC x unit, canute for insemination globet 9.2/10 MM, water distiller 4 liters 220v and accessories, micropipette vv 20-200 UL GP and universal micropipette holder 8pts were obtained. The contribution of these materials/equipment will play an important role in the freezing of semen used for artificial insemination to be carried out in the laboratory of reproductive biotechnologies of the FCV whose main objective is to provide the necessary knowledge to future students to perform functions in a satisfactory manner.

## I. INTRODUCCIÓN

Se tiene como registro que la primera reproducción asistida y realizada con éxito fue realizada en un canino en el año de 1785 por el biólogo Spallanzani, aunque se le reconoce a Seager como la primera persona en usar con éxito el semen congelado. En la actualidad la inseminación artificial (IA) se ha ido transformando en una técnica de reproducción bastante extendida y muy aceptada. Se la puede llevar a cabo por varias razones, para prevenir infecciones, para lograr la mejora genética de diferentes especies, entre otras más (Hoffmann & Schuler, 2014).

En el año de 1899 Rusia se convierte en el primer país en utilizar de manera intensiva la IA debido a que sus ganados presentaban baja tasa de fertilidad y calidad, gracias a ello pudieron desarrollar nuevas técnicas para recolección y dilución del semen en bovinos (Giraldo, 2007). Por otra parte, a mediados de la década del 40 en América Latina se introduce la práctica de IA y hoy por hoy en Ecuador es un método muy garantizado en ganaderías especializadas y en ganaderías de doble propósito (Martínez & Peña, 2016).

Los mismos autores manifiestan que al igual que otras técnicas de reproducción asistida, la IA necesita una selección de los espermatozoides eyaculados antes de la realización del tratamiento. De hecho, algunos componentes del líquido seminal pueden convertirse en un obstáculo para la fecundación cuando se realiza la fecundación in vitro o la inseminación intrauterina.

Se utilizan diferentes técnicas para preparar los espermatozoides para la IA, pero la elección depende en gran medida de la calidad del semen, es decir, de la concentración, la motilidad y la morfología, con el fin de obtener el mayor número de espermatozoides buenos, incluso de los sémenes más pobres (Philip, 2013). Las principales técnicas de preparación de los espermatozoides consisten en la migración, la centrifugación en gradiente de densidad y las técnicas de filtración (Ahmed, 2018).

Aunque la IA es la herramienta poderosa para la detección y el manejo de los méritos genéticos, tiene desventajas y limitaciones si no seguimos el procedimiento correcto. Entonces tenemos que detectar el estro correctamente, inseminar oportunamente y tenemos que seguir los procedimientos correctos de preparación del semen para obtener resultados satisfactorios (Ahmed, 2018). Es por eso que en este trabajo daremos intervención a los materiales y reactivos que se utilizan para conservar el semen en diferentes especies y de esta manera poder ser usado en la reproducción asistida. Esperando que la información sirva de mucha ayuda para tener más conocimiento sobre los equipos del laboratorio de biotecnologías reproductivas de la FCV de la Universidad Técnica de Manabí.

## I. LOCALIZACIÓN

El presente trabajo se lo realizará en las instalaciones del laboratorio de biotecnología reproductiva de la Facultad de Ciencias Veterinaria de la Universidad Técnica de Manabí, ubicada en la Parroquia Lodana, cantón Santa Ana, Provincia de Manabí, Ecuador.

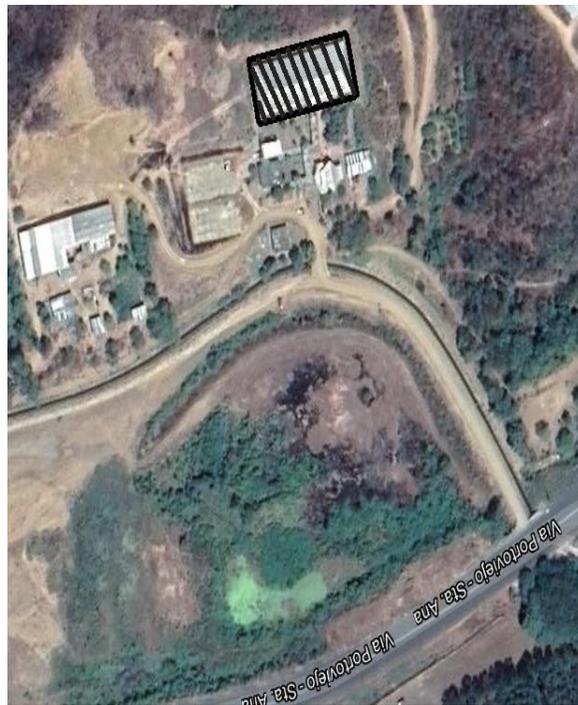
### CARACTERÍSTICAS CLIMATOLÓGICAS.

Pluviosidad media anual: 682,50 mm.

Heliofanía media anual: 1.354 horas luz.

Temperatura promedio anual: 25.39°C.

Evaporación media anual: 1.625,40 mm (Cedeño, 2019).



**Figura 1.-** Localización del área de trabajo.

## **II. FUNDAMENTACIÓN**

El asesoramiento técnico para la adquisición de reactivos y materiales para la congelación de semen de diferentes especies en el Área de producción de la Facultad de Ciencias Veterinarias, manifestará una gran aportación para los estudiantes de la Carrera de Medicina Veterinaria. La obtención tanto de reactivos como de materiales que se utilizarán en la congelación del semen es el motor principal para que el programa pueda dar inicio, ya que la falta de estos productos impedirá el objetivo principal del mismo que es la congelación del semen.

### **2.1. Diagnóstico de la comunidad**

La Escuela de Medicina Veterinaria, es una institución académica de ascendencia sobre todo en el campo investigativo, con muchos campos por explorar. El Área de reproducción cuenta con una amplia extensión de terreno, suficiente para implementar un área destinada a la construcción de un laboratorio de reproducción. Es por esto que se propone ejecutar el asesoramiento técnico para la adquisición de reactivos, ya que una vez efectuada la obra de construcción del laboratorio es importante contar con estos implementos que son necesarios para realizar las respectivas prácticas en el laboratorio que permitirán la congelación del semen.

### **2.2. Identificación de problema**

Una de las áreas que tiene gran desarrollo en la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia es en la reproducción. Sin embargo, la Facultad de Ciencias Veterinaria no cuenta con una infraestructura de laboratorio destinado exclusivamente a las biotecnologías reproductivas. Es por ello que surge la necesidad de implementar un laboratorio con todos los equipos y materiales necesarios, lo cual permitirá que las nuevas generaciones de profesionales puedan adquirir el conocimiento adecuado basado en la conservación de semen en diferentes especies, ya que la ciencia acompañada de la práctica es lo que forma a los verdaderos profesionales capaces de desenvolverse en las diferentes áreas de trabajo.

La necesidad de este asesoramiento basado en la adquisición de reactivos y materiales para la congelación de semen en diferentes especies, aumentará el desarrollo y capacidad de los estudiantes en la realización de prácticas. Además, podrán realizar pasantías aquellos estudiantes de la Facultad que estén interesados en esta área.

### **2.3. Priorización del Problema**

La principal prioridad de las instalaciones en el Área de producción de la Facultad de Ciencias Veterinarias es contar con la infraestructura óptima del laboratorio y a partir de esto proceder con el asesoramiento técnico para la adquisición de los reactivos y materiales, que faciliten el desempeño para la congelación de semen en las diferentes especies.

El laboratorio de reproducción también se aprovecharía para realizar prácticas estudiantiles y pasantías pre-profesionales donde los estudiantes podrán ejecutar lo aprendido en el aula de clases, buscando elevar el nivel académico de los futuros profesionales de nuestra alma mater.

### **III. JUSTIFICACIÓN**

La importancia de contar con un laboratorio que se dedique al estudio de la reproducción asistida ofrecerá varias ventajas, sobre todo para que los futuros estudiantes puedan aprender de manera eficaz los procedimientos que se llevan a cabo en la Inseminación Artificial. Es de mucha importancia no solo para los estudiantes sino también para la institución ya que con la implementación de este laboratorio se pretende que la Universidad obtenga mayor reconocimiento en las prácticas de campo.

Al contar con un laboratorio de biotecnologías reproductivas es necesario contar con materiales para la conservación del semen, estos incluyen; micropipeta, destilador de agua, diluyente de semen, pajuelas y canuto para globet de inseminación. Estos materiales son muy importantes ya que con ellos se va a lograr la congelación del semen que será utilizado en la Inseminación Artificial. Con la implementación de este laboratorio se justifica nuestro tema de tesis comunitaria.

## **IV. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo General**

- Asesorar de manera técnica la adquisición de reactivos y materiales para la congelación de semen en diferentes especies.

### **4.2. Objetivos Específicos**

- Adquirir los reactivos y materiales que se utilizaran en la congelación del semen.
- Demostrar el funcionamiento de los materiales que se implementaran en el laboratorio.
- Resaltar la importancia del diluyente en el proceso de congelación del semen.

## **V. MARCO DE REFERENCIA**

### **5.1. Inseminación artificial**

La IA se utiliza en diferentes especies animales para la reproducción selectiva, la mejora genética, la superación de la infertilidad y la conservación (Álvarez & Restrepo, 2006). Se ha utilizado ampliamente para la cría de ganado lechero como la práctica de gestión más valiosa disponible para el productor de ganado y ha puesto toros de alto mérito genético para características importantes, especialmente la producción de leche, en donde el semen se recolecta, se criopreserva, se almacena indefinidamente, y se utiliza para criar miles de animales con las mismas características. Hoy en día, muchos toros producen suficiente semen para 40.000 unidades de cría en un año (Mendoza & Zambrano, 2017).

Foote, *et al*, (2020) aluden que más allá del progreso genético, la IA ayuda a prevenir las enfermedades de transmisión sexual y, al clasificar los espermatozoides que contienen cromosomas X e Y, ha hecho de la preselección del sexo de los terneros una realidad práctica.

### **5.2. Historia de la Inseminación Artificial**

Según Álvarez & Restrepo, (2006), la historia de la IA es interesante porque los antiguos documentos árabes, fechados en torno al año 1322, indican que un jefe árabe quería aparear su yegua más preciada con un semental destacado que era propiedad de un enemigo. Introdujo una varita de algodón en el tracto reproductivo de la yegua, y luego la utilizó para excitar sexualmente al semental haciéndole eyacular. El semen se introdujo en la yegua dando lugar a la concepción.

Por otra parte, Giraldo (2007), da a conocer que la primera inseminación exitosa fue realizada por el fisiólogo y sacerdote italiano Abbe Lazzaro Spallanzani (1780) en una perra que parió tres cachorros 62 días después. El mismo autor menciona en su investigación que en el año de 1899, Ivanoff, de Rusia, fue pionero en la investigación de la IA en aves, caballos, ganado vacuno y ovejas, y al parecer fue el primero en inseminar artificialmente al ganado vacuno con éxito.

Ivanoff es la persona que tiene mayor influencia en el avance de esta tecnología y su difusión a otras partes del mundo. Consecutivamente, hubo grandes aportes para mejorar el campo de la inseminación; entre los cuales está la invención de la vagina artificial en Italia por Amantea en 1914, el uso de diluyentes para el semen desde 1930, lo cual permitió prolongar el tiempo de uso del semen. Finalmente, en 1952, se logró congelar el semen de toro, extendiendo así la vida útil de los espermatozoides de forma indefinida (Sánchez, *et al*, 2019).

Martínez & Peña, (2016) mencionan que en la década de los 40 se introduce por vez primera la práctica de reproducción asistida en América Latina, no existe información de cuando Ecuador comienza a utilizar este método de reproducción, sin embargo, se cree que fue a mediados o inicios del año 1944 donde Colombia iniciaba la IA en vacas con semen fresco.

### **5.3. Recolección y conservación del semen**

Rueda, (2011) menciona que la recolección y evaluación de semen nos permite verificar la muestra para lo siguiente:

Volumen: el volumen recolectado afecta la fertilidad ya que un volumen menor puede contener menos espermatozoides.

Claridad: los espermatozoides hacen que el semen parezca lechoso. Si el semen recolectado es completamente transparente, hay muy pocos espermatozoides presentes.

pH: es la acidez / alcalinidad relativa del semen. Un valor que esté significativamente fuera del rango normal puede ayudar al médico a identificar las causas subyacentes de la infertilidad.

Motilidad progresiva hacia adelante (PFM): se expresa como un porcentaje. Se coloca una gota del semen en un portaobjetos calentado y se examina bajo el microscopio. PFM es un porcentaje estimado de los espermatozoides visibles que avanzan de manera coordinada. Esto es a diferencia de los que no se mueven o

simplemente se mueven en su lugar. Solo los espermatozoides con buena movilidad progresiva hacia adelante podrán fertilizar un óvulo.

Velocidad: los espermatozoides con PFM se puntúan en una escala de 1 a 5 en cuanto a velocidad. Es posible que los espermatozoides de movimiento lento no puedan fertilizar un óvulo.

Recuento: el recuento de espermatozoides se mide como una concentración de espermatozoides por mililitro de semen y como un recuento total del volumen total de semen recolectado. Los perros con recuentos de espermatozoides bajos tienen una fertilidad reducida.

Morfología: la morfología se refiere a la apariencia física de cada espermatozoide. Las células se tiñen y se examinan al microscopio. Los espermatozoides se cuentan hasta 100, manteniendo el recuento del número de formas normales frente a anormales. Las células de forma anormal se clasifican por tipo y esto puede ser muy útil para determinar la causa de la infertilidad. Además, se anotan las células que no son espermatozoides, como los glóbulos blancos o los glóbulos rojos.

Se recomienda la evaluación del semen antes de cada reproducción importante, especialmente si nunca se ha realizado antes, el macho nunca ha engendrado una camada, el macho no ha sido criado recientemente o si está planeando congelar el semen. Si no se ha recolectado o reproducido un macho en muchos meses, la calidad del semen se puede mejorar recolectando algunas veces durante un par de semanas (Gomez, 2015).

Se sabe que el semen consiste en una suspensión de espermatozoides almacenados en los epidídimos que, en el momento de la eyaculación, se mezcla con las secreciones de las glándulas accesorias. Estas glándulas son principalmente la próstata y las vesículas seminales, mientras que las glándulas bulbouretrales y los epidídimos representan solo la contribución menor del eyaculado. Dos fracciones principales están presentes en el líquido seminal; el

primero es prostático, rico en espermatozoides. La última fracción del semen consiste en la fracción vesicular, menos rica en espermatozoides (Philip, 2013).

El mismo autor manifiesta que el aparato de recolección de semen y la muestra recolectada deben mantenerse a 37 ° C hasta que se complete el procesamiento. Debe evitarse la presencia de agentes espermicidas potenciales como detergentes, algunos geles, lubricantes, látex, suciedad y bacterias. Los métodos más utilizados son; colección con la vagina artificial, masaje transrectal y el uso de la estimulación eléctrica por vía rectal.

#### **5.4. Métodos de recolección de semen**

##### **5.4.1. Vagina artificial**

Las vaginas artificiales (AV) son utilizadas para la recolección de semen en muchas especies, principalmente bovinos y equinos, pero también ovejas, cabras, conejos e incluso gatos. Un AV utiliza estimulación térmica y mecánica para estimular la eyaculación; está compuesto por un tubo con un revestimiento exterior de goma que retiene el agua, dentro del cual se coloca un revestimiento interior que se lubrica justo antes de su uso. El revestimiento exterior se llena y se presuriza un poco con agua a 42-48 grados Celsius (Díaz & López, 2018).

Para recolectar el semen, se permite que el macho se monte y el pene se desvíe hacia la AV donde eyacula. Es mejor permitir que el macho introduzca el pene en la AV en lugar de intentar deslizar el AV sobre el pene. Lo que monte el macho depende de su especie y temperamento. Aunque una vagina artificial puede proporcionar una condición que imita el tracto reproductivo femenino y se sabe que proporciona mejores resultados en algunas especies, la aplicación puede enfrentar obstáculos en el campo. Mediante esta técnica el macho que eyacula desarrolla totalmente la cadena de reflejos y la mecánica del coito fisiológico, aunque no exista penetración ni eyaculación en la vagina de una hembra (Gomez, 2015).

#### **5.4.2. Masaje transrectal**

Este método consiste, en esencia, aplicar un masaje longitudinal repetitivo hacia delante y atrás, principalmente sobre la terminación de los canales deferentes, de las vesículas seminales y de la región de la próstata, introduciendo la mano y el antebrazo en el recto del animal. Ocasionalmente que el semen fluya hacia la uretra pélvica. Al iniciarse la pulsación del musculo uretral, el masaje deberá continuar en sincronía con las pulsaciones que otra persona recoge con una probeta de vidrio (Ahmed, 2018).

Aquellos reproductores que han tenido un adecuado descanso sexual, son dóciles y se manejan con calma, son buenos candidatos para esta técnica. También se recomienda en animales que posean lesiones dolorosas en cuartos posteriores. Esta técnica requiere dos personas, una para efectuar el masaje rectal y otra para coleccionar el semen. El toro se ubica y mantiene en una manga o prensa. Después de remover completamente las heces del recto (Anchatuña, 2017).

El mismo autor argumenta que, esta técnica posee algunas desventajas que incluyen; irritación de la mucosa rectal, falta de protrusión del pene que resulta en muestras contaminadas desde el prepucio, la necesidad de una segunda persona para la colección de la muestra y la dificultad de estimular machos excitados o de mal carácter.

Tiene además el inconveniente, de requerir de un operador con gran destreza en palpación por vía rectal del tracto reproductivo de los toros. La libido y la capacidad de apareamiento no son evaluadas con esta técnica, las muestras pueden contaminarse y el volumen y la concentración de semen obtenido son muy variables (Anchatuña, 2017).

#### **5.4.3. Estimulación eléctrica por vía rectal**

Para la extracción de semen por electroeyaculador se recomienda tener una manga de 76 cm de ancho que puede albergar a la mayoría de los animales grandes. Se debe colocar detrás del individuo un poste fuerte a una altura ideal entre 71 y 76 cm

y otro a 30 cm del suelo como corrector durante el procedimiento, dado que es posible que los animales pierdan el equilibrio. Si es posible los animales deben estar parados libremente y la manga debe tener un buen piso (Cabodevil, 2015).

Los animales que son agarrados de la cabeza, comúnmente se arrodillan y luego durante la electroeyaculación se echan, y en estos casos un cinturón por debajo del tórax puede ser de utilidad. Es muy importante destacar que la cantidad de estimulación debe ser estimada a través de las respuestas del animal y no prestando atención al voltaje del equipo. La primera estimulación debe ser pequeña hasta que el macho demuestre una mínima respuesta (Giraldo, 2007).

Las estimulaciones sucesivas deben ir siendo incrementadas, con una duración de uno o dos segundos y luego discontinuarse por medio segundo antes de comenzar con la siguiente estimulación. El fluido preseminal no debe recolectarse porque diluye el eyaculado y puede originar falsos resultados. Cuando éste comienza a tornarse más opaco y espeso comienza la colección en el cono o tubo de examinación colocado directamente en el pene (Cabodevil, 2015)

### **5.5. Congelación del semen**

La congelación del semen es una técnica muy antigua y que tiene mucha influencia en el proceso de la inseminación artificial. Es importante mencionar que el enfriamiento del espermatozoide es un procedimiento sencillo que ha logrado extender el tiempo de viabilidad del espermatozoide, al disminuir su tasa metabólica y de esta manera alargar la conservación del semen mediante la disminución del porcentaje de sustratos empleados y la producción de toxinas (Rivera, 2021).

En 1776 Lazzaro Spallanzani, observó que al enfriar el semen en la nieve durante 30 minutos se volvían inactivos, pero se podían reactivar nuevamente. La reducción de la temperatura se utilizó para deprimir la actividad metabólica y así prolongar la vida del espermatozoide. En los comienzos del siglo XX, el investigador ruso Ivanov logro inseminar alrededor de 500 yeguas (Giraldo, 2007).

Existen algunos factores que provocan ciertos cambios morfológicos y funcionales en la célula espermática durante este proceso tecnológico tales como:

**A). Shock Térmico:** El shock térmico en bovinos es el conjunto de alteraciones que los espermatozoides sufren cuando son sometidos a un enfriamiento rápido pasando de 20°C a 5°C. Estas alteraciones están representadas por la disminución de la actividad metabólica de los espermatozoides y la pérdida rápida de motilidad; la alteración del tipo de motilidad con un movimiento retrogrado y circular, reducción del metabolismo, lesión del acrosoma y de la membrana plasmática acompañada de pérdida de los componentes intracelulares (Anchatuña, 2017).

De acuerdo diversos estudios, se comprobó, que cuando los espermatozoides están alterados los iones Na<sup>+</sup> y Ca<sup>++</sup> entran en las células espermáticas y son retirados por medio de transporte activo. A 5°C la permeabilidad del Ca<sup>++</sup> crece significativamente superando la capacidad de eliminación de los iones por medio de las bombas de Ca<sup>++</sup> de esta forma, el Ca<sup>++</sup> se acumula en el espermatozoide alcanzando niveles tóxicos (Carpio, 2015)

**B). Estrés Osmótico y Formación de Cristales de Hielo:** Otras alteraciones o fenómenos que ocurren en el proceso son el choque térmico y la formación de grandes cristales de hielo intracelular. Estos procesos ocurren si la curva de congelación es muy rápida, lo que genera la deshidratación progresiva de la célula.

**C). El estrés oxidativo:** Este fenómeno es inducido por la formación de cristales de hielo está asociado a los cambios en la presión osmótica de la fracción no congelada. Cuando una solución es enfriada por debajo del punto de congelación los cristales de hielo se enuclean y el agua pura se cristaliza formando hielo, los solutos permanecen disueltos en la fracción de agua líquida y por lo tanto la presión osmótica de la solución aumenta. La proporción de agua cristalizada como hielo y la presión osmótica de la solución restante depende de: la temperatura, la velocidad de descenso de la misma y el volumen de la fracción no congelada (Ribeiro, 2014).

El estrés oxidativo en los espermatozoides consiste en el daño de los componentes estructurales y fisiológicos que surgen en ellos cuyo efecto está directamente relacionado con la disminución de la sobrevivencia y capacidad fecundante (Velasco, 2008). El estrés oxidativo es provocado por la formación de gran cantidad de especies reactivas al oxígeno (ROS) o moléculas que contienen radicales libres, las cuales se hacen presentes durante el manejo y manipulación del eyaculado, comprometiendo la viabilidad de los espermatozoides (Cedeño, 2019).

Las membranas de los espermatozoides contienen alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados y baja concentración de enzimas protectoras de las formas tóxicas del O<sub>2</sub> (catalasas, dismutasas, peroxidasas y glutatión reductasas) y glutatión reductasas) esta relación entre ácidos grasos insaturados y enzimas protectoras convierte a los espermatozoides en células muy sensibles a las peroxidaciones por ROS (Gomez, 2015).

Los principales ROS que se conocen y que tienen relación con la funcionalidad espermática son: anión superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, precursor de radical) y la mayoría de radicales hidroxilos (-OH); cuya presencia en el ambiente espermático se relaciona con el aumento de espermatozoides muertos (Valverde, 2018).

Ribeiro (2014), menciona que la susceptibilidad al estrés oxidativo varía entre las especies, los individuos y eyaculados por lo tanto la incidencia y severidad del daño oxidativo también varían. Cuando el semen se manipula para su uso en inseminación artificial se expone al oxígeno y varios pasos de su procesamiento pueden conducir a la producción de ROS y la reducción de las defensas antioxidantes. El lavado y dilución por ejemplo puede retirar o reducir la protección antioxidante proporcionada por el plasma seminal. Todos estos factores pueden contribuir a aumentar el daño oxidativo de los espermatozoides en el semen manipulado.

## **5.6. Criopreservación del semen**

La criopreservación consiste en utilizar el frío extremo para disminuir las funciones vitales de una célula o un organismo y poderla mantener en condiciones de "vida suspendida" durante mucho tiempo, además garantiza que los espermatozoides puedan ser conservados (Rivera, 2021).

La criopreservación de semen es actualmente la única alternativa para preservar el potencial reproductivo. El semen después de refrigerado a 5-8°C sobrevive por entre 24 y 48 horas e incluso más horas sin que haya disminución del porcentaje de fertilidad (Díaz & López, 2018).

Además, mencionan que proceso de congelación y descongelación afecta la integridad de la membrana plasmática y acrosomal por lo tanto la funcionalidad de los espermatozoides. También suele ocasionar daños irreversibles y causar muerte celular e infertilidad. El éxito de la criopreservación está supeditado a factores tales como tipo de diluyente, tasa de descongelación y empaque, variación individual del reproductor, crioprotector y tasa de enfriamiento.

## **5.7. Protocolos de criopreservación**

Existe mucha información sobre los protocolos de criopreservación de semen en bases de datos, pero esta se encuentra muy dispersa ya que existen protocolos para diferentes especies y para cada especie también muchas variaciones tanto en materiales como en metodología (Machado, *et al*, 2020).

Los mismos autores argumentan que al referirse a la velocidad de enfriamiento y descongelación los métodos de congelación pueden clasificarse en protocolos de congelación lenta con descongelación rápida, congelación rápida con descongelación lenta, congelación ultrarápida y vitrificación

## **5.8. Reactivos y materiales para la congelación de semen**

### **5.8.1. Pajuelas vacías**

Las pajuelas de inseminación artificial son pajillas de plástico cuya función principal es la de almacenar el semen recolectado. Este semen puede ser fresco o congelado en nitrógeno líquido (almacenamiento criogénico).

Se introdujeron por primera vez en Dinamarca en 1940. Durante la década de 1960, Robert Cassou de Francia introdujo una pajita de cloruro de polivinilo de tamaño mediano con un diámetro de 2,8 mm (0,11 pulgadas) y un volumen de 1/2 cc que reemplazó una pajita más grande con un diámetro de 4,2 mm (0,16 pulgadas) y un volumen de 1/2 cc. En 1968, Cassou introdujo la pajita de 1/4 cc que sigue utilizándose en la actualidad. En los Estados Unidos, las ampollas de vidrio fueron reemplazadas por la pajita francesa a principios de la década de 1970 (Stevenson, 2018).

El mismo autor señala que en la década de 1970, las organizaciones comerciales de IA en Europa y Canadá adoptaron la pajita de 1/4 cc de diámetro más pequeño, mientras que las organizaciones de IA en los EE. UU. Y la mayoría de los países de América Latina optaron por usar la pajilla de 1/2 cc. Esta divergencia tecnológica entre países se basó en gran medida en el grado de variación percibido en las habilidades, la capacitación y la competencia de los inseminadores en cada país respectivo.

### **Primacías del tamaño de la pajuela**

O'Connor, (2016) menciona que la pajita francesa de 1/4 cc se ha estudiado y comparado a fondo con la de 1/2 cc durante aproximadamente 50 años. La comparación de los méritos relativos de las pajitas de 1/4 y 1/2 cc revela al menos tres diferencias evidentes:

1. La pajita de 1/4 cc requiere menos diluyente para llenarla y menos espacio para almacenarla, reduciendo potencialmente los costes de producción, almacenamiento y envío.

2. La pajita más grande de 1/2 cc es más fácil de manejar, más fácil de leer, y puede o no sufrir menos roturas durante el almacenamiento.
3. La pajita de 1/4 cc responde a los cambios de temperatura más rápidamente que las pajitas de 1/2 cc (más sujetas al choque de frío).

La fertilidad del ganado inseminado con semen congelado-descongelado envasado en pajillas de 1/4 o 1/2 cc también ha sido objeto de investigación durante más de 40 años, a menudo con resultados, conclusiones e interpretaciones contradictorias (O'Connor, 2016).

### **5.8.2. Micropipeta**

La micropipeta es un instrumento de recolección de sustancias, un tipo de pipeta, porque está especialmente diseñado para recolectar muestras pequeñas. Suele estar fabricado en vidrio, aunque el resto de partes que lo componen son de plástico, y tiene una escala para controlar el volumen de la sustancia. Fue inventado en 1957 por Heinrich Schnitger, un médico alemán que trabajaba en la Universidad de Marburg. La micropipeta consta de una jeringa con un pistón de resorte y un pistón coaxial para garantizar la estanqueidad, y tiene una punta de plástico extraíble. Al principio, la punta se diseñó con teflón, pero luego se rediseñó con polipropileno para hacerla más económica de producir. (Sella, 2014).

### **5.8.3. Destilador de agua**

Un destilador de agua es una máquina que purifica el agua eliminando más del 99,9% de los contaminantes, incluidos productos químicos, metales pesados, microorganismos y sedimentos. Si bien el diseño puede variar, un destilador de agua típico consta de una cámara de ebullición, un sistema de enfriamiento y un tanque de almacenamiento separado (Fryer, 2015).

Campbell,( 2021) da a conocer que el funcionamiento de un destilador de agua es bastante simple.

- Se agrega agua a la cámara de ebullición y la máquina se conecta a una fuente de alimentación y se enciende. La cámara de ebullición luego se calentará hasta el punto de ebullición del agua.
- El agua se evapora en vapor y sube al sistema de enfriamiento. Aquí, pasa por un pasillo en pendiente, donde se condensa y gotea en un recipiente limpio.
- La mayoría de los contaminantes no tienen el mismo punto de ebullición que el agua. Eso significa que cuando el agua se calienta en la cámara de ebullición, los contaminantes no pueden evaporarse junto con las partículas de H<sub>2</sub>O.
- Se dejan en la cámara de ebullición y, una vez finalizado el proceso de destilación, se eliminan cuando se lava la cámara.

Tiene un recipiente de ebullición con un elemento calefactor en la parte inferior. Esto hace que el agua hierva y comience a hervir a fuego lento. Esta acción elimina cualquier bacteria o virus presente. Curiosamente, hervir es la forma más eficaz de eliminar los contaminantes biológicos. El vapor producido es agua pura. Luego pasa a los tubos de condensación en la parte superior del destilador. Los tubos de acero inoxidable a través de los cuales pasa el vapor tienen aletas metálicas que salen de ellos y un ventilador que sopla aire a través de ellos. Esto enfría el vapor de nuevo en agua. En esta etapa, ahora hemos purificado el agua con prácticamente todos los contaminantes químicos eliminados (Campbell, 2021).

#### **5.8.4. Diluyente para conservación del semen**

Torres, *et al*, (2014) mencionan que para la conservación del semen se utilizan diluyentes, que son soluciones acuosas que permiten aumentar el volumen del eyaculado hasta alcanzar las dosis necesarias, preservando las características funcionales de los espermatozoides y manteniendo el nivel de fertilidad adecuado.

Para que el diluyente cumpla con su función debe aportar los nutrientes necesarios para el mantenimiento metabólico de la célula espermática (azúcares), la protección frente al shock térmico por frío (BSA (albúmina sérica bovina) controlar el pH del

medio (Bicarbonatos, TRIS-hidroximetilmetil amina, HEPES-ácido 4-2-hidroxietil-1 piperazina etanosulfónico, la presión osmótica (sales de NaCl, KCl) y la inhibición del desarrollo microbiano (antibióticos) (Admin, 2014).

## **Componentes Básicos de un Diluyente**

### ***Nutrientes***

El espermatozoide tiene la capacidad de producir la energía necesaria para mantener su metabolismo celular y generar el movimiento del flagelo. para mantener su metabolismo celular y generar el movimiento del flagelo, principalmente a través de las vías glucolíticas. Estos procesos tienen lugar en las mitocondrias situadas en la porción media del espermatozoide (Admin, 2014).

Díaz & López, 2018 dan a conocer que la fuente de energía más frecuentemente utilizada en la composición de los espermatozoides es la glucosa, aunque se han utilizado otras como la galactosa, la fructosa, la ribosa o la trehalosa, pero los resultados no han superado a la glucosa.

### ***Azucares***

Los monosacáridos (glucosa y fructosa) son azúcares de los que el esperma puede obtener energía para sus procesos vitales. puede obtener energía para sus procesos vitales. También actuarían como sustitutos de los electrolitos, manteniendo el equilibrio osmótico del diluyente (Álvarez, *et al*, 2019).

### ***Agentes crioprotectores***

Son sustancias permeables a través de la membrana debido a su bajo peso molecular. Protegen a la célula de las lesiones producidas por las congelaciones a velocidad lenta. Si bien el espermatozoide es permeable a estos agentes, su permeabilidad no es de la misma magnitud a la del agua (Díaz & López, 2018).

El glicerol es el crioprotector más utilizado en los protocolos de congelación en todas las especies domésticas. Su descubrimiento como agente crioprotector fue

realizado por Polge y colaboradores ha supuesto un notable avance en la conservación del semen por congelación. Esta sustancia ocupa simultáneamente la membrana y los compartimentos extra e intracelulares. Sin embargo, su principal efecto crioprotector se ejerce a nivel extracelular (Ribeiro, *et al*, 2014).

### **Tipos de crioprotectores**

Según (Díaz & López, 2018) los tipos de crioprotectores pueden ser:

**Crioprotectores permeables de bajo peso molecular:** Glicerol, etilenglicol, 1.2 propaneidol~ DMSO, 2.3 butaneidol, metanol, otros alcoholes.

**Crioprotectores no permeables de bajo peso molecular:** Galactosa, Glucosa, Sacarosa, Tretalosa, Lactosa, Manosa, otros azúcares.

**Crioprotectores no permeables de alto peso molecular:** Polivinilpirrolidona, Alcohol Polivinílico, Ahnidón Hidroxietílico, Hialuronidato de Sodio, otros polímeros.

Además, los autores argumentan que los crioprotectores no permeables no penetran en la membrana plasmática y ejercen su acción en el medio externo. su acción en el medio externo. Estos azúcares tienen un efecto sobre el porcentaje de agua no congelada a bajas temperaturas, y al disminuir la concentración de sales en los canales de agua. Uno de los crioprotectores no permeables más usados es Triladyl que ha demostrado dar mejores resultados después de la descongelación de semen comparando los parámetros con otros diluyentes.

### **Funciones de un Diluyente:**

Torres, *et al*, (2014) menciona que las funciones que cumple el diluyente para semen son las siguientes:

- Proveer nutrientes a los espermatozoides, como fuente de energía.
- Proteger los espermatozoides contra los efectos dañinos de un enfriado rápido.
- Proveer un buffer para prevenir efectos nocivos de cambios de pH al formarse ácido láctico, resultante del metabolismo de la glucosa por los espermatozoides.

- Mantener una presión osmótica y un balance electrolítico adecuado.
- Inhibir el crecimiento bacteriano.
- Aumentar el volumen de semen de modo que pueda ser utilizado para múltiples inseminaciones.
- Proteger los espermatozoides del congelado.

### **Tipos de diluyente**

A nivel práctico de acuerdo a las condiciones de producción, los diluyentes se clasifican en dos grandes grupos, los que tienen como objetivo la conservación del semen a corto plazo (1-3 días) o aquellos que tienen como objetivo la conservación del semen por más de 4 días considerados como diluyentes a largo plazo (Carpio, 2015).

A nivel de mercado los diluyentes se clasifican por su composición, pudiendo ser de corto, mediano o largo plazo de conservación, (Admin, 2014); las fuentes de energía y los electrolitos que se añaden a ellos son muy generales, por ello lo que marca la diferencia al momento de obtener un diluyente, son los sistemas tampón y los compuestos que se añaden para estabilizar las membranas de células espermáticas.

### ***Diluyentes de corto plazo***

Admin, (2014) menciona que estos diluyentes se utilizan principalmente en lugares donde la distribución de las dosis seminales es a corta distancia, conservan el semen a 15-20°C (15), entre las principales ventajas que presentan estos diluyentes consta:

- ✓ La utilización de una concentración espermática baja, que permite realizar más inseminaciones con una sola recolección.
- ✓ El bajo costo en su preparación, obteniéndose resultados reproductivos similares
- ✓ Baja tasa de motilidad espermática

Entre los diluyentes utilizados a corto plazo que son más utilizados e investigados se encuentra el D16, DICIP y el BTS. Del tipo de la fórmula BTS, pero con variantes, se utilizan generalmente para conservaciones no superiores a 48-72 horas con semen refrigerado, aunque son más empleados en semen porcino.

- **EI BTS**

Es conocido también como fórmula base o diluyente de referencia, fue elaborado en Estados Unidos por el Dr Pursel, este permite mantener viable el material espermático a 17°C durante unos 5 días, con un porcentaje de preñez superior al 80%, demostrando de esta manera que la temperatura de conservación del semen influye ampliamente en cuanto al nivel de fertilidad se refiere (Rueda, 2011).

Menciona también que el BTS quizás es el diluyente más usado en la actualidad a nivel mundial. Este medio se caracteriza por añadir una pequeña cantidad de potasio, que permite mantener la actividad de la bomba sodio/potasio y evita la reducción de K intracelular que estaría asociada con la disminución de motilidad espermática

- **El citrato de sodio-yema de huevo**

El citrato de sodio es un agente quelante, que fija sólidamente el calcio y otros iones metálicos y dispersa glóbulos grasos de la yema de huevo, hasta el punto que pueden verse aisladamente los espermatozoides mediante un examen microscópico, un tampón citratado isotónico con el esperma del todo está formado por 2'9g de  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  por 100 ml de agua destilada. Son considerados como diluyentes de primera generación, diseñado inicialmente para la conservación de semen bovino, y luego se empleó para la conservación de semen logrando así mantener una tasa de motilidad espermática del 61% (Cruz, 2014).

- **Yema de huevo-glucosa**

Un importante componente de los medios de refrigeración y congelación para la criopreservación de semen de diversas especies. Las propiedades protectoras de

la yema de huevo sobre los espermatozoides durante la congelación fueron descubiertas por primera vez por Philips en 1939. Posteriormente se encontró que la yema de huevo tenía al menos dos factores activos, proteger contra el daño al enfriamiento y ayuda manteniendo la viabilidad. Este diluyente fue utilizado en Bélgica y Checoslovaquia, se determinó que causa hinchazón de acromosomas, y deterioro en la motilidad y sobrevivencia espermática (Ramonés, 2013).

- **Leche de descremada y en polvo**

Fue utilizada como conservador de semen porcino, pudiendo utilizar leche fresca entera la misma que tiene una sustancia espermicida, la lactenina, debiendo hervir la leche a 95°C por 10 minutos para poder inactivarla. Las proteínas de la leche actúan como amortiguadores contracambios de pH y como agentes quelantes contra cualquier metal pesado presente (Cruz, 2014).

### ***Diluyentes de largo plazo***

Estos diluyentes logran mantener una duración de 4 días o más, son empleados en zonas donde el lugar de producción seminal y el lugar donde va a ser utilizado el semen es distante, (Cuenca & Avellaneda, 2017); además son muy complicados, permitiendo conservaciones de 5 a 6 días requiriendo ciertas exigencias en cuanto a la fracción que se va a recoger, tipo de dilución con agua destilada, control elevado de contaminación bacteriana utilizando un antimicrobiano no espermicida, y con una refrigeración entre 15-17°C.

Rueda (2011) Da a conocer algunos de los diluyentes de largo plazo más usados:

- **El Zorlesco**

Fue uno de los primeros diluyentes considerados como de larga duración, entre su composición tiene la adición de TRIS como regulador del pH, albumina sérica bovina y cisteína, su utilización en campo no dio buenos resultados.

- **El Modena**

Creado por Moretti en 1981, incrementándole el nivel de glucosa y eliminando la BSA (Albumina Serica Bovina) del medio Zorlesco, tampoco dio buenos resultados.

- **EL MR-A**

Desarrollado en España en el año de 1984 por Santiago Rillo y Eulogio Alias, considerado como diluyente de larga duración, el mismo ha dado buenos resultados cualitativos

*Por otra parte, En los últimos años han aparecido nuevos diluyentes (A-cromax, X-Cell, Androhep Plus, Vital, SpermAid, Mulberry III, entre otros), los mismos que están considerados como diluyentes de larga duración.*

- **AndroMed®**

Es un concentrado estéril para la preparación de un diluyente libre de yema de huevo para eyaculados bovinos. Es utilizado para la congelación de semen y para la conservación de semen fresco. Cada frasco de AndroMed® contiene 200ml de concentrado para la preparación de 1.000ml de diluyente listo para su utilización. Su contenido en antibióticos corresponde al estándar de la UE: EC norma 88/407. Está compuesto por: fosfolípidos, TRIS, ácido cítrico, azúcar, antioxidantes, tampones, glicerina, antibióticos y agua de extrema pureza. Cada 100ml del diluyente preparado contienen (unidades activas): Tilosina 5.0mg, gentamicina 25,0mg, espectinomicina 30,0mg y lincomicina 15,0mg (24) (Díaz & López, 2018).

## **VI. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.**

Los principales beneficiarios en la ejecución de este proyecto es la comunidad universitaria de la facultad de ciencias veterinarias, en el área de reproducción animal, brindando un campo de trabajo práctico e investigativo

Los beneficiarios directos son:

- Estudiantes de la facultad de ciencias veterinarias, quienes podrán adquirir mayor destreza en las prácticas que se realicen.
- Docentes especializados en la reproducción animal, permitiéndoles desarrollar con amplitud sus conocimientos y expandir su campo investigativo.

Los beneficiarios indirectos son:

- Egresados de la carrera
- Docentes de la carrera
- Autoridades de la facultad de medicina veterinaria
- Comunidad.

## VII. METODOLOGÍA

El proyecto de modalidad trabajo comunitario se efectuó en el área de producción de la Facultad de Ciencias Veterinarias, en la Parroquia Lodana del cantón Santa Ana. Para el desarrollo de este proyecto se realizó una observación directa, a partir del cual se determinaron las prioridades que requiere el laboratorio de reproducción animal, siendo de gran utilidad la implementación de materiales tales como el diluyente, micropipetas, soporte universal de micropipetas, Canuto para globet de inseminación, pajuelas, logrando obtener una correcta congelación de semen.

El asesoramiento técnico para el laboratorio de reproducción animal permitirá una correcta congelación del semen. Los beneficiarios de este trabajo serán:

La Universidad Técnica de Manabí, quien es la propietaria del área física en donde se ejecutará el proyecto.

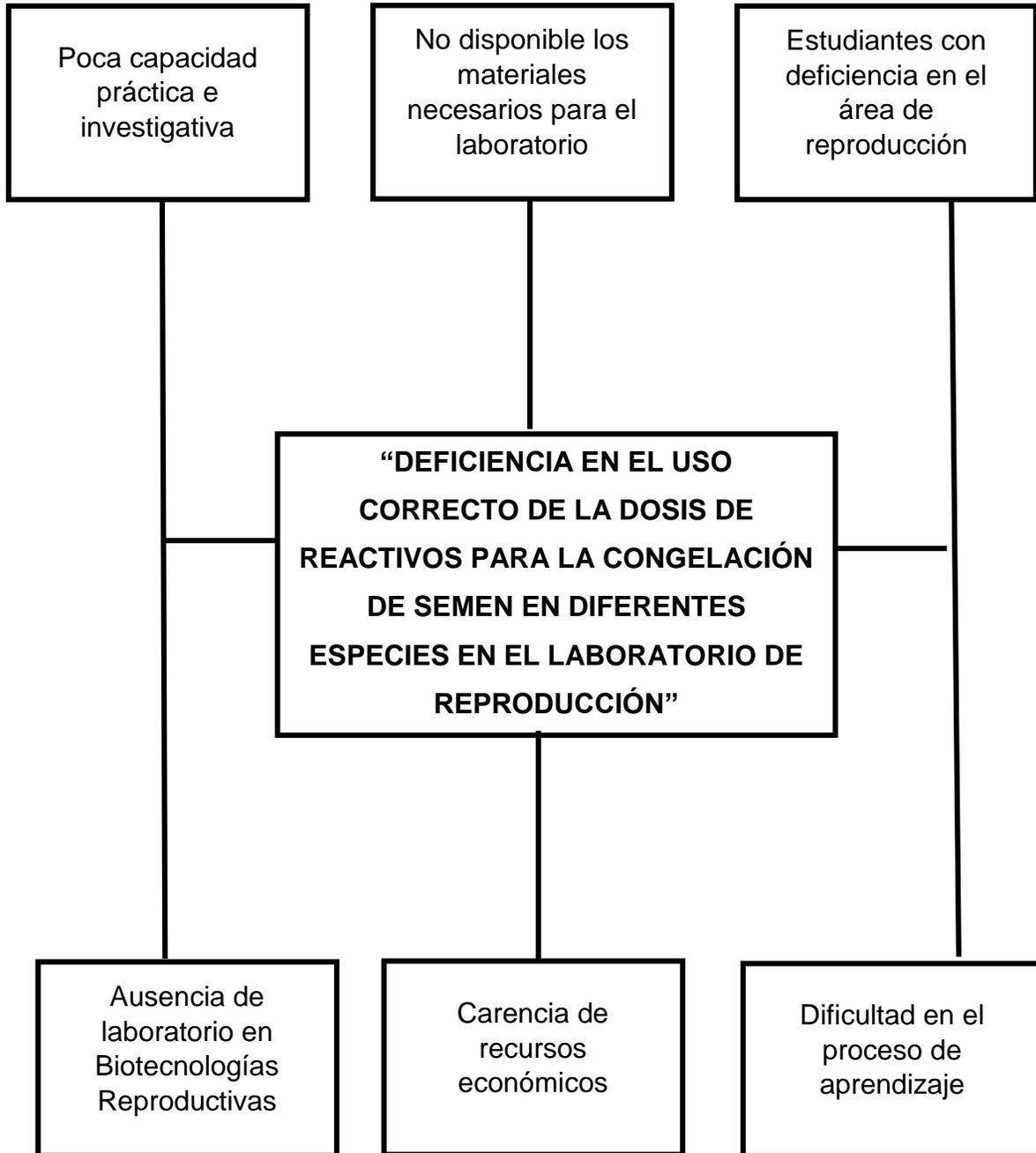
Los estudiantes de la Facultad de Veterinaria quienes usarán el laboratorio de biotecnologías reproductivas para prácticas de conservación del semen e inseminaciones artificiales en el ganado bovino.

Los egresados, quienes podrán realizar sus investigaciones dentro del laboratorio y a su vez ampliar su conocimiento sin limitación alguna.

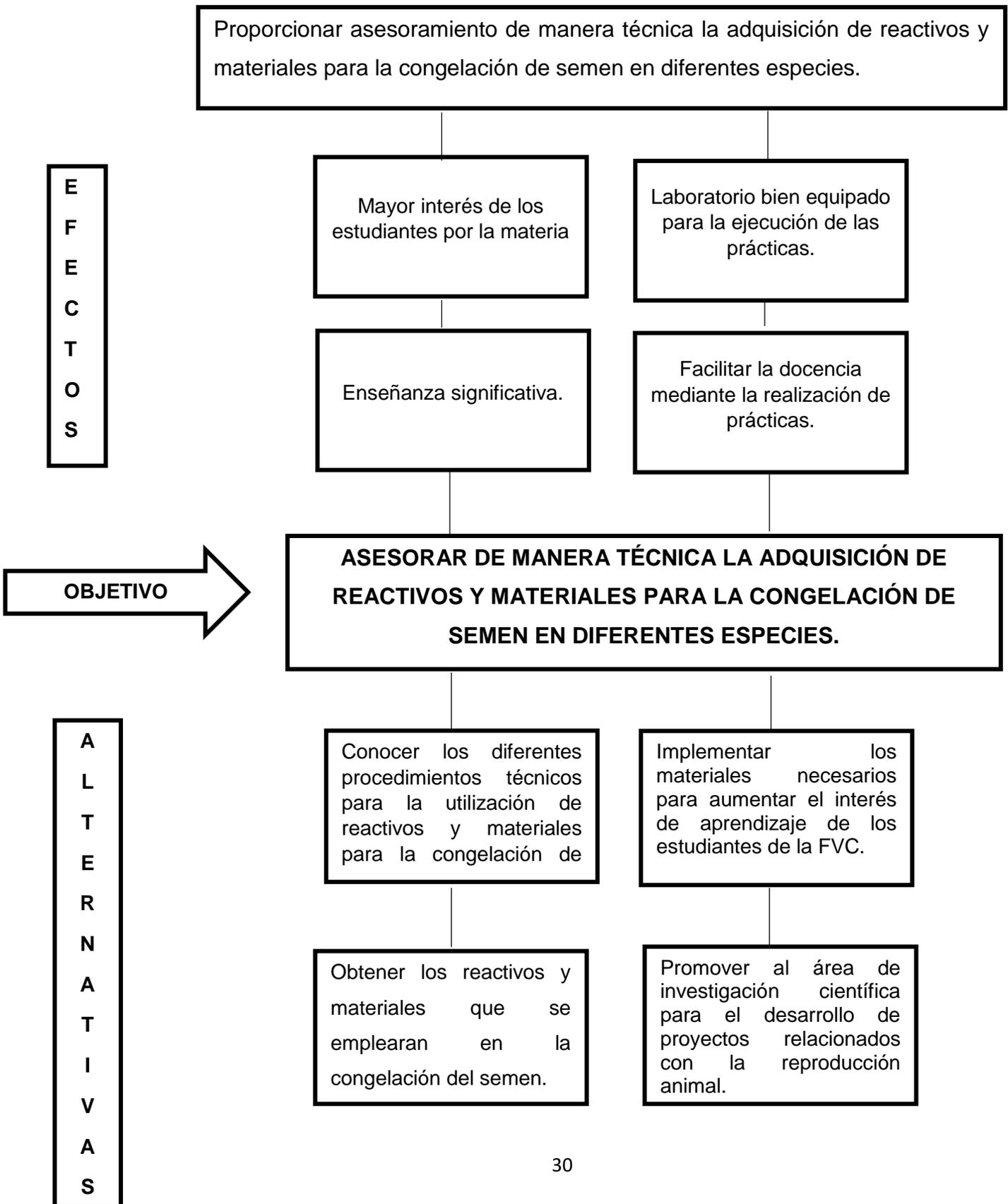
### 7.1. MATRIZ DE INVOLUCRADOS

<b>GRUPOS</b>	<b>INTERESES</b>	<b>PROBLEMAS PREVISTOS</b>	<b>RECURSOS Y MANDATOS</b>	<b>INTERESES DEL PROYECTO</b>	<b>CONFLICTOS POTENCIALES</b>
<b>Autoridades de la facultad de ciencias veterinarias</b>	Implementar una nueva área en los laboratorios de la FCV, para que los estudiantes realicen sus prácticas.	Ausencia de los materiales que se implementaran en el laboratorio.	Área física Apoyo de gestiones.	Mejorar las instalaciones de la facultad	Uso incorrecto de los materiales del laboratorio.
<b>Docentes de la facultad de ciencias veterinarias</b>	Realizar prácticas como una metodología de enseñanza participativa.	Poco interés en el desarrollo práctico tanto de los docentes como de los estudiantes.	Conocimiento y aporte de las nuevas técnicas de aprendizaje.	Incrementar el aprendizaje de los estudiantes mediante la práctica.	Poco interés por parte de los estudiantes.
<b>Estudiantes de la facultad de ciencias veterinarias</b>	Adquirir mayor aprendizaje y desenvolvimiento en la reproducción animal.	Falta de interés en la reproducción animal.	Utilización adecuada de cada uno de los distintos materiales del laboratorio.	Contar con un laboratorio completo con todos los materiales necesarios para las prácticas.	Ausencia de recursos, limitando la ejecución de las prácticas.
<b>Egresados de la facultad de ciencias veterinarias</b>	Fortalecimiento educativo.	Bajo rendimiento tecnológico, al no poseer los suficientes conocimientos prácticos.	Área destinada para la criopreservación del semen.	Realizar investigaciones, que aporten al desarrollo de la comunidad educativa.	No poseer el apoyo de las autoridades de la FCV.

## 7.2. ARBOL DEL PROBLEMA



### 7.3. ÁRBOL DE OBJETIVOS



## 7.4. MATRIZ DEL MARCO LÓGICO

Resumen narrativo de Objetivos	Indicadores	Verificadores	Supuestos
<b>Fin:</b> *poseer un laboratorio bien equipado *obtener semen de buena calidad.	* Adquisición de todos los materiales. *aplicar correctamente la dosis de los diluyentes para la conservación del semen.	*observación directa *fotografías *informes entregados por los tesisistas.	* Materiales no disponibles. * Administración incorrecta de la dosis del diluyente. *Muestra de semen de mala calidad.
<b>Propósito</b>  Usar correctamente los materiales y dosis de reactivos para una óptima dilución del semen	*Ejecución de prácticas para adquirir mayor destreza y habilidad.	*Observación directa	*Materiales no disponibles.
<b>Componentes</b> 1. Materiales para la congelación del semen.	*implementación de los materiales en el laboratorio. *presupuesto de \$8000 para la compra de materiales.	*Facturas *Fotografías	*Ausencia del presupuesto.
2. Información acerca del uso correcto de reactivos, y demás materiales.	*marco referencial de tesis.	*Informe de tesis	*Información no actualizada.
3. Realizar la entrega de los materiales en el laboratorio de reproducción de la FCV de forma física, además de hacer la respectiva entrega virtual.	*	*Fotografías *Observación directa	* Complicaciones por la vigente pandemia (entrega física). * Mala conexión de internet (entrega virtual).

<p><b>Actividades</b></p> <p>1.Comprar:</p> <p>*diluyente de semen bovino OPTIXCELL IMV \$1425.00</p> <p>*Pajuelas vacías IMV 0.50 CC x unidad \$1220.00</p> <p>*canuto para globet de inseminación 9.2/10 MM \$203.00</p> <p>*destilador de agua 4 litros 220v y accesorios \$3561.43</p> <p>*micropipeta vv 20-200 UL GP \$921.86</p> <p>*soporte universal micropipetas 8pts. \$110.00</p>		<p>*Facturas</p> <p>*Fotografías.</p>	<p>*Falta de recurso económico.</p> <p>* Trayecto de transporte de los materiales se extravíe, o se perjudique alguno.</p>
<p>2. Efectuar una revisión bibliográfica acerca del uso de los reactivos y demás materiales para la congelación del semen.</p>	<p>*No tiene costo.</p>	<p>*Informe de tesis</p>	<p>*Información no actualizada.</p>
<p>3. Entregar de forma física y virtual los materiales a las autoridades de la UTM.</p>		<p>*Fotografías</p> <p>*Observación directa</p>	<p>* Complicaciones por la vigente pandemia (entrega física).</p> <p>* Mala conexión de internet (entrega virtual).</p>

## VIII. RECURSOS A UTILIZAR

### 8.1. RECURSOS HUMANOS

- Egresados
- Tutor de tesis
- Revisor de tesis
- Docentes
- Decano

### 8.2. RECURSOS MATERIALES

- Diluyente de semen bovino OPTIXCELL IMV
- Pajuelas
- Canuto para globet de inseminación
- Destilador de agua 4 litros 220v y accesorios
- Micropipeta
- Soporte universal micropipetas
- Computadora

### 8.3. RECURSOS FINANCIEROS

Los recursos financieros fueron cubiertos en mayor parte por la Beca de titulación adquirida a través de la Universidad Técnica de Manabí

- Gastos del trabajo comunitario. 8000.00

Total..... 8000.00

## **IX. PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS OBTENIDOS EN LA SOLUCIÓN DEL PROBLEMA**

El presente proyecto se desarrolló en el laboratorio de reproducción de la carrera de Medicina Veterinaria, situado en la parroquia Lodana, cantón Santa Ana perteneciente a la provincia de Manabí.

Para poder llevar a cabo el proyecto, se procedió principalmente hacer una visualización del laboratorio y así conocer cuáles eran las condiciones en las que se encontraba y a partir de aquello poder determinar cuáles eran las necesidades primordiales que requería el laboratorio para la funcionalidad óptima del mismo. Dando como resultado, proceder a implementar materiales que son de gran importancia para la dilución del semen, que es parte de la técnica reproductiva de inseminación artificial que posteriormente garantizara la crio preservación del semen.

A continuación, se detallan las actividades ejecutadas para poder cumplir con el objetivo principal del proyecto.

### **9.1. Compra de diluyente de semen bovino**



**Figura 2.-** Diluyente de semen bovino OPTIXCELL IMV

Se efectuó la compra del diluyente semen bovino OPTIXCELL IMV, de la empresa Inseminar situado en Latacunga, el cual sirve para diluir el semen garantizando la

motilidad espermática posdescongelación en concentraciones subóptima, además de altas tasas de fertilidad, con una vida útil de 18 meses.

### **9.2. Compra de Pajuelas vacías**



**Figura 3.-** Pajuelas vacías IMV 0.50 CC x unidad

Compra de 1 paquete de pajuelas vacías IMV 0.50 (2000 unidades- blancas) en la empresa Inseminar, para el almacenamiento del material biológico (semen), dentro del tanque de nitrógeno para su conservación.

### **9.3. Compra de canuto para globet de inseminación**



**Figura 4.-** Canuto para globet de inseminación 9.2/10 MM

Compra de canuto o varillas para globet de inseminación 9.2/10 MM (70 unidades) en la empresa Inseminar, para colocar los globet.

#### 9.4. Compra de destilador de agua y accesorios



**Figura 5.-** Destilador de agua 4 litros 220v y accesorios

Compra de un destilador de agua de la empresa Boeco, con una capacidad de 4 litros, de acero inoxidable con corte termostático de bajo nivel de agua e interruptor de nivel que activa el calentador si hay suficiente nivel de agua en la caldera

#### 9.5. Compra de micropipeta y soporte universal micropipetas 8pts.



**Figura 6.-** Micropipeta y soporte universal micropipetas 8pts.

Compra de Micropipeta y soporte universal micropipetas 8pts. La micropipeta tiene una capacidad de 20-200 microlitros, la cual sirve para transferir pequeños volúmenes de líquidos y permitir su manejo en las distintas técnicas analíticas. Mientras que el soporte universal de micropipetas es octogonal, es decir que se pueden colocar 8 micropipetas a la vez, y su función consiste en sostener y almacenar las pipetas.

## **X. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **10.1. CONCLUSIONES**

Una vez culminado con el presente trabajo comunitario en el área de producción de la Facultad de Ciencias Veterinarias se llegaron a las siguientes conclusiones:

- Los instrumentos que se adquirieron son fundamentales dentro del laboratorio, sin duda alguna la implementación tanto de estos equipos como los materiales servirán para extender el tiempo de vida de los espermatozoides.
- La efectividad de los materiales y equipos se comprobó a través de una práctica, obteniendo resultados positivos de los mismos, ya que todos se encuentran en perfecto estado, demostrando que son eficientes para poder ser utilizados en el laboratorio de reproducción.
- La composición del diluyente a utilizar es de gran importancia, ya que su función principal es diluir el semen y de esta manera en conjunto con los demás materiales permitirá prolongar el tiempo del uso del mismo.

## 10.2. RECOMENDACIONES

Una vez culminado con el presente trabajo comunitario en el área de producción de la Facultad de Ciencias Veterinarias se llegaron a las siguientes recomendaciones:

- Revisar constantemente los materiales del laboratorio en especial los reactivos, ya que estos tienen una fecha límite de caducidad, y un mal uso de los mismos podría llegar alterar el resultado final de las muestras de semen.
- Adquirir diferentes tipos de diluyentes, sean estos de corta y larga duración y realizar estudios de los mismos para conocer si existe influencia alguna en la criopreservación del semen.
- Invitar a la comunidad estudiantil a vincularse con el desarrollo de proyectos comunitarios orientados al laboratorio de reproducción para que este pueda seguir desarrollándose en las diversas técnicas reproductivas que existen, y a su vez garantizar el crecimiento de la carrera.

## **XI. SUSTENTABILIDAD Y SOSTENIBILIDAD**

### **11.1. SUSTENTABILIDAD**

El desarrollo de este proyecto es sustentable ya que al implementar los materiales mencionados anteriormente se logrará obtener un laboratorio bien equipado, para que los estudiantes y docentes realicen sus prácticas, logrando disminuir las deficiencias que existen en el entorno estudiantil dentro del desarrollo práctico,

### **11.2. SOSTENIBILIDAD**

La implementación de los reactivos y materiales tales como, las pajuelas, destilador de agua, canuto de globet, micropipetas con su respectivo soporte universal, son materiales necesarios para el procedimiento de congelación del semen, la ausencia de los mismos no permitirá poder llevar a cabo el proceso de criopreservación, por lo tanto, la ejecución de este proyecto resulta sostenible.

## XII. PRESUPUESTO

<b>PRESUPUESTO DE TESIS</b>			
<b>RUBRO</b>	<b>CANTIDAD</b>	<b>VALOR UNIT.</b>	<b>VALOR TOTAL</b>
<b>Recursos materiales</b>			
-Diluyente de semen bovino OPTIXCELL	5	285.00	1425.00
IMV.	2000	0.61	1220.00
-Pajuelas.	70	2.90	203.00
-Canuto para globet de inseminación	1	3561.43	3561.43
-Destilador de agua 4 litros 220v y accesorios	2	460.93	921.86
-Micropipeta	1	110.00	110.00
-Soporte universal micropipetas			
<b>Otros</b>			
-Servicio de entrega	2	10.00	20.00
-Iva 12% (factura #1)		428,57	413,69
-Iva 12% (factura #2)		125,02	125,02
<b>TOTAL</b>			<b>8000,00</b>

### XIII. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

MESES	ACTIVIDADES						
	Elaboración del proyecto	Aprobación del proyecto	Compra de materiales	Entrega presencial de materiales	Entrega virtual de materiales	Aprobación del informe final	Sustentación de la tesis
Oct-2019	X						
Nov-2019	X						
Dic-2019		X					
Ene-2020							
Feb-2020							
Mar-2020							
Abr-2020							
May-2020							
Jun-2020							
Jul-2020							
Ago-2020							
Sep-2020							
Oct-2020							
Nov-2020							
Dic-2020							
Ene-2021							
Feb-2021			X				
Mar-2021			X	X			
Abr-2021							
May-2021							
Jun-2021					X		
Jul-2021							

#### XIV. BIBLIOGRAFIA

- Admin. (2014). *Características de un diluyente de semen*. Recuperado el 21 de 11 de 2020, de <https://cidosanet.net/noticias/caracteristicas-del-diluyente-de-semen-porcino>
- Ahmed, M. (2018). *Inseminación artificial y su importancia económica en el ganado lechero*. Recuperado el 28 de 11 de 2020, de <https://www.arcjournals.org/pdfs/ijrsmb/v4-i1/5.pdf>
- Álvarez, C., González, N., Luño, V., Martínez, F., & Gil, L. (2019). *Reproduction in Domestic Animals*. Recuperado el 23 de 11 de 2020
- Álvarez, U., & Restrepo, G. (2006). Implicaciones de la biotecnología reproductiva en la producción animal. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 2, 66-67. Recuperado el 29 de 11 de 2020, de <https://www.redalyc.org/pdf/3214/321428499006.pdf>
- 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. *Universidad Central del Ecuador*, 4-9.
- Cabodevil, J. (2015). *Evaluación de semen bovino congeleado*. Obtenido de [https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/evaluacion-semen-bovino-congeleado-t29765.htm?fbclid=IwAR3hX9k5hrHXkL0VDzaHciLZ6TI-weNhgmcw\\_FZliypPsTkc72QSJ5f76g](https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/evaluacion-semen-bovino-congeleado-t29765.htm?fbclid=IwAR3hX9k5hrHXkL0VDzaHciLZ6TI-weNhgmcw_FZliypPsTkc72QSJ5f76g)
- Campbell, B. (2021). *What is a Water Distiller?* Recuperado el 24 de 02 de 2021, de <https://www.wqpmag.com/distiller-equipmentcomponents/what-are-water-distillers-how-do-they-work>
- Carpio, S. (2015). *Evaluación de dos diluyentes para la crioconservación de semen bovino*. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/7955/1/UPS-CT004815.pdf>

- Cedeño. (2019). *Santa Ana GAD Municipal*. Obtenido de <http://santaana.gob.ec/santa-Ana/situacion-geografia/>
- Cruz, D. (2014). *Estudio comparativo de 3 diluyentes en el procesamiento de semen bovino*. Recuperado el 25 de 02 de 2021, de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3781/T20276%20CRUZ%20SOLIS,%20DIEGO%20%20TESIS.pdf?sequence=1>
- Cuenca, C., & Avellaneda, J. (2017). *Revista Electrónica Veterinaria. REDVET*, 11. Recuperado el 14 de 03 de 2021, de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653009012.pdf>
- Díaz, N., & López, P. (2018). *Protocolos de criopreservación del semen bovino*. Recuperado el 21 de 02 de 2021, de <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/9496/T636.08245%20D542.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Foote, R., Layek, S., & Parks, E. (2020). *Artificial Insemination*. Recuperado el 04 de 12 de 2020, de <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818766-1.00041-6>
- Fryer, W. (2015). *What does a Water Distiller do and how does it work?* Recuperado el 25 de 02 de 2021, de <https://www.megahome-distillers.co.uk/what-does-a-water-distiller>
- Giraldo, J. (2007). Una mirada al uso de la inseminación artificial en bovinos. *Revista Lasallista de Investigación*, 4, 51. Recuperado el 29 de 11 de 2020, de <https://www.redalyc.org/pdf/695/69540108.pdf>
- Gomez, V. (2015). Protocolo para la evaluación de semen en rumiantes. *Sitio Argentino de Producción Animal.*, 11-16.
- Hoffmann, B., & Schuler, G. (2014). *Recolección y conservación del semen para la Inseminación Artificial (IA)*. Recuperado el 16 de Noviembre de 2020, de <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?id=3852300&pid=111811>

- Machado, D., Flores, A., & Lossino, C. (2020). *Inseminación artificial con semen congelado en burros*. Recuperado el 23 de 11 de 2020, de <https://revistafcaunlz.gramaweb.com.ar/wp-content/uploads/2020/11/Machado-Dornelles-et-al.pdf>
- Martínez, C., & Peña, J. (2016). *Estudio de factibilidad para la creación de una comercializadora de material seminal bovino en las provincias de Cumunera y Guanentina del departamento de Santaner*. Recuperado el 29 de 11 de 2020, de [https://issuu.com/maosabo/docs/proyecto\\_inseminar\\_de\\_orient\\_e\\_final](https://issuu.com/maosabo/docs/proyecto_inseminar_de_orient_e_final)
- Mendoza, E., & Zambrano, A. (2017). *Uso de dos protocolos de sincronización modificados (CO-SYNCH® + CIDR®) y su efecto en parámetros reproductivos en vaquillas de aptitud lechera*. Recuperado el 04 de 12 de 2020, de <http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/720/1/TMV119.pdf>
- O'Connor, M. (2016). *Almacenamiento y manipulación de semen congelado*. Recuperado el 23 de 02 de 2021, de <https://extension.psu.edu/storing-and-handling-frozen-semen>
- Philip, T. (2013). *Semen Collection and Breeding Soundness Examination in the Dog*. Recuperado el 04 de 12 de 2020, de <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=11372&meta=Generic&catId=35318&id=5709848>
- Ramones, J. (2013). *Evaluación de dos agentes crioprotectores no permeables y un diluyente comercial en la congelación de semen bovino*. Recuperado el 25 de 02 de 2021, de <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/4535/1/Tesis.pdf>
- Ribeiro, A. (2014). *Criopreservación de espermatozoides bovinos extraídos de la cola del epidídimo utilizando los métodos convencional y automatizado. Universidad Estadual Paulista, Botucatu, Brasil, 1-3.*

- Ribeiro, P., Munita, B., Mello, M., & Ferreira, F. (2014). Criopreservación de espermatozoides bovinos extraídos de la cola del epidídimo utilizando los métodos convencional y automatizado. *Arch Med Vet*, 38. Recuperado el 17 de 02 de 2021, de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/amv/v46n1/art05.pdf>
- Rivera, M. (2021). *Congelación de semen bovino*. Recuperado el 21 de 02 de 2021, de Genética Bovina: <https://revistageneticabovina.com/biotecnologia/congelacion-semen-bovino/>
- Rueda, M. (2011). Diluyentes para la conservación de semen porcino. *Revista Computadorizada de Producción Porcina*, 19 - 26. Recuperado el 24 de 02 de 2021, de [http://www.iip.co.cu/RCPP/181/181\\_02artresMRueda.pdf](http://www.iip.co.cu/RCPP/181/181_02artresMRueda.pdf)
- Sánchez, H., Ruíz, E., Maldonado, S., & López, I. (2019). *Efecto Comparativo entre Inseminación Artificial a Tiempo Fijo (IATF) e Inseminación Artificial a Celo Natural en ganado vacuno en el ámbito del Bajo Mayo en el año 2014*. Recuperado el 29 de 11 de 2020, de <http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/3425/INF.%20INVEST.%20-%20Hugo%20S%C3%A1nchez%20C%C3%A1rdenas%20%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Sella, A. (2014). *Schnitger's pipette*. Recuperado el 24 de 02 de 2021, de <https://www.chemistryworld.com/opinion/schnitgers-pipette/7789.article>
- Stevenson, J. (2018). *Straws, straws, and more on A.I. straws*. Recuperado el 23 de 02 de 2021, de <https://hoards.com/article-24721-straws-straws-and-more-on-ai-straws.html>
- Torres, P., Fischman, M., Acerbo, M., García., Dominguez, J., & Cisale, H. (2014). *Análisis de diluyentes comerciales de semen porcino*. Recuperado el 21 de 11 de 2020, de <https://scielo.isciii.es/pdf/azoo/v63n243/nota2.pdf>

Valverde, A. (2018). *Sistemas de análisis computadorizado de semen en la reproducción animal*. Obtenido de

<https://www.redalyc.org/jatsRepo/437/43755165018/html/index.html>

Velasco. (2008). La inseminación artificial y su efecto sobre los índices de productividad parcial en fincas ganaderas de doble propósito. *Revista Científica, FCV-LUZ*, 278-283.

## XV. ANEXOS

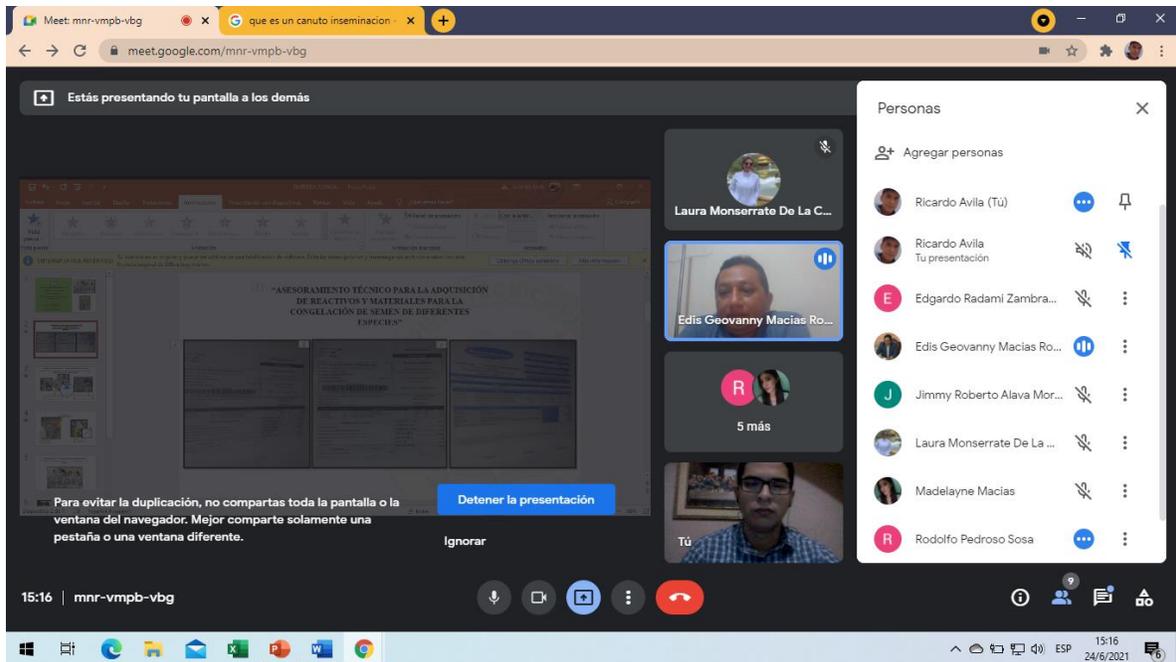
ENTREGA DE EQUIPOS Y FINALIZACIÓN DE OBRA EN EL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍAS REPRODUCTIVAS DE LA FCV DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ EL 17 DE MARZO DE 2021.



**EXPLICACION DEL FUNCIONAMIENTO DE LAS MÁQUINAS A CARGO DEL  
DR. JUAN JOSÉ ZAMBRANO EL 17 DE MARZO DE 2021**



## EVIDENCIA DE LA ENTREGA VIRTUAL DE LOS EQUIPOS EL 24 DE JUNIO DE 2021



## REUNIÓN CON LA TUTORA DE TESIS

