



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

CRIO PRESERVACIÓN DE SEMEN EN EQUINOS

Proyecto de Investigación previo a la obtención del Título de Médico Veterinario y
Zootecnista

Autor:

Pérez Villafuerte Juan Francisco

Director:

PhD. Edilberto Chacón Marcheco

LATACUNGA - ECUADOR

FEBRERO 2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo **PÉREZ VILLAFUERTE JUAN FRANCISCO** declaro ser autor del presente proyecto de investigación: “**CRIO PRESERVACIÓN DE SEMEN EN EQUINOS**”, la presente investigación es de mi autoría y que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y que consultando referencias bibliográficas que se incluyen en este documento con el **PhD. Edilberto Chacón Marcheco** tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

.....

PÉREZ VILLAFUERTE JUAN FRANCISCO

Número de C.I. 180418907-2

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte de Pérez Villafuerte Juan Francisco, identificada/o con C.C. N°, 180418907-2 de estado civil soltero y con domicilio en Ambato, a quien en lo sucesivo se denominará **LA/EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA/EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**CRIO PRESERVACIÓN DE SEMEN EN EQUINOS**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Unidad Académica según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. – ABRIL 2015 – FEBREO 2018

Aprobación HCA. - 2018

Tutor(a). – PhD. Dr. Edilberto Chacón Marcheco

Tema: Crio Preservación De Semen Equino

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA/EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA/EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA/EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA/EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA/EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusulas cuartas, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 9 días del mes de marzo del 2018.

Sr. Pérez Villafuerte Juan Francisco Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el título: **“CRIO PRESERVACIÓN DE SEMEN EN EQUINOS “**, de Pérez Villafuerte Juan Francisco, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Honorable Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Latacunga, marzo de 2018

.....
PhD. Edilberto Chacón Marcheco

1756985691

Tutor

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Carrera de Medicina Veterinaria; por cuanto, el postulante Pérez Villafuerte Juan Francisco con el título de Proyecto de Investigación: “**CRIO PRESERVACIÓN DE SEMEN EN EQUINOS** ” ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de Sustentación de Proyecto.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, marzo de 2018

Para constancia firman:

Lector 1 (Presidente)

Msc. Cristian Nepalí Arcos Álvarez

CC: 180367563-4

Lector 2

MSc. Juan Eduardo Sambache Tayupanta

CC: 172179675-1

Lector 3

MSc. Miguel Ángel Gutiérrez Reinoso

CC: 0502236623

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por darme la tenacidad para vivir, salud y fuerzas para cumplir con mis anhelos y objetivos trazados, por darme la sabiduría para recorrer este largo sendero. A mis padres Dylon Alirio Pérez y María Luisa Villafuerte los cuales son el motor que impulsa mi vida y supieron guiarme por el mejor camino que se puede recorrer el de la comprensión y el saber. A mis hermanos Anabel, Dylon, Gilda y Esteban quienes me impulsaron a levantarme después de cada caída y tropiezo, por mi familia a ellos se les dedica esta meta cumplida. A mis sobrinos Diego, Amy, Dennis, Eduardo y Emilia quienes con su alegría y cariño fueron el bastón para no desfallecer ante ningún sendero sinuoso; A mis cuñados Guido, Paul y Catalina quienes en los momentos difíciles supieron darme un consejo para salir adelante, a mis tíos, tías y toda mi familia por el apoyo incondicional para cumplir este sueño tan anhelado. A la Lcda. Cecilia Escobar, al Arq, Jorge Rodríguez y al Lcdo. Lenin Revelo por abrirme las puertas de mi carrera después de una gran caída, A la Econ Gabriela Rodríguez por ser mi apoyo y mi sostén incondicional en las buenas y en las malas; por despejar mis dudas y jamás dejar que me rindiera.

A la Dra. Cinthya Ramos y al Dr. Ramiro Quizpi por su apoyo y facilitación en el desarrollo de esta investigación.

JUAN FRANCISCO PÉREZ VILLAFUERTE

DEDICATORIA

Dedico este logro a Dios en la imagen el Niño Caporal y Jesús de la Misericordia por darme la entereza para surca las dificultades que se me han presentado, la iluminación mental para saber escoger mis actos y bañarme de su cariño. A mis padres Dylon Alirio Pérez y María Luisa Villafuerte quienes fuesen mi fuente de inspiración y modelos a seguir. A mis hermanos A mis hermanos Anabel, Dylon, Gilda y Esteban compañeros incondicionales en mi vida. A mis sobrinos Diego, Amy, Dennis, Eduardo y Emilia mis fuentes de amor y querer. A mis cuñados Guido, Paul y Catalina guías y concejeros en los duros momentos.

JUAN FRANCISCO PÉREZ VILLAFUERTE

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITULO: “CRIO PRESERVACIÓN DE SEMEN EN EQUINOS”

Autor: Pérez Villafuerte Juan Francisco

RESUMEN

La investigación se llevó a cabo con el fin evaluar la crío preservación de semen equino en contención cápsular biodegradable e hidrosoluble en la provincia de Tungurahua cantón Pelileo en las instalaciones de la hacienda Pachanlica dedicada a la producción de equinos criollos, con el objetivo de evaluar los caracteres espermáticos pos descongelación con el uso de Botucrío® con embasamiento en cápsulas biodegradables para la conservación y preservación del semen equino de 5 donantes de razas criollas, se procedió a una dilución seminal de 1 ml en 1 ml con diluyente (BotuTurbo®) y (Botucrío®) como crío conservante, con una valoración inicial de color, ph, motilidad en masa, motilidad propiamente dicha, motilidad individual, morfología, concentración, usando como base la técnica de empaquetamiento de pajuelas equinas, con la adecuación de las cápsulas a gradientes de temperatura hasta llegar a -196 grados centígrados la misma que corresponde al medio de conservación, los indicadores evaluados fueron la calidad estructural de la cápsula, valores espermáticos pos descongelación, sus variables con relación a la muestra inicial, estructura cápsular. Obteniendo un nivel de integridad favorable pre y pos congelación sin deformación estructural de las características seminales, no obstante, físicamente se atrofio por la pérdida de la cavidad de aire resultante del sellado, la misma que no fue relevante para la investigación debido a que al reconstruirla térmicamente retomo su forma inicial manteniendo el contenido espermático integro. Obteniéndose una viabilidad espermática de 80% dentro de los parámetros de pos descongelación valorados por el investigador y su equipo de trabajo.

Palabras Clave: Criollo, Cápsula biodegradable, Crio preservación, Espermatozoide, Equino.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

Title: "EQUINE SEMEN CRYOPRESERVATION"

Autor: Pérez Villafuerte Juan Francisco

Abstract

The research was carried out with the aim of evaluate equine semen cryopreservation in biodegradable and water-soluble capsule containment in Pelileo parish, Tungurahua province. It was developed in Pachanlica farm dedicated to the production of equine Creoles. It has the objective to evaluate post-thaw spermatic characters with the use of Botucrio® with packaging biodegradable capsules for the conservation and preservation of equine semen from 5 donors Creole breeds. To begin with a seminal dilution of 1 ml in 1 ml with diluent (Botuturbo®) and (Botucrio®) as cryoprotectant, with an initial color evaluation, ph, mass motility, proper motility, individual motility, morphology, concentration. Using as base bagging technique equine straws. The adaptation of the capsules has a gradient temperature up to -196 degrees Celsius, this one correspond to the conservation medium. The indicators evaluated were the structural quality of the capsule, post-thaw sperm values, their variables in relation to the initial sample, capsular structure. Getting a favorable level of integrity before and after freezing without structural deformation of the seminal characteristics. However, physically atrophied by the loss of the air cavity resulting from the sealing. The same one that was not relevant for the investigation due to the fact that reconstructing thermally, it returned to its initial shape maintaining the integral spermatic content. Obtaining a sperm viability of 80% inside of the parameters of post thawing valued by the researcher and his teamwork.

Keywords: Creole, biodegradable capsule, cryopreservation, spermatozoon, equine.

ÍNDICE PRELIMINAR

PORTADA	I
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	II
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	III
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	VI
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	VII
AGRADECIMIENTO	VIII
DEDICATORIA.....	IX
RESUMEN	X
ABSTRACT	XI
ÍNDICE PRELIMINAR	XII
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	XIII, XIV
ÍNDICE DE ANEXO	XV
ÍNDICE DE IMÁGENES.....	XVI
ÍNDICE DE GRÁFICOS	XVII

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. RESUMEN DEL PROYECTO.....	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	3
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	3
4.1. BENEFICIARIOS DIRECTOS.....	3
4.2. BENEFICIARIOS INDIRECTOS.....	3
5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	4
6. OBJETIVOS.....	4
6.1. General.....	4
6.2. Específicos.....	4
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	5
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	6
8.1 EL CRIOLLO.....	6
8.1.1 MORFOLOGÍA DEL CABALLO CRIOLLO.....	6
8.2 ANÁLISIS SEMINAL.....	8
8.2.1 VOLUMEN.....	8
8.2.2 COLOR.....	8
8.2.3 Ph.....	8
8.2.4 CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA.....	8
8.2.5 MOTILIDAD ESPERMÁTICA.....	9
8.3 CRIO PRESERVACIÓN.....	9
8.3.1. CHOQUE TÉRMICO.....	10
8.3.2. ESTRÉS POR LA CRIO PRESERVACIÓN.....	10
8.3.3. FORRACIÓN DE CRISTALES.....	10
8.3.4. DILUYENTE PARA CONGELACIÓN.....	10
8.4 MEDIOS DILUYENTES.....	11
8.4.1. Botucurio®.....	11
8.5 CÁPSULAS.....	11
8.5.1. ALMACENAMIENTO DE LAS CÁPSULAS.....	12

8.6	POLÍMERO	12
8.6.1.	La yuca y su almidón.....	12
8.6.2.	PROPIEDADES DEL ALMIDÓN	12
8.6.3.	GELATINIZACIÓN	12
8.6.4.	TRANSICIÓN VÍTREA	13
8.6.5.	DESESTRUCTURACIÓN.....	13
8.6.6.	BIODEGRADABILIDAD	14
9.	<i>PREGUNTAS CIENTÍFICAS.....</i>	14
10.	<i>METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....</i>	14
10.1	LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL PROYECTO.....	14
10.2	UNIDADES EXPERIMENTALES	15
10.3	MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES.....	15
10.4	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	16
10.5	MEDICIONES EXPERIMENTALES	16
10.6	PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	17
10.7	INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN.....	19
11.	<i>ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS</i>	20
	<i>Evaluación cápsular pre congelación</i>	20
	<i>Evaluación cápsular pos descongelación</i>	20
	<i>Valoración del crio preservante Botucrio®</i>	20
	<i>Evaluación pre congelación</i>	20
	<i>Evaluación pos descongelación día 21.</i>	20
	<i>Evaluación pos descongelación día 42</i>	21
12.	<i>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</i>	23
11.1	Conclusiones.....	23
11.2	Recomendaciones.....	23
13.	<i>BIBLIOGRAFÍA.....</i>	25
	<i>Bibliografía.....</i>	25
	BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA	27
14.	<i>ANEXOS.....</i>	28

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1 AVAL DE TRADUCCIÓN	28
Anexo N° 2 HOJA DE VIDA DEL TUTOR	29
Anexo N° 3 HOJA DE VIDA ASESOR	34
Anexo N° 4 HOJA DE VIDA DEL ESTUDIANTE.....	36
ANEXO N° 5 HOJA DE TOMA DE RESULTADOS DE LABORATORIO	37
Anexo N° 6 IMÁGENES	38

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen N° 1 Conteo Celular con Hematocitómetro.....	19
Imagen N° 2 Construcción de la vagina artificial	38
Imagen N° 3 Armado de la vagina artificial.....	39
Imagen N° 4 Recolección de semen	40
Imagen N° 5 Proceso de centrifugado, llenado y congelación	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 VALORACIÓN PRE CONGELACIÓN DEL SEMEN.....	22
Tabla N° 2 VALORACIÓN POS DESCONGELACIÓN DÍA 21.	22
Tabla N° 3 VALORACIÓN POS DESCONGELACIÓN DÍA 42	23

1. INFORMACIÓN GENERAL.

Título del Proyecto:

“CRIO PRESERVACIÓN DE SEMEN EQUINO”

Fecha de inicio:

Abril 2017

Fecha de finalización:

Febrero 2018

Lugar de ejecución:

Hacienda “Pachanlica” – Clínica Veterinaria Puppy Planet - Universidad Técnica de Cotopaxi

Facultad que auspicia:

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Medicina Veterinaria

Proyecto de investigación vinculado:

Conservación de recursos zoo genéticos locales de la zona 3

Equipo de Trabajo:

Coordinador de Proyecto de Investigación:

Pérez Villafuerte Juan Francisco (**Anexo 4**)

Tutor de Titulación:

PhD. Edilberto Chacón Marcheco (**Anexo 2**)

Asesor:

MSc. Rafael Alfonso Garzón Jarrin (**Anexo3**)

Área de Conocimiento:

64 Veterinaria

Línea de investigación:

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Fisiología Animal y Reproducción

2. RESUMEN DEL PROYECTO

La investigación se llevó a cabo en la provincia de Tungurahua cantón Pelileo en las instalaciones de la hacienda Pachanlica dedicada a la producción de equinos criollos, con el objetivo de evaluar los caracteres espermáticos pos descongelación con el uso de Botucurio® con embasamiento en cápsulas biodegradables para la conservación y preservación del semen equino de razas criollas, se utilizó una población de 5 equinos de raza criolla ecuatoriana, mediante vagina artesanal se obtuvo un volumen de eyaculado de 50cm^3 , se procedió a una dilución de 1:1 con diluyente (BotuTurbo®) y (Botucurio®) como crio conservante, con una valoración inicial de color blanco grisáceo, $\text{pH}7,2$, con una motilidad en masa buena, motilidad propiamente dicha muy buena (80% – 90 % cmm), motilidad individual de vigor 5 (mprmr), morfología normal del 80%, concentración 800×10^6 epz mm.3, usando como base la técnica para el empaquetamiento de pajuelas equinas, con la adecuación de las cápsulas a gradientes de temperatura hasta llegar a -196 la misma que corresponde al medio de conservación, los indicadores evaluados fueron calidad estructural de la cápsula, valores espermáticos pos descongelación, sus variables con relación a la muestra inicial, estructura cápsular. Obteniendo un nivel de integridad favorable pre y pos congelación sin deformación estructural, no obstante, físicamente se comprimió por la pérdida de la cavidad de aire resultante del sellado, la misma que no fue relevante para la investigación debido a que al reconstruirla térmicamente retomo su forma inicial manteniendo el contenido espermático integro. Obteniéndose una viabilidad espermática del 80 % con valores en 0,62ml por cápsula; color blanco lechoso, $\text{pH}7,6$, motilidad en masa buena, motilidad propiamente dicha muy buena (80% – 90 % cmm), motilidad individual vigor 4 (mpr), morfología normal 80%, concentración 1000×10^6 epz mm.3, siendo aceptable dentro de los parámetros de pos descongelación valorados por el investigador y su equipo de trabajo.

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Segun estudios de conservacion seminal equina propuestos por Camacho (2017) los medios tradicionales son efectivos al mantener semen dependiendo de el contenedor y el uso del crio preservante,. Por lo cual el presente planteamiento propone cambiar el medio de envasado por cápsulas hidrosolubles biodegradables y el uso de un crio preservante de elite disponible en el mercado como el Botucrio® calificando su desempeño durante el tiempo de investigacion y valorando caracteres macroscopicos y microscopicos seminales pre y pos congelacion.

Una forma eficaz de minimizar los costos seria con relación al uso de técnicas de crio preservación del germoplasma y maximizar el tiempo de vida del mismo para su respectiva transportación y aplicación en las yeguas receptoras, garantizando la calidad y la viabilidad de los mismos al momento de su reactivación por medios calóricos Concluye que el uso del crio concervante Botucrio® en comparacion a otros crio concervantes comerciales, demostro mejor efectividad pos descongelacion en pajuelas de 0.5ml de plastico convencional a 350 rpm, la propuesta dada en esta investigacion es usar Botucrio® como crio preservante con la adición de botuturbo® aportando al mejoramiento en la viabilidad espermática.

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

4.1.BENEFICIARIOS DIRECTOS

- Programa de producción equina de la hacienda Pachanlica y sus colaboradores investigativos.
- El investigador principal del proyecto, requisito previo a la obtención del Título de Médico Veterinario y Zootecnista.

4.2.BENEFICIARIOS INDIRECTOS

- Estudiantes de la carrera de Medicina Veterinaria que desarrollarán actividades de investigación en las cátedras de reproducción animal 1 y 2, a más de la catedra de biotecnología de la reproducción, elementos incluidos en la malla curricular.
- Productores de equinos nacionales de la zona centro del país vinculados a la producción de equinos de origen criollo.

5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

A nivel mundial el manejo y la crío preservación de esperma de caballo es costoso, debido a que el crío preservante que se usa es de bovinos, a más de ello el transporte y tiempo de vida del germoplasma es corto en dichos periodos. La problemática mundial es la adquisición de material genético de caballos puros para mejora de las razas en relación a la geografía de las mismas. (Justac, 2017)

En América la comercialización de se realiza mediante la compra y venta de ejemplares que presenten las mejores cualidades de cada raza y se los transporta a diferentes países para su reproducción y aprovechamiento de los caracteres genéticos que presentan.

Con relación a Ecuador el costo de compra venta de los ejemplares es alto, ya que la carga genética y su valor se potencializa con la aparición de ciertos rasgos que los criadores buscan en los reproductores. (Almeida Sosa, 2012)

A nivel de Ecuador no se han aplicado modificaciones con relación a métodos de contención espermática equina tradicional y mucho menos implementado un programa de genética enfocado en rescatar e dar realce al caballo criollo ecuatoriano, potenciando sus caracteres fenotípicos y genotípicos posicionándolo en una raza propia del país. (Justac, 2017)

6. OBJETIVOS

6.1.General

Evaluar los caracteres espermáticos pos descongelación mediante el uso de Botucrío® con embasamiento en cápsulas biodegradables para la conservación y preservación del semen equino de razas criollas, en la provincia de Tungurahua.

6.2.Específicos

- ⇒ Determinar la eficacia de la cápsula de polímeros hidrosolubles como contenedor espermático.
- ⇒ Valorar la efectividad el crío conservante Botucrío®.
- ⇒ Evaluar las características del semen y gametos pos descongelación.

7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.

ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	ACTIVIDAD	RESULTADO DE LA ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD (
<p>Objetivo 1</p> <p>Determinar la eficacia de la cápsula de polímeros hidrosolubles como contenedores espermáticos</p>	<p>Llenado en cápsulas de polímeros Hidrosolubles a base de yuca con 0.62ml de semen equino diluido en crio preservante.</p>	<p>Determinación de la eficacia de las cápsulas como contenedor de material espermático equino</p>	<p>Empaquetado con pipeta de cápsulas con semen equino, mediante manufacturación artesanal y valorizando su comportamiento.</p>
<p>Objetivo 2</p> <p>Valorar la efectividad el crio conservante Botucrio®</p>	<p>Evaluación del crio preservante Botucrio® al presentar gran tasa de supervivencia espermática.</p>	<p>Prolongación del tiempo de vida de los espermatozoides por más de 2 meses mediante ensayos.</p>	<p>Investigación mediante ensayos de crio preservantes en su etapa inicial muestreos con intervalos de 21 días entre muestras.</p>
<p>Objetivo 3</p> <p>Evaluar las características del semen y gametos pos descongelación</p>	<p>Se descongeló y valoró macro y microscópica pos descongelación de semen en</p>	<p>Los valores de aspecto, Color, ph, Motilidad en masa, Motilidad propiamente dicha, Motilidad</p>	<p>Caracterización microscópica y registros de cada periodo de pos descongelación.</p>

	periodos de 21 días.	individual, Morfología, Concentración	
--	----------------------	---------------------------------------	--

8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

8.1 EL CRIOLLO

Es de suponer que los conquistadores trajeron en mayor cantidad caballos inferiores para los soldados, pues eran de menor precio, reservándose los mejores para los jefes únicamente. Muchos de ellos fueron abandonados o perdidos en el nuevo continente y fue así que se criaron salvajes, multiplicándose libremente dentro de las condiciones mesológicas de estas regiones, realizándose en ellos una selección natural en la que triunfaba el más apto para sobrevivir a las dificultades de orden climático, alimenticio y epizootico, a más de la originada por la persecución del hombre y de las fieras; esta selección natural efectuada durante cuatro siglos y que continuo con una obligada consanguinidad, imprimió a la raza extraordinarias características de rusticidad y resistencia. (MULLER, 2011)

Justac, (2017) manifiesta que es casi siempre de pequeño tamaño, las características del caballo de la pampa demuestran la facultad de adaptación al medio ambiente que le permitió a la raza Criollo sobrevivir. Descendiente de los caballos árabes y andaluces importados por los conquistadores españoles, volvió al estado salvaje antes de ser utilizado y criado por los indios de la pampa. Sirvió a todos los partidarios en busca de su libertad; los gauchos, los indios y los ejércitos de los colonos europeos. Hoy es la montura de los peones para el trabajo ganadero y los desplazamientos.

8.1.1 MORFOLOGÍA DEL CABALLO CRIOLLO

La conformación general: Eumétrico y mesomorfo (medidas y formas medianas). Rectilíneo o subconvexilíneo (perfil recto o subconvexo). Su tipo es de un caballo muy musculoso modelado en fuerza, pero ágil y rápido en sus movimientos. (Almeida, 2012)

- Carácter: Activo y dócil
- Talla: con fluctuaciones para los machos entre 1,40 y 1,48. Hembras 2cm menos

- Perímetros torácicos: alrededor de 1,78 m, hembras 2 cm más.
- Perímetro de la caña: Alrededor de 19 cm. Hembras 1cm menos.
- Pelajes: con exclusión del del pintado y el tobiano se aceptan todas las variedades.
- Cabeza: En conjunto corta de base ancha y verticilo, frente amplia, proporcionalmente mucho cráneo y poca cara, orejas más bien chica, ojos inteligentes y expresivos, ollares dilatados.
- Cuello: de largo mediano, bien unido a sus dos extremidades, ligeramente convexo en su línea superior y casi recto en la inferior.
- Cruz: musculosa no muy destacad.
- Dorso: de un ancho y expresión proporcionada para completar superiormente un ancho tórax.
- Riñón; corto, ancho y musculoso bien unido al dorso y a la grupa.
- Grupa: de largo y ancho mediano, fuertemente musculad, bien desarrollada y semi oblicua
- Cola: con una inserción que continúa la línea superior de la grupa, el maslo corto y grueso con cerdas abundantes y gruesas
- Pecho: ancho y musculado; en descendido y los encuentros bien separados.
- Tronco: de gran desarrollo, costillas bien arqueadas, vientre profundo y lleno, continuando increíblemente el perfil interior del tórax.
- Flanco: corto y lleno.
- Espalda; medianamente largas e inclinadas, fuertemente musculadas, ambos encuentros bien separados.
- Brazo y codo: brazos levemente inclinados con el codo bien desprendido del tórax, ambos fuertemente musculados.
- Antebrazo: bien aplomado, largo y fuertemente musculado, que se afina a la rodilla.
- Rodillas: anchas, fuertes, medianamente largas y nítidas.
- Muslos y piernas: muslo bien musculado con las nalgas alargadas. Pierna ancha y musculada interior y exteriormente; la cuerda del corvejón bien destacada.
- Garrones: amplios, anchos, fuertes, secos y musculosos, paralelos al plano mediano del cuerpo y bien aplomados. El ángulo del garrón medianamente abierto.
- Cañas: de mediano desarrollo y solo sóbrela cara posterior del nudo.

- Cuartillas: fuertes, de longitud mediana, anchas, espesas, nítidas y medianamente inclinadas.
- Cascos: de volumen proporcionado al cuerpo, duros tensos y sólidos, bien aplomados y negros de preferencia.

8.2 ANÁLISIS SEMINAL

8.2.1 VOLUMEN

Tal cual lo manifiesta Palacios (1994), el volumen de semen filtrado, libre de gel (equino). El volumen oscila entre 20-150 ml (equino). Existen importantes variaciones en función del individuo, raza, régimen sexual, estación del año, método de recogida, etc.

8.2.2 COLOR

Varía desde blanco acuoso a crema en función de la concentración espermática. Coloraciones anormales indicarían contaminaciones: orina, sangre, etc. (González González, 2013)

8.2.3 pH

Según Gómez (2017), la evaluación es inmediatamente después de la recogida seminal (tiras de pH). Entre 7,2-7,6 en equino. Está inversamente relacionado con la concentración espermática. El metabolismo espermático acidifica el medio y presencia de sustancias contaminantes como la orina y procesos inflamatorios le dan valores más altos

8.2.4 CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA

Permite evaluar la capacidad de producción de espermatozoides del semental y calcular el número de dosis a producir por eyaculado. Existe correlación entre la concentración y fertilidad. Se observan variaciones en función del individuo, estación del año, frecuencia y técnica de recogida, etc. si bien la concentración media está entre 60-350 x10⁶ (equino) espermatozoides/ml. (González González, 2013)

8.2.5 MOTILIDAD ESPERMÁTICA

8.2.5.1 *Movimiento total*

El porcentaje de espermatozoides móviles es de (60% a 90%) en equinos, debido a la elevada concentración espermática, se habla de motilidad masal (escala de 1 a 5), evaluando como 1 al semen que no presenta ondas y 5 cuando las ondas se mueven rápidamente formando remolinos (Giraldo, Corréa y Vásquez, 2006).

8.2.5.2 *MOVIMIENTO PROGRESIVO*

Según González (2013), El porcentaje de espermatozoides con trayectoria progresiva en línea recta. El rango posible comprende desde un 40% a un 90%, siendo el valor mínimo aceptable del 50%.

8.2.5.3 *Vigor*

El vigor se evalúa al mismo tiempo que la motilidad individual, teniendo en cuenta la velocidad con la que estos espermatozoides atraviesan el campo. La escala que se utiliza es de 0 a 5 (rangos posibles), evaluando como 0 los espermatozoides inmóviles y como 5 los que avanzan rápidamente por el campo y son difíciles de seguir visualmente. (Giraldo, Corréa y Vásquez, 2006)

8.3 CRIO PRESERVACIÓN

La criopreservación seminal consiste en la congelación y almacenamiento de células germinales a bajas temperaturas con fines reproductivos, siendo una herramienta fundamental en reproducción asistida. La criobiología ha estudiado los efectos de las bajas temperaturas sobre las células germinales y su relación con el tiempo de exposición, generando el conocimiento base para realizar los procesos de criopreservación. En el proceso de congelamiento de células se producen cambios en la estructura y composición de las membranas plasmáticas y de acuerdo a su sensibilidad se delimitara los índices de supervivencia (Jiménez, 2011).

Según Seidel (1996) el principio básico de la criopreservación es la eliminación del agua del espacio intra celular. Es así como la microbiología ha demostrado que los daños y lesiones que se producen en los tejidos durante la crio conservación y los procesos de calentamiento se deben principalmente a tres factores principales:

8.3.1. CHOQUE TÉRMICO

Watson, (2000) refiere que el choque térmico se considera como el factor principal que causa injurias a la célula. El daño en los espermatozoides se relaciona al cambio brusco de temperatura. Demostrándose que el cambio en la temperatura entre los 20 a 5°C conlleva la letalidad de la muestra como consecuencia de la velocidad de enfriamiento, el intervalo de temperatura y el rango de temperatura

8.3.2. ESTRÉS POR LA CRIO PRESERVACIÓN

Durante la crio-preservación en equinos, la célula espermática sufre diferentes procesos de estrés, que podrían conllevar a un desequilibrio osmótico, cambios en la membrana plasmática, daños en la estructura lipídica, deterioro en la membrana mitocondrial y disminución de la respuesta celular a los cambios de osmolaridad. (Wade, 2003)

8.3.3. FORMACIÓN DE CRISTALES

Los descensos de temperatura de -5°C a -10°C, podrían inducir la formación de cristales de hielo en el espacio intra y extracelulares. Ello puede generar cambios en la osmolaridad por la migración del agua al medio extracelular, llevando a una deshidratación y concentración de solutos en la célula. Sin embargo, los resultados pueden ser variantes en función a la curva de congelamiento, es decir al aumentar el ritmo de enfriamiento, el agua intracelular no alcanza a salir y lleva a la formación de cristales, son de menor tamaño a mayor velocidad de congelación (10-20°C/ min). Estos cristales tienden a reagruparse en el proceso de descongelación siendo dañinos para la célula, de manera que el proceso de descongelación debe ser rápido. (Watson, 2000)

8.3.4. DILUYENTE PARA CONGELACIÓN

A criterio de Loomis (2013), el diluyente para congelación generalmente se compone de yema de huevo, detergente aniónico hidrosoluble y humectante para solubilizar las proteínas incluyendo las activas de la yema de huevo, sustancia tampón, electrolitos, antibióticos y glicerol. La cantidad de diluyente que se añade al botón espermático, post centrifugación, depende de la concentración espermática.

Un medio diluyente exitoso en los programas de congelación de semen, se encuentra compuesto por proporciones estandarizadas de agua, iones esenciales, tampones,

macromoléculas, hidratos de carbono, antibióticos y crioprotectores. Favoreciendo la supervivencia y resistencia espermática, al reducir el número de poros de la membrana, las funciones dependientes de ATP, la agregación proteica y la formación de bloques lipídicos. (Palacios, 1994 y Restrepo, 2014)

8.4 MEDIOS DILUYENTES

Los medios diluyentes son componentes que mitigan los efectos negativos del semen congelado y favorecer la viabilidad fisiológica de las células espermáticas en los mecanismos básicos para la criopreservación. Estos diluyentes contienen nutrientes, tampones, antibióticos y un agente crioprotector celular (Palacios, 1994; Wade, 2003). *Los medios diluyentes tienen como funciones: 1) mantener la viabilidad prolongando el tiempo de vida de los espermatozoides; 2) mantener la actividad metabólica y de nutrición; 3) ser reguladores o amortiguadores del pH; 4) proteger del choque térmico al material seminal; 5) aumentar la motilidad espermática; 6) tener un efecto antibiótico para evitar la transmisión de patógenos; 7) incrementar el volumen de la dosis inseminante; 8) mantener una presión osmótica compatible (300 a 400 mOsm); 9) neutralizar productos tóxicos producidos; 10) estabilizar los sistemas enzimáticos y la membrana celular* (Camacho, 2014)

8.4.1. Botucurio®

El Botucurio® es un medio diluyente para congelación de semen equino que combina glicerol-metilformamida como crioprotector y 20 aminoácidos diferentes en el diluyente base. La evaluación in vitro de semen congelado en Botucurio®, sugiere que los parámetros de la motilidad se incrementan en comparación con semen descongelado procesado en los diluyentes que contienen glicerol como único crioprotector. (Samper y García, 2008)

8.5 CÁPSULAS

Según Geocities (2017), una cápsula es una forma farmacéutica sólida en la cual el principio activo ya sea sólido o líquido, se encuentra contenido en un micro recipiente comestible, de forma cilíndrica y redondeada en los extremos o bien en forma esférica. El material con el cual se fabrican generalmente las cápsulas es gelatina y otros excipientes que la hacen más o menos rígida. Existen cápsulas rígidas y cápsulas blandas,

las primeras constan de tapa y cuerpo y las segundas se encuentran constituidas por una sola pieza sellada.

8.5.1. ALMACENAMIENTO DE LAS CÁPSULAS

Se deben tener en cuenta los fenómenos de humedad y temperatura al almacenarlas. La humedad debe estar entre 40 y 42%. A una humedad relativa menor la cápsula se deseca y se vuelve quebradiza; si la humedad relativa es mayor la cápsula se hidrata y reblandece, deformándose. (Geocities, 2017)

8.6 POLÍMERO

A criterio de Meneses y Valencia (2013), los plásticos son materiales poliméricos que se componen de moléculas químicas de gran tamaño en las que se repiten unidades de un compuesto denominado monómero. Los termoestables, por el contrario, son materiales cuya estructura molecular forma una red que no puede desligarse por medio de temperatura y que después de ser formados no pueden modificarse ni reciclarse.

8.6.1. La yuca y su almidón

Es una planta originaria de América del Sur, usada principalmente para el consumo tanto humano como animal, y en un pequeño porcentaje para la obtención de almidón y otros usos industriales. El uso de esta planta se caracteriza por el consumo de su raíz, en la que se acumulan gran cantidad de componentes, entre ellos el almidón, que es la forma natural como la planta almacena energía por asimilación del carbono atmosférico mediante la clorofila presente en las hojas. (Ruiz, 2006)

8.6.2. PROPIEDADES DEL ALMIDÓN

Según Meneses y Valencia (2013) existen varias propiedades que posee el almidón y que determinan la forma en que debe tratarse, según el uso para el que se le requiera..

8.6.3. GELATINIZACIÓN

Se define como la pérdida de la semicristalinidad de los gránulos de almidón en presencia de calor y altas cantidades de agua, con muy poca o ninguna ocurrencia de despolimerización. (Fritz, Seidenstucker, Bolz, y Juza, 1994)

A criterio de Ceballos y De la Cruz, (2002), la gelatinización ocurre en un rango estrecho de temperaturas que varía dependiendo de la fuente del almidón. El almidón de yuca gelatiniza en agua a temperaturas entre los 60 °C y 67 °C, lo que consiste en un hinchamiento de las moléculas de almidón debido a que el agua penetra en su estructura molecular.

La viscosidad aumenta con la temperatura hasta la fragmentación de los gránulos, que se desintegran y se disuelven generando un decrecimiento en la viscosidad. Pero en condiciones de alta concentración de almidón, como suele suceder cuando se pretende obtener un almidón termoplástico, el comportamiento es diferente. Mientras más rigidez haya, se da una mayor resistencia debido al choque entre los gránulos hinchados, lo que genera una alta viscosidad. En estas condiciones, cuanto más calor se adiciona, el agua retenida desintegra la estructura ordenada de los gránulos, y la amilosa comienza a difundirse formando un gel que finalmente soporta los gránulos compuestos ante todo por amilopectina. (Ceballos y De la Cruz, 2002)

8.6.4. TRANSICIÓN VÍTREA

Stevens (2002) menciona que la transición vítrea de un material polimérico se refiere al cambio inducido por el calor sobre las características de un polímero, el cual con el incremento de la temperatura pasa de sólido frágil y quebradizo a flexible. La temperatura a la cual ocurre este fenómeno se conoce como temperatura de transición vítrea, que tiene influencia sobre varias propiedades del polímero, entre las cuales se encuentran la rigidez en las cadenas, entrecruzamiento de cadenas, presencia de cristales, incremento de las secciones amorfas, entre otras.

8.6.5. DESESTRUCTURACIÓN

Segun Ruiz (2006), La desestructuración del almidón nativo consiste en la transformación de los gránulos de almidón cristalino en una matriz homogénea de polímero amorfo, acompañada por un rompimiento de los puentes de hidrógeno entre las moléculas de almidón, de un lado, y la despolimerización parcial de las moléculas, del otro.

El proceso de desestructuración puede generarse por la aplicación de energía al almidón. Los factores químicos y físicos involucrados son temperatura, esfuerzo cortante, como el que genera una máquina tradicional para trabajar plásticos como las extrusoras e inyectoras, tasa de esfuerzo, tiempo de residencia, contenido de agua y cantidad de energía aplicada. (Fritz, Seidenstucker, Bolz, y Juza, 1994)

8.6.6. BIODEGRADABILIDAD

La norma ASTM D 5488-944 define la biodegradabilidad como la capacidad de un material de descomponerse en dióxido de carbono, metano, agua y componentes orgánicos o biomasa, en el cual el mecanismo predominante es la acción enzimática de microorganismos. En general, un polímero es biodegradable si su degradación resulta de la acción natural de microorganismos como bacterias, hongos y algas.

Existen varios factores requeridos para que pueda darse un proceso de biodegradación: presencia de microorganismos, presencia de aire (en caso de que se requiera), humedad y minerales necesarios. Temperatura adecuada dependiendo del tipo de microorganismo (entre 20 °C y 60 °C) y un valor de pH adecuado (entre 5 y 8). (Fritz, Seidenstucker, Bolz, y Juza, 1994)

9. PREGUNTAS CIENTÍFICAS.

- **Ha.** La crio preservación en cápsulas hidrosolubles es eficiente para mantener gametos equinos viables pos congelación.
- **Ho.** La crio preservación en cápsulas hidrosolubles no es eficiente para mantener gametos equinos viables pos congelación.

10. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

10.1 LOCALIZACIÓN Y DURACIÓN DEL PROYECTO

La investigación se llevó a cabo en la provincia de Tungurahua cantón Pelileo (-1,3296448, -78,5910238), en las instalaciones de la hacienda Pachanlica dedicada a la

producción de equinos criollos de la parroquia Benítez con una duración de esta investigación fue 80 días

10.2 UNIDADES EXPERIMENTALES

Para el desarrollo de la presente investigación, se utilizó de semen fresco equino de origen criollo de 5 donantes de 5 años de edad propiedad de la Hacienda Pachanlica perteneciente al cantón Pelileo en la parroquia Salasaca, los cuales se obtuvieron la cantidad de 15 ml de semen a cada uno.

10.3 MATERIALES, EQUIPOS E INSTALACIONES

Para el presente trabajo investigativo se utilizó los siguientes materiales, equipos e instalaciones entre los que tenemos:

- ✓ Laboratorio Puppy Planet
- ✓ Laboratorio de reproducción Animal
- ✓ Vagina artificial de origen artesanal
- ✓ Lubricante KY
- ✓ Bolsas de recolección
- ✓ Tubos de Ensayo
- ✓ Agua
- ✓ Diluyente para semen equino BOTU Turbo
- ✓ Semen Equino 50ml
- ✓ Cápsulas Biodegradables e hidrosolubles 200 unidades
- ✓ Tanque para nitrógeno líquido
- ✓ Nitrógeno líquido
- ✓ Crio consérvate BOTU Crio
- ✓ Gradillas contenedoras para el tanque
- ✓ Gradillas de laboratorio
- ✓ Termómetro de bajas temperaturas
- ✓ Pinzas anatómicas
- ✓ Microscopio
- ✓ Cámara de Neubauer

- ✓ Pipeta regulable
- ✓ Calculadora
- ✓ Vasos de precipitación
- ✓ Libreta de notas
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Couler para transporte
- ✓ Hielos clínicos de gel
- ✓ Guantes clínicos
- ✓ Computadora
- ✓ Impresora
- ✓ Cámara de fotos
- ✓ Libreta
- ✓ Dónante equino de origen criollo de 5 años (5 ejemplares).

10.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

En el diseño experimental se utilizó la comparación físico estructural de la cápsula pos descongelación, la eficacia del crio preservante Botucurio® en el proceso pos descongelación, la valoración cuantitativa y cualitativa de los espermatozoides procesados con relación a los obtenidos previos a la crio conservación usando conteos y valoraciones espermáticas.

10.5 MEDICIONES EXPERIMENTALES

- ✓ Estructura capsular
- ✓ Motilidad en Masa
- ✓ Motilidad Individual
- ✓ Morfología
- ✓ pH
- ✓ Color
- ✓ Concentración por cápsula

10.6 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

- ✓ El proyecto de investigación se enfocó en la selección de diluyentes seminales y crio preservantes.
- ✓ Se procedió a adquirir materiales de laboratorio
- ✓ Se realizó el pedido del Crio preservante y diluyente equino.
- ✓ El 25 de agosto del 2017 se procedió con la elaboración del polímero hidrosoluble
- ✓ Realizamos la separación del almidón de yuca mediante el reposo de la misma en suspensión de agua y posteriormente filtrada por telas finas para atrapar el almidón.
- ✓ Mediante polimerización se logró obtener una estructura gelatinosa moldeable, la misma que se la colocó en un molde de cerámica positivo y negativo de cápsulas y tapas de 50 unidades por tanda.
- ✓ Se desmoldó un total de 200 cápsulas viables estructuralmente y morfológicamente.
- ✓ Después de una semana de reposo se solidificaron en cápsulas semi duras con propiedades hidrosolubles.
- ✓ A raíz de la obtención de las cápsulas se empezó con la selección del diluyente y el crio preservante, de lo cual se optó por el mejor del mercado internacional siendo la serie BOTU Pharma de origen Estado Unidense la seleccionada tanto en el diluyente como en el crio conservante.
- ✓ Posteriormente se empezó con la construcción de una vagina artificial equina artesanal emulando a la vagina modelo colorado de biotay; La misma que fue hecha a partir de un tubo de PVC de 4 pulgadas, tubo de 20 de auto, remaches, válvula de insuflado de auto y ligas elásticas sostenibles.
- ✓ Subsecuentemente a la construcción y a puertas de la llegada del diluyente y el crio preservante se empezó con la selección del donador de semen, el mismo que se encontraba en las instalaciones de la hacienda “Pachanlica” el mismo que contó con la edad de 5 años y gozaba de un perfecto estado de salud.
- ✓ Una vez obtenido todos los materiales para la experimentación se procedió con el calentamiento del macho con ayuda de una yegua en celo propiedad de la hacienda,

- ✓ Mientras esto ocurría se empezó con el armado de la vagina artificial y la preparación del diluyente que fue calentado a 37 grados centígrados a baño maría.
- ✓ Con todo listo se empezó la colecta del semen mediante monta y posterior desviación del pene del donador, se esperó un lapso de 15 minutos hasta sentir el tercer golpe de contracción equina en la cual el macho libero 20 cm de semen.
- ✓ Los mismos que se colocaron en un medio previamente frio a 12 grados centígrados para ser transportados al laboratorio Puppy Planet, donde se procedió a recalentar una muestra de ½ ml en porta objetos para observar sus características macroscópicas previo al embazado y congelado del semen. (La información ampliada sobre estos resultados se encuentran en la TABLA 1 y la figura 1 de los anexos 5 y 6 respectivamente).
- ✓ Posterior a su valoración se procedió a concentrar la carga espermática mediante centrifugación a 300 revoluciones por minuto por un periodo de 2 minutos.
- ✓ Una vez finalizado el proceso de centrifugado se procedió a tomar la muestra sedimentada para llenar las cápsulas con 0.65 ml de semen y colocarlas en tubos, los mismos que se empezaron a colora en gradientes de disminución de temperatura para adecuarlas a la temperatura del nitrógeno.
- ✓ Una vez ya sumergidas en nitrógeno se las coloco en el tanque de nitrógeno par su observación.
- ✓ Una vez trascurrido un lapso de 24 días se procedió a descongelar un numero de 2 cápsulas para su valoración.
- ✓ Descongelamiento y valoración pos congelación
- ✓ Posterior al primer periodo de congelamiento que fuese de 24 días entre toma de muestra se procedió al retiro de dos cápsulas de semen del tanque, con el fin de reunir 1 ml de contenido total para su valoración.
- ✓ Se procedió a colocarlas en tubos contenedores y calentarlos a baño maría a una temperatura de 37 grados centígrados y añadiendo ½ ml de diluyente con el fin de emular las condiciones vaginales.
- ✓ Subsecuentemente se extrajo mediante pipeta el contenido seminal y se lo coloco en la cámara Neubauer para su conteo y cálculo de estimación.

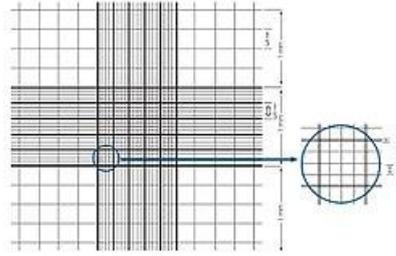


Imagen N° 1 Conteo Celular con Hematocitómetro

Fuente: (OMS, 1992)

- ✓ Se aplicó la siguiente formula.

$$\text{Esp./mm}^3 = (A \times B \times C \times E) / F$$

Fuente: (OMS, 1992)

- ✓ En la cual se la puede expresar de la siguiente manera:

- A: Numero de espermatozoides contados
- B: Tamaño del cuadradito (400mm^2)
- C: Dilución Realizada 0.5 ml
- D: Altura de la cámara (0.1mm)
- E: Se multiplica por 10 para que el resultado quede expresado en 1mm^3
- F: Numero de cuadraditos contados

FUENTE: (OMS, 1992)

- ✓ De la cual se obtuvo los siguientes resultados expresados en la TABLA 2 y TABLA 3.
- ✓ Después de cada valoración se procedió a documentar y anotar los resultados en la Hoja de resultados. (ANEXO 4)

10.7 INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN

- ✓ Registros de valoración (Datos obtenidos en la investigación experimental)

FUENTE: Directa

ELABORADO POR: Juan Francisco Pérez, 2018

11. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Evaluación cápsular

Las cápsulas llenas de semen presentaron una estructura uniforme y un sellado hermético. Dilatándose modificando su forma, pero sin descomponerse ni destruirse. Según Ceballos y De la Cruz (2002) este proceso se lo conoce como gelatinización del polímero en la cual sus moléculas se expanden pero no se destruyen.

La modificación en el empaquetado de semen equino propone una apertura en el estudio de la biotecnología de la reproducción enfocada en nuevas técnicas y procesos de IA en equinos, la misma que contrapone lo propuesto por Mesa (2015), quien sostiene que la reproducción con semen congelado es una alternativa viable dependiendo de la técnica y el proceso de preparación del semen.

Al respecto Jiménez (2011) sostiene que la técnica tradicional de empaquetado de semen en pajuelas de 0.5 ml es la opción más recomendable debido a su fácil producción y transporte. No obstante la cápsula propuesta es de más fácil producción y de similar viabilidad comprueba que la inclusión en nuevas técnicas o modificaciones de empaquetado puede dar como origen nuevas ramas y aplicaciones reproductivas al alterar factores primordiales como las técnicas de IA tradicionales y proponiendo incluso protocolos IATF para futuras investigaciones en equinos o en diferentes especies, acotando a lo mencionado se puede aplicar dicha propuesta a diferentes especies manteniendo su estructura inicial y cambiando su contenido.

Valoración del crio preservante Botucio®

Previo al proceso de crio preservación el fluido seminal presentaba un aspecto acuoso propio del semen con un color blanco grisáceo (Tabla 1), teniendo un pH de 6,9.

El uso de diluyente y crio preservante de buena calidad y renombre en el mercado aportó con la obtención de mejores resultados por su composición rica en aminoácidos en la estabilización y mejoramiento del semen contenido.

El estudio en valoración de crio preservantes equinos propuesto por Restrepo (2014) denota superioridad de Botucio®, a lo cual se concuerda con su estudio.

La evaluación seminal evidenció igualmente una buena motilidad en masa, con vigor de 5, una morfología normal y concentración de 800×10^6 Epz Mm³.

En relación al empaquetado con cápsulas biodegradables e hidrosolubles los resultados obtenidos no coinciden con lo mencionado por Mesa (2015), debido a que el semen

congelado mediante el empaquetamiento cápsular con un polímero hidrosoluble permitió obtener un margen alto de viabilidad (80%) en las muestras. Lo que pudo estar relacionado con el riesgo esperado de ruptura de la cápsula, la cual no sufrió daños estructurales en la crio preservación y mantuvo intacto su contenido.

Evaluación cápsular pos descongelación

La estructuración del contenido seminal se mantuvo estable, prolongando del tiempo de vida de los espermatozoides por más de 2 meses y con variante al estabilizar las muestras en un pH de 7. Al respecto autores como Gómez (2017) refieren que el pH promedio debe estar entre 7,2 a 7,6.

Al retirar las cápsulas del medio criogénico se observó que habían sufrido un cambio en su forma semejante a la deshidratación de una uva sin perder su propiedad estructural y manteniendo el contenido seminal sin fugas y en perfecto estado de congelación.

A partir del día 21 la motilidad en masas fue del 80%, con muy buena movilidad y poca mortalidad espermática (Tabla 2). Se comprobó una disminución del vigor de grado 5 a grado 4, no obstante, mantiene características óptimas para la fecundación.

La estructura se mantuvo normal, similar a la observada previo a la crio preservación. El pH espermático varió con relación a la valoración pre congelación, se presume que fue a causa del diluyente y del crio preservante. Debido a la concentración y el proceso de centrifugación al que fueron sometidos para su concentración el color fue afectado. La concentración fue aumentada con relación a los valores iniciales por consecuencia del proceso de centrifugado. El proceso de crio preservación cápsular mantiene valores espermáticos aceptables para la supervivencia espermática a este punto del experimento evidenciado.

A lo cual aportes de Giraldo, Corréa, & Vásquez (2006) con relación a la valoración espermática pos descongelación deben ser óptima para un proceso de IA.

Debido a ello se discrepa ya que con los parámetros obtenidos en esta fase se es denotable y aceptable la calidad espermática contenida en las cápsulas para procesos de fecundación.

Transcurrido 42 días la motilidad en masa similar a la anterior observación, acotando que con relación a la valoración inicial indicado en la Tabla 1 la valoración es buena, denotando que persiste la viabilidad de las muestras. Se mantiene en vigor 4, dando con ello buenos estándares de supervivencia y valor energético de cada espermatozoide.

Morfológicamente sin variantes desde el anterior análisis de muestras. Se mantiene en un ph de 7 persistente a lo cual se puede acotar que si fue por influencia del crio preservante y del diluyente. Prevalece el color blanco lechoso sin variantes de contraste. Mantenemos una concentración elevada con poca mortalidad (Tabla 3).

Tabla N° 1 VALORACIÓN PRE CONGELACIÓN DEL SEMEN

PARÁMETRO	VALORACIÓN
ASPECTO	Acuoso
COLOR	Blanco Grisáceo
pH	6.9
MOTILIDAD EN MASA	Buena
MOTILIDAD PROPIAMENTE DICHA	Muy Buena (80% – 90 % Cmm)
MOTILIDAD INDIVIDUAL	Vigor 5 (MPRMR)
MORFOLOGÍA	Normal 80%
CONCENTRACIÓN	800x10 ⁶ Epz Mm ³

FUENTE. Directa

ELABORADO POR: Juan Francisco Pérez, 2018

Tabla N° 2 VALORACIÓN POS DESCONGELACIÓN DÍA 21.

PARÁMETRO	VALORACIÓN
ASPECTO	Lechoso
COLOR	Blanco Lechoso
pH	7
MOTILIDAD EN MASA	Buena
MOTILIDAD PROPIAMENTE DICHA	Muy Buena (80% – 90 % Cmm)
MOTILIDAD INDIVIDUAL	Vigor 4 (MPRR)
MORFOLOGÍA	Normal 80%
CONCENTRACIÓN	1000x10 ⁶ Epz Mm ³

FUENTE. Directa

ELABORADO POR: Juan Francisco Pérez, 2018

Acotando que fue un procedimiento rustico y artesanal desde principio a fin.

Tabla N° 3 VALORACIÓN POS DESCONGELACIÓN DÍA 42

PARÁMETRO	VALORACIÓN
ASPECTO	Lechoso
COLOR	Blanco Lechoso
pH	7
MOTILIDAD EN MASA	Buena
MOTILIDAD PROPIAMENTE DICHA	Muy Buena (80% – 90 % Cmm)
MOTILIDAD INDIVIDUAL	Vigor 4 (MPRR)
MORFOLOGÍA	Normal 80%
CONCENTRACIÓN	1000x10 ⁶ Epz Mm ³

FUENTE. Directa

ELABORADO POR: Juan Francisco Pérez, 2018

12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

12.1 Conclusiones

- ✓ La estructura morfológica de la cápsula se mantuvo estable hasta la semana 6 de investigación, corroborando que los polímeros biodegradables son contenedores viables para el semen equino y confirmando su efectividad en la crio preservación.
- ✓ El diluyente Botucurio® fue eficaz con una viabilidad de 80 % de espermatozoides a los 60 días de experimentación.
- ✓ La calidad espermática pos congelación y descongelación fue eficiente hasta los 42 días, periodo final evaluado.

12.2 Recomendaciones

- ✓ Usar medios estériles para el procesamiento cápsular y la centrifugación espermática, ya que puede existir la presencia de agentes biológicos ajenos a la investigación que pueden contaminar la muestra.
- ✓ Seleccionar ejemplares donadores sanos y de preferencia que hayan sido aislados de hembras por un periodo mínimo de 3 días para fomentar su

lívido sexual, tener una mejor calidad de gametos y con ellos una mejor muestra para procesar.

- ✓ Valorar la eficacia de la cápsula en otras especies.
- ✓ Investigar sobre técnicas de inseminación artificial con uso de cápsulas hidrosolubles.
- ✓ Aplicar el contenido seminal desde el fondo de la cápsula ya que con un mínimo contacto con las paredes ya activaría la degradación de la misma y ser eficientes al sellado y pronta congelación para evitar debilidad en las paredes contenedoras de las mismas.
- ✓ Evaluar periodos superiores de los expuestos en la investigación.

13. BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía

- Almeida Sosa, M. R. (8 de Febrero de 2012). TESIS DE GRADO . *Caracterización Zoométrica y Diagnostico de los Sistemas de Producción de Caballos Mestizos de Vaquería en el Cantón Rumiñahui (Bachelor's thesis)*. Riobamba, Chimborazo, Ecuador: ESPOCH.
- american society for testing and materials . (28 de julio de 2004). *Libro Anual de Normas ASTM*. Obtenido de ASTM: <https://www.astm.org/BOOKSTORE/BOS/index.html>
- Camacho, C. (22 de Febrero de 2014). <http://repository.lasalle.edu.co>. Obtenido de <http://repository.lasalle.edu.co>: http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/16983/76111203_2014.pdf?sequence=3
- Ceballos, H., y de la Cruz, G. A. (2002). Taxonomía y morfología de la yuca. *OSPINA, Bernardo y CEBALLOS, Hernán. La yuca en el tercer milenio*, 16-31.
- Fritz, HG, y Generaldirektion Wissenschaft Europäische Kommission. (1994). Estudio sobre producción de termoplásticos y fibras basadas principalmente en materiales biológicos. Comisión Europea, Dirección General XII, Ciencia, Investigación y Desarrollo, División de Investigación Agroindustrial.
- Geocities*. (2 de julio de 2017). Obtenido de Geocities: http://www.geocities.ws/tecno_farma/cápsulas.htm
- Giraldo, N., Correa Villegas, J. E., y Vásquez Araque, N. (2006). Evaluación del efecto de la refrigeración sobre la calidad del semen equino. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 1(2).
- Gómez, C. (15 de Enero de 2013). *invitrosperm.com*. Obtenido de *invitrosperm.com*: <http://invitrosperm.blogspot.com/2013/01/analisis-seminal-equino-y-bovino.html>
- Justac. (3 de Diciembre de 2017). *justacriollo.com*. Obtenido de *justacriollo.com*: http://www.justacriollo.com/pages_es/Criollocaracteristiques_es.htm
- Loomis, P. (2013). *Advanced methods for handling and preparation of stallion*. L.A: Vet Clin N.

- Jiménez, M. S. (2011). *Seminología-2011-D-3-Técnicas de criopreservación seminal*. Madrid : Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular Comisión de Seminología y Técnicas de Reproducción Asistida.
- Meneses , J., Corrales , C., y Valencia , M. (2013). Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. *scielo*.
- Muller. (2011). Tecnicas de la exploracion equina, tratado practico de equinotecnia, normas consideraciones genrales para la explotacion del caballo de carreras y el trabajo. En *Tecnicas de la exploracion equina, tratado practico de equinotecnia, normas consideraciones genrales para la explotacion del caballo de carreras y el trabajo* (págs. 29-157). Buenos Aires, Argentina: Editorial Agro.
- Mesa, p. (2015). Beneficios y ventajas de la inseminación artificial. Bogotá Colombia: Universidad de la Salle.
- OMS. (1992). *Manual de laboratorio de la OMS para exámenes del ser humano y la intetacion entre semen y el moco cervical* . Bogota: Panamericana .
- Palacios, A. (1994). Aspectos fisiológicos acerca del congelamiento de semen. *Vet Mex*, 207 - 210.
- Restrepo, G. (2014). evaluación de los diluyentes para la crio preservación de semen de caballo de la raza criollo colombiana. *Revista La Sallista de investigacion* , 63-70.
- Ruiz , G. (2006). Obtención y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. *Revista Ingeniería y Ciencia Universidad EAFIT.*, 5-28.
- Ruiz, G. (12 de septiembre de 2006). *redalyc*. Obtenido de redalyc: <http://www.redalyc.org/html/835/83520401/>
- Samper, J., y García, A. (29 de septiembre de 2008). *Jurnal of the American College of Radiology*. Obtenido de Jurnal of the American College of Radiology: [http://www.jacr.org/article/S0378-4320\(08\)00312-6/abstract](http://www.jacr.org/article/S0378-4320(08)00312-6/abstract)
- Stevens, E. (2002). Taxonomía y morfología de la yuca. *Princeton University Press*, 238.
- Tylor S, T. P. (2001). Alpaca offspring born after cross species embryo transfer to llama recipients. *Theriogenology*, 401.
- Wade, E. S. (2003). TRANSPORTING GAMETES AND EMBRYOS. En E. S. Wade, *TRANSPORTING GAMETES AND EMBRYOS* (págs. 37 - 40). Brewster, Massachusetts, USA.
- Watson. (20 de Julio de 2000). *publmed*. Obtenido de The causes of reduced fertility with cryopreserved semen: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10844218>

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1285>
- <http://www.redalyc.org/html/3214/321428103005/>
- <https://invitrosperm.blogspot.com/2013/01/analisis-seminal-equino-y-bovino.html>
- <http://www.remedios-naturales.org/como-hacer-pildoras-cápsulas-y-pastillas-medicinales/>
- http://www.geocities.ws/tecno_farma/cápsulas.htm
- http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-12372007000200006yscript=sci_arttextylng=pt
- https://smbb.mx/revista/Revista_2014_2/bioplasticos.pdf
- <https://www.astm.org/>
- http://www.mofaglobal.com/Spanish/s_sub_productyid=25ysid=917yp_id=3
- <https://es.capsulcn.com/gelatin-capsules>
- <https://es.capsulcn.com/manual-encápsuladora/cn-50>
- https://latam.catalent.com/index.php/SoftgelLatam/3?gclid=Cj0KCQjwwevLBR CGARIsAKnAJvfTIHzxsJwMCUgBnlMUCCouLGytoVOUgnSIHDs8eYDrCV wpu3itG9AaAnKnEALw_wcB
- <https://www.imv-technologies.com/nuestras-soluciones/equino/detalle/product/inrafreeze-kit-de-congelation-semence-equine-.html>
- http://www.reprobiotec.com/congel_concentr.html
- <http://botupharma.com.br/produto/botuturbo/>
- http://tarwi.lamolina.edu.pe/~emellisho/IA_archivos/Recoleccion%20y%20evaluacion%20de%20semen%20equino%20.pdf
- <http://nidacon.com/animal-2/botucurio/>
- http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttextpid=S0210-48062008000400010

14. ANEXOS

Anexo N° 1 AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de docente del idioma ingles del Centro de Cultural de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; En forma legal CERTIFICO que: la traducción del resumen del proyecto de investigación al idioma ingles presentado por el Sr. Pérez Villafuerte Juan Francisco de la carrera de Medicina Veterinaria de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y

Recursos Naturales: cuyo título versa “CRIO PRESERVACIÓN DE SEMEN EQUINO”, lo realizo bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del idioma.

Es todo cuanto puedo certificar e honor a la verdad y autorizo a la peticionaria hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimen conveniente.

Latacunga, Febrero, del 2018

Atentamente:

.....

Lic.

DOCENTE DEL CENTRO CULTURAL DE IDIOMAS DE LA UNIVERSIDAD
TÉCNICA DE COTOPAXI

Anexo N° 2 HOJA DE VIDA DEL TUTOR

- **Información personal**

Nombre completo: Edilberto Chacón Marcheco

Cédula: 1756985691

Fecha de nacimiento: 21 de Noviembre de 1974

Edad: 41

Núm. celular:0998994020

E-mail: adncuba@gmail.com / edilberto.chacon@utc.edu.ec



- **Formación académica**

Cuarto nivel: Doctor en Ciencias Veterinarias, PhD

Número de Registro SENESCYT: 8815 R-15-25628

Universidad de Granma, Cuba

Cuarto nivel: Especialista Universitario en la Conservación y Utilización de las Razas de Animales Domésticos Locales en Sistemas de Explotación Tradicionales.

Universidad de Córdoba, España

Tercer nivel: Doctor en Medicina Veterinaria

Número de Registro SENESCYT: 8815 R-15-25382

Universidad de Granma, Cuba

- **Experiencia académica e investigativa**

INVESTIGADOR - ACREDITADO - Investigador Agregado **juanperez12 2** - *REG-INV-16-01558*

- **Publicaciones (revistas indexadas)**

- ✓ El Cerdo Criollo Cubano en la Jurisdicción de Bayamo. Revista Archivo de Zootecnia. 2002. 51(193-194):253-258.

- ✓ Enfoque de Innovación Tecnológica para la conservación del cerdo criollo cubano y sus sistemas de explotación tradicionales. Revista Electrónica de Veterinaria – REDVET. 2004. Vol. 5. No. 4.
- ✓ Sistema de Herramientas para el Diagnóstico de la Producción Porcina no Convencional en la Crianza de Traspatio Familiar. Revista Computadorizada de Producción Porcina. 2007. 14(2): 164-169.
- ✓ Aplicación del método de análisis y diagnóstico participativo para la producción de cerdo criollo cubano en el medio rural del municipio cubano de Bayamo. Revista Computadorizada de Producción Porcina. 2008. 15(2).
- ✓ Caracterización genética de la cabra Criolla Cubana mediante marcadores microsatélites. Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 2010. 44(3):221-226.
- ✓ El ovino y caprino criollo en Cuba: Estudio del efecto de la alimentación en pastoreo sobre diferentes indicadores productivos. Memorias, XXXVI Congreso, Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. PROD04-P. p 430-433.
- ✓ La trashumancia actual de ovino caprino en la provincia de Jaén. Su contribución a la conservación del patrimonio natural y cultural. Memorias, XXXVI Congreso, Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. ECON08-P. p 261-264.
- ✓ Morphological measurements and body indices for Cuban Creole Goats and their crossbreds. Revista Brasileira de Zootecnia. 2011. 40(8):1671-1679.
- ✓ Genetic diversity and relationships among the new world Creole goats assessed by microsatelites markers. Libro Memorias, XI International Conference on Goats. 2012. Session 11: Genetic, Selection, Breeds, Genome-1. G-55.
- ✓ Validación de los estándares raciales de la cabra criolla cubana para su registro internacional. Revista Electrónica de Veterinaria - REDVET, 2012. 13(11):1-8.
- ✓ Estructura y relaciones genéticas del cerdo criollo de Ecuador. REDVET. Vol. 16. No. 7. 2015.
- ✓ Estructura genética y caracterización molecular del cerdo criollo (*Sus scrofa domestica*) de Ecuador, utilizando marcadores microsatélites. Acta Agronómica. Vol. 65, Núm. 3. 2016.
- ✓ Caracterización zoométrica del asno Criollo Cubano (*Equus asinus asinus*), en la provincia Granma, Cuba. REDVET. Volumen 17 N° 3. 2016.
- ✓ Parámetros biométricos del asno Criollo Cubano (*Equus asinus asinus*), en la región oriental de Cuba. REDVET, Vol. 17 N° 10. 2016.

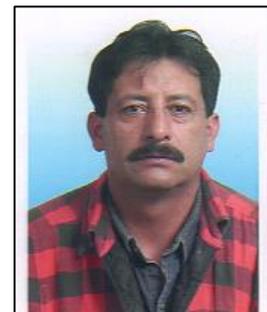
- ✓ Metodología de Diagnóstico Participativo de la Producción de Cerdo Criollo Validada por 10 años en Cuba y Ecuador. Memorias, XVII Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos, Red CONBIAND – Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE. 2017. Argentina. ISBN: 978-987-3619-12-0
 - ✓ Consorcio BIOGOAT: Estudio de la Biodiversidad Caprina Iberoamericana. Memorias, XVII Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos, Red CONBIAND – Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE. 2016. Argentina. ISBN: 978-987-3619-12-0
 - ✓ Genetic diversity and patterns of population structure in Creole goats from the Americas. doi:10.1111/age.12529. Anim Genet. 2017. 48(3):315–329
 - ✓ Respuesta productiva de la oveja Pelibuey en el período de lactancia alimentada con *Leucaena leucocephala*. REDVET, Vol. 18 N° 6. 2017.
- **Libros, capítulos de libros.**
 - ✓ Biodiversidad Ovina Iberoamericana. Caracterización y uso sustentable. Ovino pelibuey cubano. E. Chacón (Colectivo de autores). 1ra Edición. Editorial - UCO. España. Año 2010. 263-273 p.
 - ✓ Biodiversidad Caprina Iberoamericana. La Cabra Criolla Cubana. E. Chacón (Colectivo de autores). 1ra Edición. Editorial Universidad Cooperativa de Colombia. Año 2016. 75-85 p.
 - **Contribuciones a congresos, seminarios, etc.**
 - ❖ 2002. III Simposio Iberoamericano Sobre la Conservación de los Recursos Zoogenéticos Locales y el Desarrollo Rural Sostenible. Uruguay.
 - ❖ 2002. XVIII Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. La Habana, Cuba.
 - ❖ 2004. Taller Provincial de Mejoramiento Genético. Empresa Genética “Manuel Fajardo”. Jiguani, Granma. Cuba.
 - ❖ 2005. III Taller de Crianza Sostenible de Pequeños Rumiantes. Evento Científico AGROJOVEN. Bayamo, Granma. Cuba.
 - ❖ 2006. VII Simposio Iberoamericano sobre la utilización de los Recursos Zoogenéticos. Cochabamba, Bolivia.
 - ❖ 2007. VII Simposio Iberoamericano sobre Conservación y utilización de recursos zoogenéticos”. Quevedo, Ecuador.

- ❖ 2007. I convención Internacional sobre Ganadería Agroecológica y Recursos Fitogenéticos. Sancti Spiritus, Cuba.
 - ❖ 2008. VII Simpósio Brasileiro de Melhoramento Animal, São Carlos, SP, Brasil.
 - ❖ 2008. II Simpósio Brasileiro de Recursos Genéticos. Brasília, Brasil.
 - ❖ 2010. III Congreso Internacional de Producción Animal. La Habana, Cuba.
 - ❖ 2010. Congreso de Agricultura y Ecosistemas Frágiles y Degradados. Bayamo, Cuba.
 - ❖ 2011. XXXVI Congreso Donostia San Sebastián. Congreso De La Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Donostia-San Sebastián, España.
 - ❖ 2011. VI Congreso Nacional de Caprinos y Ovinos. Santa Ana de Coro, Venezuela.
 - ❖ 2012. XI International Conference on Goats. Gran Canaria, España.
 - ❖ 2013. IV Congreso Cubano de Desarrollo Local. Bayamo. Cuba.
 - ❖ 2013. XXIII Reunión de ALPA y IV Congreso Internacional de Producción Animal Tropical. La Habana, Cuba.
 - ❖ 2014. XXIV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. La Habana, Cuba.
 - ❖ 2015. V Congreso Internacional de Producción Animal Tropical 2015. Tropical. La Habana, Cuba.
 - ❖ XVII Simposio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos, Red CONBIAND – Facultad de Ciencias Veterinarias de la UNNE. 2016. Argentina. ISBN: 978-987-3619-12-0.
- **Proyectos de investigación finalizados (Título del proyecto y cargo)**
 - ✓ **RED CYTED-XII-H. Red iberoamericana Sobre la Conservación de la Biodiversidad de los Animales Domésticos Locales para el Desarrollo Rural Sostenible". Iberoamérica. 2000 – 2007. Investigador Participante.**
 - ✓ **Multiplicación del Cuy en sistemas no convencionales.** Universitaria de la Universidad de Granma, Cuba. 2001 a 2003. **Investigador Participante.**
 - ✓ **Conservación y mejora de la cabra criolla cubana como recurso genético. Universidad de Granma - Instituto de Investigaciones Agropecuarias “Jorge Dimitrov” – Empresa de Ganado Menor – Empresa Genética y Cría “Manuel Fajardo”. Cuba. 2008 – 2011. Coordinador del Proyecto.**
 - ✓ **Conservación de los recursos zoogenéticos asnales de cuba, incrementando su valor de uso y el aporte a la producción agropecuaria. Universidad de**

**Granma – Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. Cuba. 2011 – 2016.
Coordinador del Proyecto.**

- ✓ **RED CONBIAND "Asociación Sobre la Conservación de la Biodiversidad de los Animales Domésticos Locales para el Desarrollo Rural Sostenible". Iberoamérica. 2007 – Actualidad. Investigador Participante.**
- ✓ **BIOGOAT. Proyecto Internacional de Biodiversidad Caprina Latinoamericana. Iberoamérica. 2007 – Actualidad. Coordinador Nacional.**

- **Otra experiencia (capacitación relativa a la propuesta)**
 - ❖ 2004. Especialización Sobre la Conservación y Utilización de las Razas de Animales Domésticos Locales en Sistemas de Explotación Tradicionales. Universidad de Córdoba, España.
 - ❖ 2005. Genética Cuantitativa y Aplicada. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.
 - ❖ 2005. Curso de Factibilidad Económica de los Proyectos Agropecuarios. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.
 - ❖ 2009. Curso Genética Molecular. Centro Nacional Sanidad Agropecuaria. La Habana, Cuba.
 - ❖ **2015. Curso Internacional de Producción y Bienestar Animal en Fincas Ganaderas.** La Habana, Cuba.



1.- DATOS PERSONALES

NOMBRES Y APELLIDOS: RAFAEL ALFONSO GARZÓN JARRÍN
CEDULA DE CIUDADANÍA: 0501097224
ESTADO CIVIL: CASADO
DOMICILIO: Salcedo, 24 de mayo y L.A. Martínez SN
NUMEROS TELÉFONICOS: 2729-319 cel. 0999934497
E-MAIL: rafael.garzon@utc.edu.ec

2.- ESTUDIOS REALIZADOS

NIVEL PRIMARIO : Escuela Luis Felipe Chávez.
NIVEL SECUNDARIO: Colegio Simón Rodríguez
NIVEL SUPERIOR : Universidad Central del Ecuador

3.- TITULO

PREGRADO: Dr. En Medicina Veterinaria y Zootecnia
TITULO/GRADO DE POSGRADO : Magister en ciencias de la educación
mención Planeamiento y Administración Educativa.

4.- EXPERIENCIA LABORAL

UTC	2010
Comisión Ecuatoriana de Energía Atómica	1996
Empresa Nacional de semen	1995

5.- CARGOS DESEMPEÑADOS

Docente UTC
Investigador agropecuario
Jefe de laboratorio ENDES
Capacitación en reproducción animal
Jefe de comercialización de Semen ENDES

7.- PONENCIAS

- Morfometria, Agrcentro 2017 Cuba
- Seminario Internacional de Medicina Veterinaria UTC 2015
- Hemoquímica, Agrocentro 2016 Cuba
- Hematología, Agrcentro 2014 Cuba
- Inseminación artificial en cerdos Sangolqui septiembre 2004 .

8.- SEMINARIOS DICTADOS

Reproducción animal ENDES.
Apicultura UTC 2010

PROYECTOS REALIZADOS

Determinación de enfermedades hepáticas en toros de lidia

11.-ARTICULOS PUBLICADOS

- Tiempos de antes fueron mejores 2007
- Determinación de HCG en cerdas 2010
- Tipificación de sangre en alpacas 2011
- Determinación de macro y micro minerales en alpacas 2011
- Elaboración de bloques nutricionales para cuyes 2012
- Hematología del Venado de cola blanca 2016
- Hemoquímica del venado de cola blanca 2017

Anexo N° 4 HOJA DE VIDA DEL ESTUDIANTE



I. DATOS PERSONALES

NOMBRES Y APELLIDOS: Juan Francisco Pérez Villafuerte
DOCUMENTO DE IDENTIDAD: 180418907-2
FECHA DE NACIMIENTO: 24 de abril de 1988
LUGAR DE NACIMIENTO: Ambato
ESTADO CIVIL: Soltero
DIRECCIÓN: Tungurahua, Ambato, Av. Bolivarian y pan de azúcar
TELÉFONO: 0983 127240/ 032849633
E-MAIL: juan.perez2@utc.edu.ec – juanfran2404@gmail.com

II. FORMACIÓN ACADÉMICA

ESTUDIOS PRIMARIOS:

Institución educativa:	Pencionado mixto particular “Eugenio Espejo”
------------------------	--

ESTUDIOS SECUNDARIOS:

Institución educativa:	UNIDAD EDUCATIVA “RUMIÑAHUI”
Bachillerato de Especialidad:	QUIMICO BIOLOGO

ESTUDIOS SUPERIORES:

1	Universidad:	UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI
	Título a Otorgar:	Medico Veterinario

ANEXO N° 5 HOJA DE TOMA DE RESULTADOS DE LABORATORIO

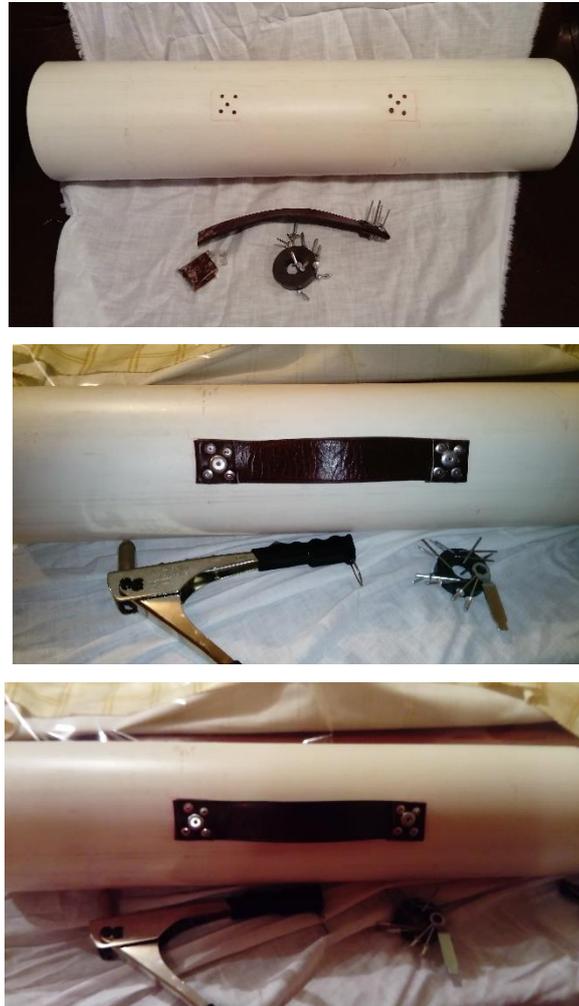
 Universidad Técnica de Cotopaxi			
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA HOJA DE LABORATORIO PARA VALORACIÓN POS DESCONGELACIÓN Fecha :.....			
PARÁMETRO	DETERMINACIÓN		VALOR
ASPECTO	Grumoso	<input type="checkbox"/>	(10)
	Lechosos	<input type="checkbox"/>	(9)
	Acuoso	<input type="checkbox"/>	(8)
	Transparente	<input type="checkbox"/>	(7)
COLOR	Blanco lechoso	<input type="checkbox"/>	(10)
	Blanco grisáceo	<input type="checkbox"/>	(9)
	Blanco	<input type="checkbox"/>	(8)
	Blanco amarillento	<input type="checkbox"/>	(7)
	Otros	<input type="checkbox"/>	(6)
pH	Neutro 7 – 7.2	<input type="checkbox"/>	(10)
	Ácido neutro 6.5 – 6.9	<input type="checkbox"/>	(9)
	Ácido ↓6.5	<input type="checkbox"/>	(8)
	Básico neutro 7.3 – 7.6	<input type="checkbox"/>	(7)
	Básico 8 ↑	<input type="checkbox"/>	(6)
MOTILIDAD EN MASAS	Excelente 100% - 91%	<input type="checkbox"/>	(10)
	Muy buena 90% - 81%	<input type="checkbox"/>	(9)
	Buena 80% - 71%	<input type="checkbox"/>	(8)
	Regular 70% - 69%	<input type="checkbox"/>	(7)
	Deficiente ↓ 60%	<input type="checkbox"/>	(6)
MOTILIDAD INDIVIDUAL	Vigor 5	<input type="checkbox"/>	(10)
	Vigor 4	<input type="checkbox"/>	(9)
	Vigor 3	<input type="checkbox"/>	(8)
	Vigor 2	<input type="checkbox"/>	(7)
	Vigor 1	<input type="checkbox"/>	(6)
MOTILIDAD PROPIAMENTE DICHA	Excelente 100% - 91%	<input type="checkbox"/>	(10)
	Muy buena 90% - 81%	<input type="checkbox"/>	(9)
	Buena 80% - 71%	<input type="checkbox"/>	(8)
	Regular 70% - 69%	<input type="checkbox"/>	(7)
	Deficiente ↓ 60%	<input type="checkbox"/>	(6)
MORFOLOGÍA	Normal	<input type="checkbox"/>	(10)
	Anormal	<input type="checkbox"/>	(5)
CONCENTRACIÓN	(_____)		

FUENTE. Directa

ELABORADO POR: Juan Francisco Pérez, 2018

Anexo N° 6 IMÁGENES

Imagen N° 2 Construcción de la vagina artificial



Proceso de elaboración artesanal a base de un tubo de PVC, Remaches, Tira de cuero, Boya de de neumático rin 20

Imagen N° 3 Armado de la vagina artificial



Se procedió con la introducción de la boya de neumático dentro del tubo de PVC, se la doblo en los límites y se colocaron tiras de caucho para asegurar un extremo, posteriormente se introdujo la funda que sirvió como preservativo, se la lleno con agua a 40grados centígrados, se cello por completo y se el insufló aire, se colocó el recolector y por último se lubrico la entrada de la vagina con lubricante KY.

Imagen N° 4 Recolección de semen



Se preparó a ña yegua en celo y se le coloco medios de contención física, posteriormente al semental se lo calentó junto a la yegua para liberar su lívido sexual, una vez desenvainado el pene se procedió a desviarlos y colocarlo dentro de la vagina para su recolección.

Imagen N° 5 Proceso de centrifugado, llenado y congelación



Proceso de centrifugado, congelamiento, descongelamiento y valoración espermática .