



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

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

TEMA

**“EFECTO DE LA ADICIÓN DE UN SURFACTANTE NATURAL (*ALOE
VERA*) AL DILUYENTE TRILADYL® PARA CRIOCONSERVACION DE
SEMEN BOVINO EN TOROS REPRODUCTORES DE AGSO-GENES,
QUITO-PICHINCHA”**

AUTOR:

Walter David Espinosa Vargas

DIRECTOR:

Dra. Nancy Cueva

Latacunga, 2012

DEDICATORIA

La concepción de este proyecto está dedicada a mis padres, pilares fundamentales en mi vida. Especialmente para mi querida madre María Leticia, ya que sin ella jamás hubiese podido conseguir lo que hasta ahora he alcanzado. Su tenacidad y lucha insaciable han sido el gran ejemplo a seguir y destacar, no solo para mí, sino para mi hermano Darwin Wladimir a quien también dedico este logro. A mi esposa Liliana, compañera inseparable de cada jornada, a mi querido hijo Juan David. Ellos representaron gran esfuerzo y tesón en momentos de decline y cansancio. A ellos este proyecto, que sin ellos, no hubiese podido ser.

Walter David Espinosa Vargas

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a Dios por haberme guiado por el camino de la felicidad hasta ahora; en segundo lugar a mis tíos que son parte de mi familia, a mi tío Hernán Vargas y a su esposa Nancy, mi segunda madre Gloria Vargas y mi padrino David Nieto por siempre haberme dado su fuerza y apoyo incondicional que me han ayudado y llevado hasta donde estoy ahora. Por eso este triunfo es de ustedes, para ustedes y por ustedes.

Un agradecimiento especial al Dr. Juan Vargas por el gran apoyo recibido tanto en lo académico como en lo espiritual, ya que sin sus enseñanzas y consejos no estuviera en este instante en donde estoy. Dr. Juan puedo decir que gracias a usted estoy apto para enfrentarme al mundo profesional sin ningún temor.

Walter David Espinosa Vargas

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de este Proyecto de Tesis, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual del mismo a la "UNIVERSIDAD TECNICA DE COTOPAXI".

Walter David Espinosa Vargas

CARTA DE APROBACION DEL DIRECTOR DE TESIS

En calidad de Director de Tesis de Grado titulada, **“EFECTO DE LA ADICION DE UN SURFACTANTE NATURAL (ALOE VERA) AL DILUYENTE TRILADYL® PARA CRIOCONSERVACION DE SEMEN BOVINO EN TOROS REPRODUCTORES DE AGSO-GENES, QUITO-PICHINCHA”**, presentada por el estudiante Espinosa Vargas Walter David como requisito a la obtención del grado de Médico Veterinario Zootecnista, de acuerdo con el Reglamento de Títulos y Grados, considero que el trabajo mencionado reúne los requisitos y meritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del Tribunal Examinador que designe.

Dra. Nancy Cueva.

CARTA DE APROBACIONMIEMBROS DEL TRIBUNAL

En calidad de Miembros del Tribunal de la Tesis de Grado titulada, **“EFECTO DE LA ADICION DE UN SURFACTANTE NATURAL (ALOE VERA) AL DILUYENTE TRILADYL® PARA CRIOCONSERVACION DE SEMEN BOVINO EN TOROS REPRODUCTORES DE AGSO-GENES, QUITO-PICHINCHA”**, presentada por el estudiante Espinosa Vargas Walter David como requisito a la obtención del grado de Médico Veterinario Zootecnista, de acuerdo con el Reglamento de Títulos y Grados, consideramos que el trabajo mencionado reúne los requisitos y meritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del Tribunal Examinador que designe.

Dr. Víctor Pallango
PRESIDENTE

Dr. Edwin Pino
MIEMBRO

Dr. Cristian Arcos
OPOSITOR

Dr. Juan Vargas
PROFESIONAL EXTERNO

INDICE

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
1.1. Anatomía y fisiología del aparato reproductor del toro.....	4
1.2. Evaluación reproductiva y fisiológica del semental bovino.....	11
1.2.1.1 Ciclo sexual del macho.....	11
1.2.1.2 Producción espermática y plasma seminal.....	12
- Espermatogénesis.....	12
- Espermatozoides.....	14
- Semen y plasma seminal.....	16
1.2.2. Evaluación del toro reproductor.....	17
1.2.2.1 Identificación e Historia.....	18
1.2.2.2 Descripción, reseña sumario de ascendencia y descendencia.....	19
1.2.2.3 Examen clínico y físico general.....	19
1.3. Colecta y valoración del semen bovino.....	24
1.3.1.- Evaluación seminal.....	24
1.3.2.- a. Método de colecta de semen	25
1.3.2.1.- Colección de semen por vagina artificial.....	25
1.3.3.- Valoración del semen.....	26
1.3.3.1 Examen macroscópico.....	27
§ Apariencia.....	27
7	
§ Volumen.....	27
§ pH.....	28

1.3. 3. 2 Examen microscópico.....	28
§ Motilidad.....	29
§ Concentración.....	30
§ Morfología celular.....	30
§ Prueba de hipoosmosis.....	31
§ Test de resistencia osmótica.....	32
§ Test de termoresistencia.....	33
§ Porcentaje de espermatozoides vivos y muertos.....	34
1.4. Dilución y conservación del semen.....	34
a. Diluyentes.....	35
1.4.1 Clases de diluyentes.....	35
1.4.1.1 Requisitos de los diluyentes	35
1.4.1.2 Diluyentes para congelación.....	36
1.4.1.3 Diluyentes utilizados en Ecuador.....	37
1.4.1.4 Diluyente de la investigación.....	38
1.4.2 Métodos de dilución seminal.....	39
1.4.2.1 Concentración espermática.....	39
1.4.3 Congelación de semen.....	40
1.4.4 Descongelamiento de semen.....	41
1.5 Aloe vera.....	42
1.5.1 Características.....	42
1.5.2 Componentes y beneficios.....	43
1.5.3 Saponinas.....	44

1.6 Surfactante efecto en la integridad del espermatozoide.....	44
---	----

CAPITULO II

MATERIALES Y METODOS.....	47
2.1 Ubicación.....	47
2.2 Materiales.....	47
Animales.....	47
Diluyentes.....	47
Surfactante natural.....	47
Implementos para la preparación del diluyente.....	47
Implementos colección de semen.....	48
Material para análisis macro y microscópico del semen.....	48
Material para la congelación del semen.....	49
Varios.....	49
2.3 Métodos.....	50
1.- Evaluación del toro semental.....	51
2.- Evaluación seminal.....	51
3.- Examen microscópico del semen.....	52
a. Motilidad masal.....	52
b. Motilidad individual.....	53
c. Contaje espermático.....	53
d. Morfología.....	54
e). Test de hipoosmosis (HOST).....	55
f). Test de resistencia osmótica.....	55
3.- Diluyente, surfactante y congelación.....	56

a. composición del diluyente Triladyl.....	56
b. Preparación del diluyente Triladyl.....	56
c. Preparación del surfactante natural (aloe vera).....	57
d. Dilución y preparación del semen con diluyente Triladyl.....	57
e. Calculo de dosis y dilución final.	58
f. Llenado y sellado de pajuelas.....	59
f. congelamiento y almacenamiento en nitrógeno liquido	59
4.- Evaluación de la calidad seminal post descongelación.....	60
a. Contaje de espermatozoides vivos – muertos y anormales.....	60
b. Test de hipoosmosis a la cero horas post descongelación.....	60
c. Test de resistencia osmótica ORT.....	61
d. Test de termoresistencia.....	61

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	62
CONCLUSIONES.....	92
RECOMENDACIONES.....	94
BIBLIOGRAFIA.....	95
ANEXOS.....	101

Gráficos e Imágenes.

INDICE DE CUADROS

CUADRO 1.- Inicio de la producción de espermatozoides en bovinos.....	pg 11
CUADRO 2.- Contorno escrotal en relación a la edad.....	pg 17
CUADRO 3.- Valoración de la motilidad en masa espermática.....	pg 28
CUADRO 4.- Clasificación en función del grado de reacción en la cola.....	pg 31
CUADRO 5.- Diluyente yema citrato.....	pg 36
CUADRO 6.- Diluyente Andromed.....	pg 36
CUADRO 7.- Diluyente Triladyl.....	pg 37
CUADRO 8.- Principales componentes del aloe vera.....	pg 42
CUADRO 9.- Tabla del espermiodensímetro bovino.....	pg 42

INDICE DE CUADROS DE RESULTADOS

CUADRO 1.- Características espermáticas antes de la congelación.

CUADRO 2.- Espermiograma y pruebas de HOST y ORT previa congelación.

CUADRO 3.- Motilidad espermática individual del semen diluido.

CUADRO 4.- Comparación de los resultados de Motilidad Individual en semen diluido en los 4 tratamientos.

CUADRO 5.- Espermatozoides vivos antes de la congelación

CUADRO 6.- Motilidad espermática individual post descongelación

CUADRO 7.- Espermatozoides normales post descongelación

CUADRO 8.- Porcentaje de espermatozoides con anomalías primarias y secundarias post descongelación

CUADRO 9.- Espermatozoides vivos post descongelación.

CUADRO 10.- Pruebas de HOST Y ORT post descongelación para los cuatro tratamientos en estudio.

CUADRO 11.- Test de Termoresistencia para la motilidad progresiva post descongelación

Cuadro 12.- Test de Termoresistencia para la motilidad progresiva a las 2 horas post descongelación

Cuadro 13.- Análisis de Varianza para la variable motilidad individual de semen diluido.

Cuadro 14.- Prueba de DUNCAN al 5% para los tratamientos en la variable motilidad individual para semen diluido antes de la congelación.

Cuadro 15.- Análisis de varianza para la variable motilidad individual de semen post descongelado.

Cuadro 16.- Prueba de DUNCAN al 5% para los tratamientos en la variable motilidad individual para semen post descongelado.

Cuadro 17.- Análisis de varianza para la variable porcentaje de espermatozoides normales post descongelación.

Cuadro 18.- Prueba de DUNCAN al 5% para los tratamientos en la variable motilidad individual para semen post descongelado.

Cuadro 19.- Análisis de varianza para la variable porcentaje de espermatozoides vivos post descongelación.

Cuadro 20.- Prueba de DUNCAN al 5% para los tratamientos en la variable porcentajes de espermatozoides vivos post descongelación.

Cuadro 21.- Análisis de varianza para la variable HOST a las cero horas pos descongelación.

Cuadro 22.- Prueba de DUNCAN al 5% para la variable HOST a las cero horas pos descongelación.

Cuadro 23.- Análisis de varianza para la variable ORT a las cero horas pos descongelación.

Cuadro 24.- Prueba de DUNCAN al 5% para la variable ORT a las cero horas pos descongelación.

LISTA DE GRAFICOS DE PORCENTAJES

GRAFICO 1.- Porcentaje de motilidad individual comparación entre los cuatro tratamientos (Triladyl + aloe vera al 10%, 15%, 25% y Tratamiento testigo), para semen diluido.

GRAFICO 2.- Porcentaje de espermatozoides vivos antes de la congelación comparación entre los cuatro tratamientos en estudio.

GRAFICO 3.- Porcentaje de motilidad espermática individual post descongelación, comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.

GRAFICO 4.- Porcentaje de espermatozoides normales post descongelación comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.

GRAFICO 5.- Porcentaje de espermatozoides anormales post descongelación comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.

GRAFICO 6.- Porcentaje de espermatozoides vivos post descongelación, comparación entre los cuatro tratamientos en estudio.

GRAFICO 7.- Porcentaje de HOST para espermatozoides post descongelación, comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.

GRAFICO 8.- Porcentaje de HOST para espermatozoides post descongelación, comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.

GRAFICO 9.- Porcentaje de termoresistencia para espermatozoides post descongelación, comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.

LISTA DE ANEXOS

- ANEXO 1.-** Evaluación de semen fresco
- ANEXO 2.-** Evaluación de semen fresco
- ANEXO 3.-** Evaluación de semen fresco
- ANEXO 4.-** Evaluación de semen fresco
- ANEXO 5.-** Evaluación de semen fresco
- ANEXO 6.-** Espermiograma de semen fresco
- ANEXO 7.-** Espermiograma de semen fresco
- ANEXO 8.-** Espermiograma de semen fresco
- ANEXO 9.-** Espermiograma de semen fresco
- ANEXO 10.-** Espermiograma de semen fresco
- ANEXO 11.-** Formulario de procesamiento de semen
- ANEXO 12.-** Total procesamiento de semen
- ANEXO 13.-** Examen del potencial reproductivo del macho
- ANEXO 14.-** Examen del potencial reproductivo del macho
- ANEXO 15.-** Examen del potencial reproductivo del macho

LISTA DE IMÁGENES

IMAGEN 1.- Elaboración del diluyente Triladyl, Laboratorio AGSO-GENES 2011

IMAGEN 2.- Colecta del semental “PERICO”, AGSO-GENES 2011”

IMAGEN 3.- Última colecta toro “PERICO” AGSO-GENES 2011

IMAGEN 4.- Determinación espermática toro PERICO a través del spermiodensímetro, AGSO-GENES 2011.

IMAGEN 5.- Adición del aloe vera al diluyente Triladyl

IMAGEN 6.- Valoraciones microscópicas del semen diluido de las muestras procesadas.

IMAGEN 7.- Toro “ANGELINO-RED” AGSO-GENES 2011.

IMAGEN 8.- Colecta toro “INQUIETO”.

IMAGEN 9.- Valoraciones microscópicas del semen post descongelación de las muestras procesadas.

IMAGEN 10.- Tratamientos de Triladyl mas aloe vera en las tres concentraciones antes y después de la dilución final.

IMAGEN 11.- Envasado y sellado de pajuelas.

IMAGEN 12.- Lotes listos para congelación

IMAGEN 13.- Congelación varios lotes.

IMAGEN 14.- Visita presidente de tribunal UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI, 28 de Octubre de 2011

RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo en los laboratorios del Centro de Desarrollo Genético de la Asociación de Ganaderos de la Sierra y Oriente, ubicado en la ciudad de Quito.

El objetivo principal de dicho estudio fue evaluar el efecto de la adición de un surfactante natural (aloe vera) al diluyente Triladyl, comparándolo en tres diferentes concentraciones, lo que permitirá establecer si el aloe vera disminuiría la mortalidad y mejoraría la motilidad espermática antes y después del congelamiento en nitrógeno líquido.

Para evaluarlo se utilizó técnicas de valoración seminal, tanto del semen fresco como después de congelarlo, evaluando parámetros como motilidad en masa e individual, porcentaje de espermatozoides vivos y muertos, anormalidades primarias y secundarias y finalmente pruebas de integridad del acrosoma HOST y ORT.

El diluyente utilizado en la investigación fue Triladyl y el surfactante natural fue el aloe vera, se utilizó las mismas condiciones de asepsia tanto al elaborar el diluyente como al procesar el aloe vera hasta alcanzar las concentraciones necesarias para la investigación.

Se utilizó tres machos, el primero de raza Pizán con una edad de 1 año y medio y dos toros raza HolsteinFriesian de 3 años de edad, quienes fueron sometidos a un examen físico y clínico encontrándose en perfecto estado de salud, el semen fue colectado por el método de vagina artificial cada 15 días se procesó las muestras solamente si eran consideradas aptas hasta completar 5 coletas, se calificó el semen fresco, posteriormente se diluyeron las muestras de acuerdo a la concentración de espermatozoides del eyaculado en las tres concentraciones del aloe vera propuestas y un grupo sin aditivo, se congeló la producción de las tres concentraciones y del grupo control y se evaluó las muestras post descongelación.

El análisis estadístico de medidas de tendencias central y variación partiendo del semen fresco dieron como resultado valores de las características espermáticas que permitieron iniciar el procesamiento y congelación seminal en los cuatro tratamientos (10, 15, 25 % aloe vera y sin aloe vera), con una calidad dada

por una diferencia significativa del semen del toro con los valores requeridos para este proceso, facilitando el análisis y evaluación post descongelación.

Los resultados estadísticos demuestran que la motilidad individual, viabilidad espermática, espermatozoides normales, pruebas de integridad del acrosoma HOST y ORT no presenta diferencias significativas entre los tratamientos al 10 y 15 % y T4 (sin aloe vera), pero en la concentración de aloe vera al 25% es superado ampliamente por las primeras concentraciones.

Aplicando la prueba de Duncan al 5% para determinar que tratamiento es el mejor de los tres niveles de aloe vera y del tratamiento sin aloe vera, encontramos que T4 el tratamiento que no tuvo aloe vera fue el mejor seguido de Triladyl + aloe vera al 10%, en tercer lugar Triladyl + aloe vera al 15%, y en último puesto Triladyl + aloe vera al 25%, concluyendo que la adición de un surfactante natural al diluyente Triladyl no aumento la motilidad espermática antes y después de la crioconservación en semen bovino.

Los costos de producción por pajuela indicaron que el diluyente Triladyl sin ninguna concentración de aloe vera es más costoso ya que el análisis determino que cada pajuela procesada con Triladyl sin aloe vera cuesta 0,67 ctvs., mientras que T1 y T2 (Triladyl mas aloe vera al 10 y 15%) fueron más económicos con costos de 0.63 ctvs. Para T1 y 0,66 ctvs. Para T2. Todo esto debido a que se obtuvieron más pajuelas al aumentar el volumen del diluyente con el aloe vera, pero T3 alcanzo un costo de 1,12 dólares por dosis efecto de su alta concentración lo que dificulto su envasamiento.

SUMMARY

This research was carried out in the laboratories of the Center for Genetic Development Cattleman's Association of the Sierra and East, located in the city of Quito.

The main objective of this study was to evaluate the effect of the addition of a natural surfactant (aloe vera) Triladyl the diluent, compared at three different concentrations, which allowed us to establish if the aloe vera reduces mortality and improve sperm motility before and after freezing in liquid nitrogen.

Was used to evaluate seminal evaluation techniques, both fresh semen and after freezing, evaluating parameters such as mass and individual motility, percentage of live and dead sperm abnormalities integrity tests HOSTORT.

The diluent used in the investigation was Triladyl and natural surfactant was the aloe vera, we used the same condition when preparing the aseptic diluent such as aloe vera processing to concentrations needed for research

Three animals were used, the first race Pizan with an age of 1 year and a half and two Holstein Friesian bulls from 3 years of age who under went examination and is in excellent clinical condition, the semen was collected by the method of artificial vagina every 15 days only if the process samples were considered suitable to complete 5 pig tails, fresh semen was scored, then the samples were diluted according to the concentration of ejaculated sperm the three concentrations of aloe vera proposals and a group, frozen the production of the three concentrations and the control group and samples were evaluated after thawing.

Statistical analysis of measures of central tendency and variation the basis of fresh semen resulted in values of sperm characteristics that allowed to start process and freezing semen in the three concentrations (10, 15, 25% aloe vera), with a quality given significant difference of bull semen with the values required for this process, facilitating the analysis and evaluation after thawing.

The statistical results demonstrate that the individual motility, spermatic viability, normal sperms, tests of integrity of the acrosoma HOST and ORT don't present significant differences among the treatments to the 10 and 15% and T4 (without aloe vera), but in the concentration of aloe vera to 25% is overcome thoroughly by the first concentrations.

Applying the test from Duncan to 5% to determine that treatment is the best in the three levels of aloe vera and of the treatment without aloe vera, we find that T4 the treatment that didn't have aloe vera was the better followed by Triladyl + aloe vera to 10%, in third place Triladyl + aloe vera to 15%, and in I finish on Triladyl + aloe vera to 25%, concluding that the addition of a natural surfactant to the diluter Triladyl doesn't increase the spermatic motility before and after the crioconservación in bovine semen.

The production costs for Semen straws indicated that the diluter Triladyl without any concentration of aloe vera is more expensive since the analysis determines that each Semen strawsprocessed with Triladyl without aloe vera costs 0,67ctvs., while T1 and T2 (Triladyl but aloe vera to the 10 and 15%) they were more economic with costs of 0.63ctvs. For T1 and 0,66ctvs.For T2. All this because they were obtained but Semen straws when increasing the volume of the diluter with the aloe vera, but T3 reaches a cost of 1,12 dollars for dose effect of its high concentration what I hinder itsfilled.

INTRODUCCIÓN

La gran ventaja de la inseminación artificial es el aprovechamiento del potencial genético de reproductores de excelentes características para diseminar estas cualidades en pos de mejorar la genética. Durante muchos años especialmente en el siglo anterior se desarrollaron sistemas de colecta y procesamiento de semen bovino, así mismo se han tecnificado los protocolos de inseminación en condiciones comerciales. En el Ecuador la Inseminación artificial bovina no es una técnica ajena y en los últimos años su uso y tecnificación ha mejorado significativamente.

De todos los factores que intervienen en el procesamiento de semen bovino como: valoración del semental, colecta, examen macroscópico del eyaculado y microscópico de espermatozoides, dilución semen diluyente y congelación estos dos últimos de vital importancia ya que es aquí en donde ocurre la mayor mortalidad espermática lo cual significaría dosis seminales de mala calidad y por ende disminuiría la tasa de preñez al inseminar con semen defectuoso.

La utilización del diluyente seminal bovino significo un importante adelanto para la inseminación artificial ya que a través del diluyente se pudo aprovechar un mayor número de espermatozoides por dosis, la glicerina fue también el pilar de la inseminación artificial pero para la conservación, ya que la glicerina forma una capa protectora alrededor de los espermatozoides que los hacen resistentes a la congelación en nitrógeno líquido. Esta simbiosis diluyente-glicerina es la base para la crioconservación y que con el paso del tiempo y las investigaciones han logrado combinar en un mismo producto comercial estos dos elementos.

La mortalidad espermática antes y después de la congelación en nitrógeno líquido es el gran problema que todavía afecta a los centros productores de semen bovino, ya que la deshidratación que sufre el espermatozoide es un daño irreversible. El diluyente Triladyl que es el producto comercial más utilizado para procesar semen bovino ha sido también objeto de muchas investigaciones.

Una de esos estudios ha sido el uso de surfactantes o tensoactivos que disminuyen la mortalidad, pero estos productos son químicos y las tendencias actuales es lograr productos lo mas naturales posibles y el Aloe Vera cumple con las características de un surfactante pero natural.

Por eso el propósito de este trabajo está dirigido a valorar el efecto del aloe vera como un surfactante natural, para así poder idealmente disminuir la mortalidad antes y después del congelamiento; aumentando la fertilidad por dosis seminal al lograr un producto con mayor número de espermatozoides viables capaces de fecundar, disminuyendo el costo de la inseminación artificial al utilizar menos pajuelas por vaca.

OBJETIVOS

OBJETIVOS GENERALES.

- Evaluar el efecto de la adición de un surfactante natural (*aloe vera*) al diluyente TRILADYL para crio-conservación de semen bovino.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Disminuir la mortalidad de espermatozoides antes y después de la congelación en nitrógeno líquido.
- Valorar los cambios morfológicos de los espermatozoides en presencia de un surfactante natural (*aloe vera*).

CAPITULO I

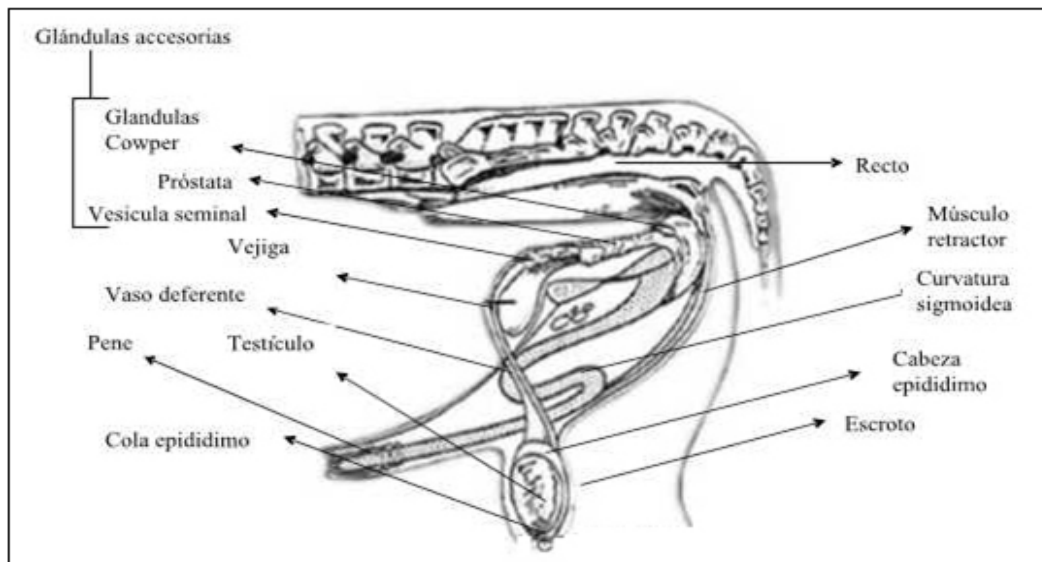
REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 ANATOMIA DEL APARATO REPRODUCTOR MASCULINO

1.1.1 GENERALIDADES

Los órganos reproductivos del macho de los animales domésticos comprenden de testículos, epidídimos, conductos deferentes, glándulas accesorias, y órganos de evacuación del semen.

Figura 1: Anatomía del aparato reproductor bovino.



Fuente: Hafez 2001

1.1.2 TESTÍCULOS

En el bovino los testículos están colocados en la región inguinal, en posición vertical. Presentan una forma oval, bastante alargada, de alrededor de 10 a 15 cm de largo y 5 a 8,5 cm de diámetro. Su peso se estima individualmente en 250a 300 g y en conjunto unos 500 g. El tamaño del testículo depende de la edad, de la raza y del desarrollo corporal. Se estima aproximadamente en un 0,09% del peso vivo del animal. Su eje longitudinal es vertical *Rutter, B. (2006)*.

Las funciones del testículo pueden resumirse en:

- a) Producción de espermatozoides o espermatogénesis
- b) Producción de andrógenos

En los animales mamíferos, escroto se ubica entre los muslos y encierra a los testículos. Debido a su inserción pendulosa sirve para mantener a los mismos a varios centígrados menos que la temperatura corporal. Si no fuese así, la alta temperatura abdominal alteraría la espermatogénesis, y volvería al animal temporariamente subfétil. *Salisbury y Vandermark, (2002)*.

La superficie testicular está recubierta por una fina lámina, la túnica vaginal propia. Ésta se extiende por encima de una capa fibrosa llamada túnica albugínea, que envuelve todo el parénquima testicular y es la responsable de su forma ovoidea que lo caracteriza. El parénquima testicular está contenido dentro de esta fuerte cápsula y presenta una turgencia que se aprecia a la palpación. *Camacho (2000)*

Esta turgencia se debe en parte a fibras de musculatura lisa, que en escasa cantidad aparecen dentro del tejido fibroso de la túnica albugínea. Una parte de esta última se hunde hacia el centro del parénquima del órgano formando una cinta de tejido conjuntivo esponjoso, el mediastino testicular. Desde éste irradian periféricamente los tabiques que lo dividen en lóbulos, que en el caso del toro no están completamente formados, pero que en otras especies animales son muy desarrollados. *Hafez (2001)*

El parénquima testicular está formado principalmente por los túbulos seminíferos (90% del órgano). Estos son convolutados, cilíndricos, y están estrechamente unidos de manera tal que dejan entre sí sólo pequeños espacios de tejido intersticial. Se anastomosan hacia el centro y se tornan rectos, y luego se anastomosan formando una red (rete testis) a partir de la cual emergen los conductos eferentes atravesando la túnica albugínea. Se reúnen en un número de 10 a 15 y dan lugar de esta manera al epidídimo. *Galina Carlos. (2008)*

En un corte transversal del túbulo seminífero podrá observarse, desde la pared hacia la luz de los mismos, una membrana basal, rodeada de células mioideas, que actúa a modo de barrera hemato-testicular; las células de sostén o Células de Sertoli y las células germinales en sus distintos estadios, ubicadas entre los citoplasmas de las anteriores. Las espermátides y los espermatozoides se ubican con sus colas hacia la luz de los túbulos. *Galina Carlos. (2008)*

Las células de Sertoli poseen el citoplasma extendido, de forma piramidal, y sostienen el epitelio germinativo constituyendo el armazón del túbulo seminífero. Descansan sobre la membrana basal y se adosan unas a otras por especializados complejos de unión que se localizan en la porción basal. Las células de Sertoli, tienen sus funciones de sostén, son necesarias para la nutrición de las células germinales a medida que se desplazan desde la membrana basal hacia la luz del túbulo. *Gustavo. A. Palma (2001)*

Los espacios intersticiales contienen vasos sanguíneos y linfáticos, ramas de nervios y células de Leydig. Éstas son las responsables de la producción de testosterona, la cual es secretada activamente desde la vida fetal, cayendo a niveles muy bajos o bien cesando al momento del nacimiento para reanudarse nuevamente a los 4 o 5 meses de edad de los animales. A los 24 meses de edad los testículos estarán en un 90% de su tamaño de animal adulto en toros *Bos taurus* bien alimentados *Russo, Ángel. (2006.)*

1.1.3 CONTROL DE LA TEMPERATURA

El flujo arterial es enfriado a medida que desciende por el cordón espermático por numerosas venas pequeñas, las que en su conjunto forman el llamado “Plexo Pampiniforme”. Una vez que la arteria penetra en el testículo, corre a lo largo de su borde posterior hasta alcanzar el polo caudal del mismo. Desde allí se dirige hacia el borde posterior y comienza a ramificarse; las pequeñas arterias penetran en el parénquima del órgano y alcanzan el mediastino testicular. *Martínez (2006)*

De esta manera, el cordón espermático actúa como refrigerante, intercambiando temperatura en la forma de un verdadero mecanismo de contracorriente.

1.1.4 EPIDÍDIMO

Consiste en un único, largo y compacto tubo arrollado, con un soporte de elementos de tejido conjuntivo que lo fija al testículo. Presenta un diámetro que varía entre 70 y 500 μm ; Su peso es diverso en función de las grandes diferencias existentes entre los tamaños de los animales, siendo de 1 gr en el ratón, 4 gr en el hombre y 20 a 30 gr en el carnero. Con respecto a su longitud es de 2 m en el cobayo, 7 m en el hombre, 40 m en el toro, 50 a 60 m en el carnero y 80 m en el padrillo. (Hafez 2001)

Convencionalmente está dividido en tres regiones:

- Cabeza: ubicada en el polo proximal del testículo y formada por 13 a 15 conductos eferentes.
- Cuerpo: corre por el borde medial y posterior del testículo.
- Cola: situada en el polo distal del mismo y almacena una importante cantidad de espermatozoides.

Los conductos eferentes y el canal epididimario están completamente rodeados por fibras musculares lisas circulares que se engruesan a nivel de la cola y comprenden también fibras longitudinales del mismo tipo. Esta musculatura presenta contracciones peristálticas regulares cada 2-10 segundos que aseguran el transporte de los EZ en el epidídimo. Galina Carlos. (2008)

Las funciones epididimarias, cuenta entre ellas el transporte, la sobrevivencia y la maduración funcional de los EZ. Los cambios en la maduración incluyen:

- Adquisición de la capacidad de motilidad progresiva.
- Condensación final del núcleo y modificaciones en la forma del acrosoma.
- Formación de puentes disulfuro en las estructuras proteicas.
- Alteraciones en la naturaleza de la membrana plasmática.
- Disminución en la concentración de O_2 para inhibir el metabolismo de los espermatozoides.
- Reabsorción, fagocitosis y licuefacción de espermatozoides deficientes.
- Almacenamiento de espermatozoides.

Los espermatozoides son producidos en forma regular y expulsados continuamente de los túbulos seminíferos, pero son inmóviles en el líquido testicular. Las ciliadas del epitelio de los canales eferentes contribuyen a su progresión hacia la cabeza. En el epidídimo las contracciones rítmicas aseguran su desplazamiento. La duración del tránsito por el epidídimo varía según las distintas especies animales. *Muñoz, M. Y Paucar, N (2005)*

Esta duración en la cabeza y el cuerpo no depende de la frecuencia de la actividad sexual de los animales. La cola, en cambio, actúa como reservorio en la cual los EZ pueden sobrevivir durante tres semanas. *Rutter, B. (2006)*

1.1.5 GLÁNDULAS ACCESORIAS

Las principales glándulas anexas del aparato reproductor de los animales son las siguientes:

- Glándulas vesiculares, también llamadas vesículas seminales.
- Glándulas bulbouretrales o de Cowper.
- Próstata.

La presencia o ausencia de las mismas, así como el mayor o menor grado de desarrollo de cada una de ellas varía en las distintas especies animales. Todas las glándulas producen distintas secreciones que contribuyen al semen eyaculado y tienen diversas funciones dentro del mismo. Por otro lado, existen también glándulas uretrales o de Littre y glándulas prepuciales, pero poco se conoce acerca de su composición y función dentro del semen. . *E.Sánchez Carvajal (2007)*

1.1.6 VESICULAS SEMINALES

Las Vesículas Seminales consisten en un par de glándulas genitales ubicadas en el piso de la pelvis a ambos lados del cuello de la vejiga. Se denominan de tal manera porque anteriormente se creía que eran reservorios de semen. Estas glándulas segregan un líquido claro que tiene como función acrecentar el volumen del eyaculado, aportar nutrientes y servir como buffer al semen. Alrededor del 50% del volumen total del semen es aportado por estas estructuras. Son lobuladas y miden de 10 a 15 cm de largo y 2 a 4 cm de diámetro. *Hafez (2001)*

1.1.6.1 Próstata

Con respecto a la Próstata, esta se encuentra hacia caudal de las anteriores y sus secreciones se vierten junto al semen en el momento de la eyaculación por medio de numerosos conductos que se abren hacia la uretra pelviana, en lateral del colículo seminal. Es la única glándula accesoria del macho constante en todas las especies de animales domésticos, y su cuerpo mide 2,5 cm de ancho por 1 a 1,5 cm de grosor, lo que la hace palpable por el recto. La porción diseminada rodea a la uretra pelviana y está cubierta por el músculo uretral. *Hafez (2001)*.

- Glándulas De Cowper

Las Glándulas de Cowper son dos y se encuentran ubicadas a ambos lados de la uretra pelviana, cerca del arco isquiático. Son ovoidales y difíciles de palpar en el bovino, merced de su pequeño tamaño. Contribuyen muy poco al volumen del líquido seminal, las secreciones de estas glándulas eliminan residuos de orina a la uretra antes de la eyaculación. Estas secreciones se notan antes del eyaculado. *E.Sánchez Carvajal (2007)*

1.1.7 ÓRGANOS DE EVACUACIÓN DEL SEMEN

1.1.7.1 Conducto Deferente.

Comunica la cola del epidídimo con la uretra pelviana. Ascende por la cara medial de la binza, acompañando a la arteria y vena espermáticas, músculo cremáster externo y tónicas vaginales derivadas del peritoneo, tiene una capa lisa gruesa en su pared. Penetra al abdomen por el trayecto inguinal; a nivel de la cada dorsal de la vejiga urinaria se dilata formando la ampolla del conducto deferente. *Moreno (2000)*.

Desemboca en la uretra pelviana cerca de la próstata. Su función principal es la de contribuir en la emisión de semen durante la eyaculación, transportando espermatozoides mediante ondas peristálticas desde la cola del epidídimo hasta su desembocadura. *Martínez (2006)*.

1.1.7.2 Uretra

Para su estudio se la divide en dos porciones, la pelviana y la peniana. La primera recibe todas las secreciones de las glándulas anexas y a los espermatozoides desde el conducto deferente. Durante la eyaculación, el esfínter vesical cierra toda comunicación con la vejiga urinaria, de modo tal que el semen no refluya dentro de la misma, ni la orina contamine al mismo, ya que tiene propiedades espermicidas. *Hafez (2001)*.

1.1.7.3 Pene

El pene es el órgano copulador del macho. Posee una forma cilíndrica, y mide 90 cm de largo y de ancho 3 a 4 cm. Presenta tres porciones: raíz, cuerpo y glande. Dos raíces que se insertan en la base de la tuberosidad isquiática dan origen al pene y convergen para formar la porción dorsal del cuerpo del mismo. En ventral se ubica la uretra, rodeada de tejido eréctil (cuerpo cavernoso). *Gustavo. A. Palma (2001)*.

La porción fija del pene se pliega sobre sí misma formando en los animales rumiantes una curvatura en forma de S, conocida como flexura o “S” sigmoidea. El vértice la extremidad libre del pene se presenta torcido en forma de espiral y corresponde la glande. Éste mide entre 7,5 y 12 cm de longitud y posee numerosas terminaciones táctiles, de presión y de temperatura. Rodea al proceso uretral que desemboca en el exterior, en el meato urinario. *Rutter, B.(2006)*.

1.1.7.4 Prepucio

Recorre sagital y ventralmente la pared abdominal desde la zona prepúbica hasta la región umbilical y por lo tanto mide aproximadamente 40 cm de largo y 3 cm de diámetro, con amplias variaciones según las especies animales. El prepucio es un pliegue invaginado de la piel que rodea la extremidad libre del pene cuando éste no está en erección. De esta forma, el exterior del mismo está constituido por los estratos normales de la piel y su interior se encuentra recubierto de una membrana mucosa. *Russo, A. (2006)*

1.2 EVALUACIÓN REPRODUCTIVA Y FISIOLÓGICA DEL SEMENTAL BOVINO

1.2.1 FISIOLÓGÍA DEL SEMENTAL BOVINO:

1.2.1.1 Ciclo sexual del macho.

La pubertad es el momento en la que se producen la interacción de los distintos sistemas corporales de los individuos, que culmina finalmente en la producción de las células sexuales. El toro alcanza su pubertad cuando libera gametos y manifiesta secuencias completas de comportamiento sexual, la pubertad es el resultado de la de la relación entre la actividad gonadotrófica y la capacidad de las gónadas de producir esteroideogénesis y gametogénesis. *E.Sánchez Carvajal (2007)*.

El inicio de la producción de espermatozoides activos, o la presencia de espermatozoides maduros en los testículos o una eyaculación que tenga por lo menos 50×10^6 espermatozoides / ml, con por lo menos un 10% con motilidad progresiva, se produce por lo menos a los 7 o 9 meses de edad, período púber en que el toro manifiesta su primer interés sexual. *Rutter, B. (2006)*

En la pubertad influyen muchos factores, como ambiente físico, temperatura ambiental, clima, heterosis, raza del padre y de la madre, existen diferencias individuales y de raza en la primera producción de espermatozoides activos maduros y la primera eyaculación, existe variedad den las edades de comienzo de la pubertad. *Gustavo. A. Palma (2001)*

Cuadro 1.- Inicio de la producción de espermatozoides en bovinos.

Hereford	273-364 días
Angus	273-350 días
Holstein	252-343 días
Charolais	231-371 días

Fuente: Rutter, B. (2006)

Uno de los signos de que el animal ha alcanzado su pubertad es el tamaño considerable de sus órganos reproductores, desde el nacimiento hasta el periodo de pubertad, el crecimiento y desarrollo de los órganos reproductores es gradual y se produce en consonancia con el desarrollo corporal. Una buena nutrición favorece una temprana pubertad en animales de reproducción mientras que la desnutrición la retarda aunque no impide que aparezca. *Camacho (2000).*

1.2.1.2 Producción espermática, espermiática y plasma seminal.

- Espermatogénesis.

Se denomina función exocrina del testículo o espermatogénesis al proceso gracias al cual tiene lugar la formación y almacenamiento de los espermatozoides a partir de las espermatogonias en el tubo seminífero bajo el gobierno de las gonadotropinas hipofisarias en acción sinérgica con los andrógenos. La duración total del ciclo partiendo de la espermatogonia hasta la formación del espermatozoide tiene una duración aproximada de 65, 49 y 38 días en el toro, carnero y cerdo respectivamente. *Galina Carlos. (2008)*

En el macho impúber no hay receptividad para las gonadotropinas hipofisarias, indicando que existen otros factores de desarrollo somático que desencadenan esta respuesta a la edad requerida. Este proceso comienza en la mayor parte de las especies entre los 12 y 18 meses de edad cuando se alcanza la pubertad y se extiende durante toda la vida reproductiva. *Hafez (2001)*

Cuando se produce la primera división meiótica formándose a partir del espermatocito primario el espermatocito secundario. La segunda división meiótica da lugar a 4 espermátides a partir del espermatocito primario original. Las dos divisiones meióticas ocurridas tienen la importancia de posibilitar que la espermátide así formada tenga la mitad del material genético contenido en la espermatogonia que le dio origen. *E.Sánchez, Carvajal (2007)*

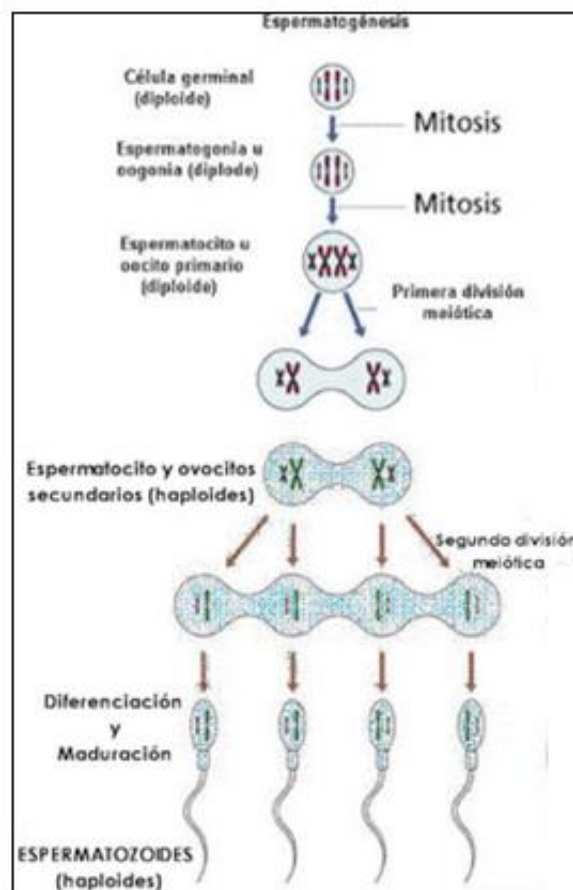
Durante la espermiogénesis una serie de cambios morfofisiológicos que dan lugar finalmente al espermatozoide. Eventos como pérdida de una porción citoplasmática, reorganización de la cromatina nuclear y recolección de material citoplasmático y de la membrana celular para la formación de la cola. *Hafez (2001)*

La espermatogénesis se encuentra gobernada endocrinamente por la FSH, LH, testosterona, estrógenos y GH e influida por algunos factores tales como la temperatura testicular y las variaciones estacionales. La acción estimulante de la FSH sobre las células de Sertoli es vital en la espermiogénesis (transformación de espermátides en espermatozoides), mientras que la LH al estimular las células de Leydig promueve la síntesis de testosterona para la maduración espermática. *Gustavo. A. Palma (2001)*

El control hormonal de la espermatogénesis, resulta de vital importancia la adecuada posición y temperatura del escroto, en algunas especies de mamíferos y en las aves los testículos son funcionales desde su ubicación anatómica en la cavidad abdominal, para los mamíferos domésticos adultos y normales, alteraciones que se producen en el descenso testicular a las bolsas escrotales denominadas criptorquidia. *Rutter, B. (2006)*

La importancia de la temperatura testicular en su relación con la espermatogénesis debe guardar una correcta interacción entre ambas funciones ya que el testículo debe mantener una temperatura inferior a la corporal y para ello posee un mecanismo propio de termorregulación en el que participan el escroto, los músculos cremaster y el riego sanguíneo regional. En este sentido, la túnica dartos y los músculos cremastericos regulan el área de superficie escrotal, mientras que la arteria espermática y el plexo Pampiniforme permiten un mecanismo de intercambio térmico. *Martínez (2006)*

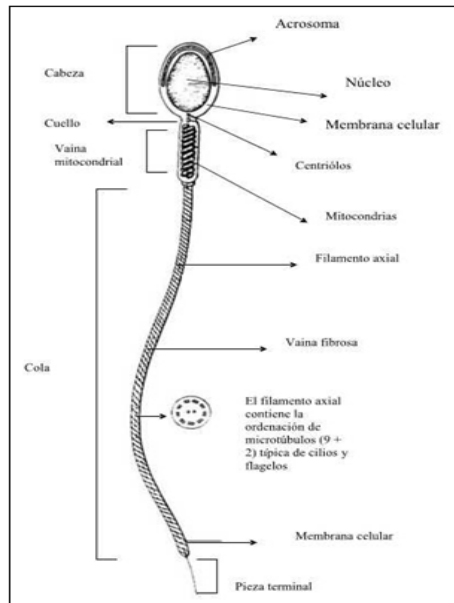
Figura 2: Espermatogénesis



Fuente: <http://www.latinpedia.com>

- Espermatozoides

Figura 1: Anatomía del aparato reproductor bovino.



Fuente: <http://www.Minitüb.com>.

El espermatozoide normal para su estudio se divide en tres componentes principales cabeza, pieza intermedia y cola, el espermatozoide es una célula germinal especializada cuya única función es fertilizar el ovocito, en el bovino mide aproximadamente 75 micrones de largo y tiene una carga haploide de cromosomas. *Barrios, D. (2002)*

Estas células terminales cuyo papel más importante es llevar un paquete del genoma en el centriolo al ovocito, los espermatozoides están provistos de estructuras especializadas como: membrana plasmática, organelos como las mitocondrias, flagelos y un acrosoma, asegurando una interacción particular con el tracto genital de la hembra especialmente al ovocito. *Rodríguez (2000)*

La cabeza del espermatozoide tiene forma irregular, oval, alargada, constituido por núcleos de ADN y albúmina, en su parte anterior posee el acrosoma. El cual tiene doble membrana en forma de capuchón con un saco membranoso que contiene enzimas relacionadas con la penetración del espermatozoide en la zona pelúcida. *Robles. M. (2002).*

El espermatozoide para ser fecundante, tiene que tener en primer lugar una óptima movilidad que le permita penetrar el canal cervical, segundo ascender a las partes altas del tracto reproductivo femenino, tercero sufrir la capacitación y la reacción acrosómica, cuarto atravesar la zona pelúcida del ovocito y quinto sufrir la descondensación nuclear. *Izquierdo, A. et. Al. (2004).*

El acrosoma es una estructura de doble pared, semejante a un lisosoma, íntimamente adherida a la porción anterior de la cabeza del espermatozoide. En su interior se hallan almacenadas diversas enzimas hidrolíticas y proteínas cruciales para la interacción con el ovocito durante la fecundación. *Gustavo. A. Palma (2001).*

La cola del espermatozoide está dividida en tres partes: pieza intermedia, pieza principal, pieza terminal, que miden de 45 a 50 micrones de largo. Constituyen la parte más frágil del espermatozoide, el centro de este segmento medio junto con la longitud de toda la cola comprenden el axonema cubiertas por numerosas mitocondrias, que son la fuente de energía para la motilidad espermática. *Hafez (2001)*

Existe una gota protoplasmática que se desprende de los espermatozoides tras la eyacuación, aunque se lo considera anormal puede retenerse en la mayor parte del cuello donde se conoce como gota proximal o cerca del anillo citoplasmático y se lo denomina gota distal. *Rutter, B. (2006).*

- Semen y plasma seminal

Los espermatozoides junto con las secreciones de las vesículas seminales, próstata y glándulas bulbouretrales constituyen el semen. La porción líquida de dicha suspensión se forma durante la eyacuación, se llama plasma seminal. El semen puro inalterado normalmente aparece como un fluido ligeramente amarillento blanquecino, lechoso con aspecto cremoso cuya consistencia depende del número de espermatozoides, células degeneradas, gránulos lipóideos, corpúsculos hialinos y concreciones. *Herman. et. al. (2004).*

Las propiedades físicas del semen incluyen, color, volumen, densidad, concentración viscosidad, pH, presión osmótica, conductividad eléctrica, capacidad de tamponamiento sustancias de diversas fuentes: sodio, potasio, calcio, magnesio, cloratos, hidratos de carbono como; fructosa, sorbitol, sustancias reductoras, polisacáridos, ácidos orgánicos, aminoácidos, proteínas, vitaminas, enzimas. *Russo, A. (2006)*

La secreción de espermios y el producto de las glándulas accesorias del aparato genital del macho, es posible por la contracción de los músculos de dicho aparato. Participan la musculatura del epidídimo, conductos seminales, canales urinarios y las glándulas accesorias. Todo el volumen de la secreción durante el acto sexual se denomina eyaculación o inseminación del semen; se acompaña de una excitación nerviosa general específica llamada orgasmo. La secreción de las glándulas accesorias constituye la parte líquida del semen. *Robles. M. (2002)*.

1.2.2 EVALUACIÓN DEL TORO REPRODUCTOR

Se caracteriza la eficiencia reproductiva del macho bovino bajo diferentes parámetros: estado de salud del animal, aparato reproductor, características seminales, determinación de la libido y aptitud de monta. Al seleccionar los reproductores a ser utilizados en monta natural o en programas de inseminación artificial, se debe tener como objetivo lograr animales superiores que vayan a dar origen a una progenie más productiva y rentable. *(Aguilar 2001)*

Si se acepta que la reproducción constituye la base de la producción animal, el seleccionar animales con fertilidad comprobada o con potencialidad, es un requisito indispensable para alcanzar altos niveles de productividad. Deberán ser escogidos aquellos que produzcan la mayor cantidad de espermatozoides viables, que gocen de excelentes condiciones físicas para depositar el semen bien en la vagina de la hembra o en la vagina artificial; su aptitud de monta y deseo sexual deberán ser lo suficientemente buenos como para saltar el mayor número de hembras en el menor tiempo posible. *Vásquez, A. (2000)*

Seleccionar machos por su tamaño, incremento de peso o conformación, ha mostrado ser de poca utilidad como indicador de su potencial reproductivo. Una buena evaluación de la capacidad reproductiva de un macho debe incluir, además de los parámetros antes mencionados, un estudio detallado y sistemático del estado general de salud del animal, así como del aparato reproductor y características seminales, junto con la determinación de la libido y de la aptitud de monta. *Montes, et. Al. (2004)*.

La sociedad Theriogenology en 1992 creó una guía denominada B.S.E (Breeding Soudness Evaluation), que consiste en un examen físico, reproductivo, colecta y evaluación seminal. La utilización de esta guía B.S.E. ha reportado que más del 10 % sufren de esterilidad y el 4 % tiene una esterilidad muy seria. Para evaluar un toro reproductor se considera los siguientes parámetros en base a la guía B.S.E.

1.2.2.1 Identificación e historia.

- Examen físico: condición corporal, aplomos y extremidades, signos generales descartando enfermedades, defectos físicos, heridas, etc.
- Examen genitales internos:
Próstata, vesículas seminales, glándulas accesorias.
- Examen genitales externos:
- Testículos, pene, escroto, epidídimo, cordón espermático.
- Circunferencia escrotal.

Cuadro 2.- Contorno escrotal en relación a la edad.

Edad (meses)	Circunferencia (cm)
- 15	30
+ 15 a 18	31
+18 a 21	32
+21 a 24	33
+ 24	34

- Evaluación seminal:
Caracteres macroscópicos, volumen, color, aspecto, pH.
- Caracteres microscópicos:
Motilidad masal, individual, morfología, concentración.

1.2.2.2 Descripción, reseña sumario de ascendencia y descendencia.

Cada animal debe ser identificado, poseer una hoja de vida o tarjeta de control, donde se recojan los datos esenciales del animal. La identificación puede ser dividida en dos partes: la primera parte consiste en la identificación del propietario, contenido de datos personales (nombre, dirección, teléfono, etc.). La segunda parte consiste en la identificación del animal que va a ser analizado, debe contener informaciones tales como: nombre, raza, edad, sistema de alimentación y crianza, origen, régimen de estación de monta. *Rutter, B. (2006)*

Dentro del examen para valorar un toro reproductor está como punto principal la anamnesis como una recopilación de datos e información sobre enfermedades, tratamientos, vacunaciones, desparasitaciones, pruebas de campo, laboratorio, resultados, historia reproductiva y otras operaciones. *Montes, et. al. (2004).*

1.2.2.3 Examen clínico y físico general.

- Evaluación del estado de salud general del animal

Realizar un examen clínico general incluye un examen de las condiciones físicas del macho, con especial interés de los genitales externos e internos evaluados por palpación o inspección, también el sistema locomotor, fundamentalmente tren posterior, el estado puede ser considerado bueno malo o irregular, basado en el examen visual del desarrollo corporal y peso del animal. *Russo, A. (2006).*

- La condición corporal

Debe ser óptima; machos mal alimentados y con bajo peso corporal pueden tener lesionados los testículos irreversiblemente o su recuperación puede ser muy lenta. En el caso de los toretes jóvenes, la pubertad estaría atrasada. Por lo tanto no se debe escoger machos en mal estado físico. *Muñoz, M. y Paucar N (2005).*

Los toros con mala solidez estructural tienen más probabilidades de producir hijos e hijas con mayores posibilidades de dejar el hato antes que el resto. El límite de que esto suceda, depende de la heredabilidad que el toro pueda transmitir el rasgo en cuestión. *Cumming, B. (2003)*

- Evaluación de patas y pezuñas

La búsqueda de lesiones o mala conformación que pudieran conducir a cojera, ruptura de ligamentos y meniscos o pérdida de la estabilidad, ya que muchos animales no montan a las hembras por dolor o imposibilidad anatómica de sus miembros en el momento del salto.

El toro debe caminar, trotar, ver, oler y tener la capacidad de detectar y servir hembras en celo. Cualquier factor que afecte una de estas actividades traerá como consecuencia una menor eficiencia reproductiva, muchos de los problemas que se encuentran en los toros, tienen una alta heredabilidad. *Bavera, G. y Peñafort, C. (2005)*

- Evaluación de la libido o deseo sexual y de la capacidad de monta

Es importante resaltar que animales con buena libido son capaces de preñar más hembras en el menor tiempo posible. Los animales adultos con experiencia sexual deberán realizar la monta efectiva en un tiempo no mayor de 10 minutos; los toretes jóvenes, sin experiencia sexual, se evaluarán en el lapso de 30 minutos y es posible que los toros al ser movidos de su ambiente sufran alteración de la libido. *Muñoz, M. y Paucar N (2005).*

La habilidad de un macho bovino reproductor para montar es fácil de evaluar cuando el semen es colectado en vagina artificial. La aptitud de monta de un macho se afectará por problemas musculares, óseos, desviaciones del pené, problemas psicológicos ocasionados por mal manejo, etc. Cualquier alteración en el animal que cause impedimento para la monta, debe ser de pronóstico reservado o causal de eliminación. *Albarran I, Gonzales E, Y Calderón R. (2001)*

El comportamiento sexual es de mucha importancia ya que influye en el éxito del apareamiento y en la supervivencia de las crías. Este está valorado por el tiempo de reacción o habilidad sexual, libido y capacidad de servicio, evaluados a partir de los 24 meses de edad. La libido, apetito sexual es el deseo de un toro para montar, se lo valorara de acuerdo al tiempo de reacción en un periodo de 10 minutos. *Hafez (2001)*

La libido está valorada en una escala de puntaje de acuerdo a la actitud del macho al contacto con la hembra y se la interpreta de la siguiente manera:

0= El toro no muestra interés sexual
1= Mostró interés sexual una sola vez
2= Interés sexual por la hembra en más de una sola vez
3= Activa atención a la hembra, con persistente interés sexual
4= Una monta o intento de monta, pero sin ningún servicio
5= Dos montas o intento de monta, sin ningún servicio
6= Más de dos montas o intento de monta, sin ningún servicio
7= Un servicio sin que se prosiga el interés sexual
8= Un servicio seguido de interés sexual con monta o intento de monta
9= Dos servicios sin que se prosiga el interés sexual
10= Dos servicios seguidos de interés sexual con monta, intento de monta o servicio

De lo anterior la calificación está dada de la siguiente manera:

0 – 3 puntos, el toro se lo califica como malo.
4 – 6 puntos, el toro se lo califica como bueno.
7 – 8 puntos, se lo califica como muy bueno.
9 – 10 puntos se lo califica como excelente. <i>Montes, et. al. (2004)</i>

- Órganos sexuales accesorios

La evaluación de las glándulas sexuales accesorias se realiza por palpación rectal. Se palparán las ampollas de los ductos deferentes, las glándulas seminales y la próstata. En los toretes jóvenes, el desarrollo de estas glándulas es indicativo de la función testicular, ya que todas son andrógeno-dependientes. La lesión más común es la vesiculitis, la cual cuando va acompañada de leucocitos en el semen, es característica de enfermedades infecciosas. *Muñoz, M. y Paucar N (2005).*

- Prepucio y pené

El prepucio debe ser palpado para descartar la presencia de adherencias, heridas o hematomas. Anormalidades en el pené son motivo de descalificación, como hipoplasia del glande, duplicación parcial o total del pené, persistencia del frenillo del pené, ausencia total de la flexura sigmoidea, la cual se detectaría por la presencia de un pené corto. *Fernández De Córdova Y De La Barrera, Luis. (2009)*

- Escroto

Se debe realizar por la parte posterior y observar el escroto. La temperatura ambiental debe ser cálida para evitar que el escroto se contraiga y se obtenga una idea falsa de su forma. La piel debe estar libre de lesiones o heridas que pudieran comprometer la salud de los testículos. Existen diferentes formas de escroto el de cuello bien definido, generalmente permiten un buen desarrollo testicular; el escroto de cuello muy corto podría causar problemas con el mecanismo termorregulador del testículo, causando patologías testiculares. *Rutter, B. (2006)*

- Testículos

Machos con testículos de tamaño y forma diferente, deben ser observados con reserva. Cualquier asimetría es un indicador de lesiones, anormalidades anatómicas o enfermedades testiculares. Generalmente, el testículo derecho es ligeramente más pequeño que el izquierdo. El descenso incompleto de los testículos es conocido como criptorquídea. *Fernández De Córdova Y De La Barrera, Luis. (2009)*

Animales con un sólo testículo o con descenso parcial de alguno de ellos o de ambos, deben ser eliminados, ya que se ha comprobado que es una condición hereditaria; por otro lado, un animal con un solo testículo, aunque pueda reproducirse, tendría su capacidad disminuida a la mitad. Se deben valorar tres puntos importantes movilidad, consistencia elástica, tamaño, debe deslizarse sin dificultad, no sensibles a la palpación, simétricos. El tamaño y la forma de los testículos son muy importante ya que la producción de espermatozoides depende del volumen de ellos, un gramo de testículos produce: 3×10^6 espermatozoides por día. *Russo, A. (2006)*

- La circunferencia escrotal

Debe ser siempre medida. Existe una correlación entre el peso de los testículos y la circunferencia escrotal y entre el peso de los testículos y la producción de espermatozoides, de manera tal, que al escoger animales con una circunferencia escrotal mayor, indirectamente se hace selección por producción de espermatozoides. *Hafez (2001)*

La circunferencia escrotal se mide con una cinta metálica especial para esos fines. Se coloca en el diámetro más ancho de los testículos, después de haberlos desplazado hacia el fondo del escroto. Se ha demostrado que animales mestizos con testículos muy pequeños, menores de 30 cm a los dos años de edad, no deben ser seleccionados como reproductores. *Gustavo. A. Palma (2001)*

- Epidídimo

Se debe comenzar por la cola para continuar con el cuerpo, en la cara interna del testículo y terminar en la cabeza. Se debe buscar inflamaciones, engrosamientos, aplasias, malformaciones. Cualquier alteración debe ser vista con reserva por parte del evaluador y desechar el animal que se esté evaluando. Es importante recordar que es en el epidídimo donde se acumulan los espermatozoides, los cuales serán eyaculados en algún momento y si el órgano está en malas condiciones, es lógico pensar que el toro presentará problemas de fertilidad. *Albarran I, Gonzales E, Y Calderón R. (2001)*

1.3 COLECTA Y VALORACIÓN DEL SEMEN BOVINO

1.3.1 EVALUACIÓN SEMINAL

Cuando se realiza la evaluación seminal es importante tomar en cuenta la edad, raza, estado nutricional, actividad sexual, método de colección, época y estado de salud del animal. La evaluación del semen es la principal parte del examen andrológico para verificar el potencial generandi para la compra y venta de reproductores antes del inicio de la monta o inseminación artificial. *Gustavo Palma (2001)*

El semen debe ser evaluado por volumen, medido directamente en el tubo colector, color, olor, motilidad, concentración y morfología espermática. Las muestras de semen pueden ser obtenidas por vagina artificial o por electroeyaculación, las últimas tienen la misma calidad que las primeras, pero el volumen, pH y concentración pueden variar debido a que pudieran ser más diluidas por tener mayor cantidad de secreciones de las glándulas accesorias. *Rutter, B.(2006.)*

Cuando se evalúan animales jóvenes (entre 1 y 2 años), es importante tener en cuenta que el volumen eyaculado y la concentración espermática es más baja y el porcentaje de espermios anormales puede ser muy alto al compararlo con eyaculados de toros adultos. En estos casos, el evaluador deberá considerar si este trastorno es normal, ya que los toretes a esta edad se encuentran en etapa puberal y éstos son fenómenos normales asociados con ese período de la vida del macho bovino. Los animales mal alimentados, en reposo sexual, maltratados, bajo estrés térmico, enfermos, recibiendo tratamientos médicos, pueden tener malas características seminales. *Muñoz, M. y Paucar N (2005).*

1.3.2 MÉTODO DE COLECTA DE SEMEN

Cualquiera que sea el método que se vaya a utilizar para colectar semen bovino, es indispensable la limpieza para no contaminar el semen, el manejo adecuado que incluyen colecta, preparación sexual, estimulación sexual, aumentan la cantidad y calidad del semen obtenido. *Herman, et. al. (2004.)*

Cuando se realiza un manejo adecuado y una buena alimentación es posible colectar semen de alta calidad en edad aproximada de 12 meses, dos veces al día, o tres veces por semana para obtener el máximo rendimiento espermático con un eyaculado promedio de 8 a 16 billones de espermatozoides, con un promedio semanal de 30 mil billones de células espermáticas. *Hafez (2001)*.

1.3. 2 .1 Colección de semen por vagina artificial

Existen varios métodos para la recolección del semen; sin embargo, el material seminal de mejor calidad y con menor contaminación se obtiene por el método de la vagina artificial. Es el único método indicado para programas de congelación de semen, la vagina artificial provoca la eyaculación a través de los estímulos térmicos y de contacto. *Montes, et. al. (2004)*.

la vagina artificial debe tener las mismas condiciones naturales que de la vaca a fin de despertar el acto reflejo de eyaculación, es la técnica más utilizada en todo el mundo hasta el momento, ya que se consiguen muestras de semen lo más natural posible al eyaculado normal. *Stornelli, M. (2002)*

La vagina artificial está compuesta de un tubo rígido, que mide de 8 a 16 pulgadas de longitud y 3.5 pulgadas de diámetro, en su interior se coloca un tubo de goma cuyos extremos se doblan sobre el tubo rígido actuando como forro interno manteniendo la temperatura y presión controlada y un tubo colector que termina en un recipiente. Siendo la temperatura eficaz del interior de la vagina artificial de 38 °C – 48 °C, pudiendo valorarse antes y después de la recogida. *Gustavo. A. Palma (2001)*.

La colección de semen debe realizarse eligiendo un sitio y lugar adecuado, preparar el personal que va a trabajar tanto para la movilización del reproductor como para la colecta, es importante que el área de colección tenga un suelo antideslizante se deberá tomar en cuenta estas recomendaciones:

- Ubicación neutral y tranquila.
- No distante del resto de las instalaciones.
- Contiguo al laboratorio.
- Evitar el sol directo, corrientes de aire y polvo.
- La superficie de salto debe ser antideslizante y medir por lo menos 2.5m x 3.5m *Schaetz (2003)*.

La evaluación del libido del toro frente a la extracción de semen con vagina artificial está interpretada de la siguiente manera si se logra la extracción en el 1er salto es considerada como Muy bueno, cuando la extracción se da entre el 2do o 3er salto es valorada como buena, da darse la extracción a partir del 4to o 5to salto se interpretara como regular y extracciones a partir del 6to salto el semental será calificado como malo. *Weitze, 2001*

1.3. 3 Valoración del semen.

Para considerar a un toro como apto reproductivo, asumiendo que es un animal clínicamente sano, debe cumplir con tres requisitos básicos, como son: buena libido, buen estado clínico reproductivo y buena calidad espermática.

La evaluación del semen es un punto importante para la certificación de la aptitud reproductiva en un toro. *Camacho. (2000)*

Las técnicas usadas para valoración seminal solamente proporcionan una estimación sobre el potencial de fertilización de los espermatozoides. Siendo el semen con grandes probabilidades de fecundación el que sea distribuido y separado. La evaluación de un solo eyaculado no permite emitir un juicio sobre el semen, solo luego de varias evaluaciones se evitara interpretaciones erróneas. *Hafez (2001)*.

Una gran cantidad de análisis se han desarrollado para determinar la calidad del semen, necesariamente se evalúan tres parámetros: concentración del esperma, motilidad y morfología, pero actualmente se valora la integridad y el grado de funcionalidad de la membrana espermática requisito fundamental para la fecundación. *Lucero, I. (2009)*.

1.3. 3.1 Examen macroscópico

La evaluación tradicional consiste en la exanimación física o macroscópica del semen que es la primera fase de análisis antes de empezar en si el procesamiento en el interior del laboratorio en el cual se toman en cuenta parámetros como: apariencia, color, aspecto, olor volumen, pH. *Russo, A. (2006)*

- Apariencia

El semen puro e inalterado aparece como un fluido ligeramente amarillento (presencia de riboflavina), blanquecino, cremoso espeso, opaco que indica la alta concentración de células espermáticas, las muestras translucidas contienen pocos espermatozoides, la contaminación del semen puede afectar su apariencia tornándose una coloración rosa a parda, alteraciones en la composición, como células descamadas, orina, sangre, excremento, pus, son fuentes de contaminación indicando infecciones en el tracto reproductivo. *Weitze, 2001*

Cuando la contaminación del semen se descubre es importante investigar su fuente y corregir el problema, ya sea por un cambio en el estado de salud del toro, por errores del que procesa, el semen contaminado debe evitarse ya que afecta la fertilidad o la salud de las hembras que son examinadas con este semen. *Gustavo. A. Palma (2001).*

- Volumen

Destaca dos factores que falsean la exactitud de la medida directa del eyaculado: a) la espuma, b) la impresión de las graduaciones. Es importante tomar en cuenta cuando se evalúan animales jóvenes (entre 1 y 2 años), que el volumen del eyaculado y la concentración espermática es baja y el porcentaje de espermios anormales puede ser muy alto, al compararlo con eyaculados de toros adultos. *Hafez (2001.)*

La mayoría de los toros y los de menor talla producen menores volúmenes de semen, la mayoría de toros proporcionan promedios de 5 cc por eyaculado pero la

medida depende de las características del método de colecta, frecuencia de extracción, cantidad de secreción de las glándulas, tiempo de estímulo, estado de salud del toro. Teniendo en cuenta que un toro mayor de 2 años debe tener un eyaculado de no menos de 4ml. El volumen puede variar entre 2 y 12ml. El toro eyacula entre 4 a 10 ml de semen con 800 a 2500 millones de espermatozoides por mililitro. *V.M. Medina Robles (2007).*

- pH

El pH del toro oscila generalmente entre 6.5 a 7.5, promedio de 6.8, puede alcanzar su neutralidad 7 e incluso una ligera alcalinidad, se manifiesta como un claro indicativo de calidad, ya que existe una correlación entre este y la concentración, la motilidad, porcentaje de espermatozoides vivos, observándose valores más altos en pH bajo y descendiendo estos por encima de 7.2. *Macías (2003)*

1.3. 3. 2 Examen microscópico

- Motilidad

Depende de factores intrínsecos (estructura del flagelo, actividad enzimática), y de factores extrínsecos (composición bioquímica del medio extracelular en el que se encuentra el espermatozoide, plasma seminal, moco cervical, etc.). En la valoración de la motilidad espermática hay un aspecto cuantitativo, o porcentaje de espermatozoides con movilidad, y un aspecto cualitativo, o velocidad y direccionalidad de los espermatozoides. *Russo, A. (2006)*

La estimación subjetiva de la viabilidad de los espermatozoides, utilizando generalmente semen puro y diluido post descongelamiento con la ayuda de un microscopio, la valoración de semen puro indica el comportamiento del espermatozoide en el líquido de las glándulas accesoria, cuando hay concentraciones elevadas dificulta la valoración de la motilidad. *Lucero, I. (2009).*

Se valoran dos tipos de movimientos ondulatorios en masa e individual, el movimiento ondulatorio se divide en cuatro categorías:

- Muy bueno: torbellino intenso, olas oscuras y claras. 90-95%
- Bueno: torbellino más lento, ondas no tan intensas 80-90%
- Regular: movimiento lento, menos ondas. 70-80%
- Malo: muy poca actividad en torbellino o ninguna. 0-70%

El porcentaje de motilidad individual se observa rectilíneo y progresivo (correcto) en semen fresco, diluido y post congelado son determinados por patrones de movimiento y con una puntuación que va de 0 a 5, siendo 5 el más óptimo movimiento progresivo muy rápido, en el cual las células son difíciles de seguir visualmente (80-100%) *Lucero, I. (2009)*.

CUADRO 3.- Valoración de la motilidad en masa espermática

Categoría	Descripción	Porcentaje
0	Movimiento inexistente	10-0%
1	Movimiento casi inexistente.	10-20%
2	Movimiento reducido (lento, con ondas planas, sin formación de sombras.)	20-40%
3	Ondas de menor intensidad con formación de sombras.	40-60%
4	Movimiento fuerte de ondas, con contracorriente y formación de sombras.	60-80%
5	Fuertes turbulencias con forma de omega con movimientos de contracorriente.	80-100%

Fuente: *Gustavo. A. Palma (2001)*.

- Concentración

El número exacto de espermatozoides por unidad de volumen (ml) es de mucha importancia, ya que la tasa de dilución depende de este valor, con el cual se realiza el número de unidades reproductivas o pajuelas para inseminar, cuando el semen del toro tiene una concentración de cero se determina que existe una azoospermia, y si la concentración es baja es oligospermia, la concentración normal de espermatozoides es de 2×10^8 espermatozoides por ml, en toros jóvenes 1×10^8 espermatozoides por ml en toros adultos teniendo un promedio de 300 a 25000 millones de espermatozoides por ml. *Krause & Dittmar, 2002*

- Morfología celular

La morfología del semen significa el estudio de la forma del espermatozoide, midiéndose el porcentaje del espermatozoide normal y anormal clasificándolas como primarias o secundarias, dependiendo si el defecto ocurre durante la formación de la célula, en la espermatogénesis en el testículo, dentro del epidídimo o en el laboratorio. *Galina Carlos. (2008)*

La porción de espermatozoides vivos puede determinarse utilizando técnicas de tinción basadas en el principio de que las células muertas cuyas membranas plasmáticas están dañadas permite la entrada de ciertos colorantes. La fertilidad reducida ocurre generalmente cuando el número de defectos son mayores de 18 al 20 %. Las anomalías primarias no deben superar el 5% y son determinantes de baja fertilidad, los defectos secundarios no están generalmente considerados como serios y no afecta la fertilidad. *Sullivan (2009)*

Figura 4: malformaciones espermáticas primarias



Fuente: <http://www.reprobovitec.com> Gustavo. A. Palma (20011)

Figura 4: malformaciones espermáticas primarias



Fuente: <http://www.reprobovitec.com> Gustavo. A. Palma (20011)

1.3.3.2 Prueba De Hipoósmosis HOST

Es una prueba para la evaluación de la integridad y funcionalidad de la membrana plasmática del espermatozoide, asociada a su capacidad de penetración al ovulo. Este ensayo permite medir la habilidad del espermatozoide para transportar fluidos, además de ser una prueba adicional para el análisis de semen. . Muñoz, M. y Paucar N (2005).

El test de endósmosis consiste en situar los espermatozoides en presencia de un medio de presión osmótica más baja que la fisiológica, lo que causa una entrada de agua en la célula en un intento de equilibrar la presión osmótica interna con la del medio externo. Para que esta respuesta se produzca, la membrana plasmática del espermatozoide debe estar íntegra y con los mecanismos de intercambio de fluidos funcionando correctamente. Lucero, I. (2009).

La entrada de agua provoca en estas células un hinchamiento y enrollamiento del flagelo. Las células con la membrana física o funcionalmente dañada no experimentan cambios en la forma del flagelo. Los valores obtenidos en esta prueba se correlacionan con otros parámetros de calidad seminal, como la motilidad, la viabilidad o la morfología. Camacho. (2000).

Los espermatozoides suspendidos en un medio hipoosmótico ocasiona un desequilibrio osmótico entre el medio extracelular y el intracelular, situación que el espermatozoide trata de vencer incorporando agua al compartimiento intracelular y como consecuencia, la célula aumenta volumen pareciendo hinchada lo que visualizara mejor su cola. *Gonzales, R. (2002).*

En esta técnica el semen se incuba a 37 °C por 30 minutos en una solución hipoosmótica y se realizan observaciones seriadas (30 minutos, 1 y 2 horas), se fija la muestra determinándose el porcentaje de espermatozoides vivos los cuales reaccionan al shock osmótico enrollando la cola, a mayor porcentaje de estos, mayor será la calidad de la muestra. El estado funcional de la membrana espermática puede ser un indicador de la capacidad fecundante. Se consideran valores normales un 61 % de espermatozoides hinchados, valores inferiores al 60 % se consideran patológicos. *Lucero, I. (2009).*

CUADRO 4.- Clasificación en función al grado de reacción en la cola

Reacción 1	Espermatozoides sin reacción o negativos.
Reacción 2	Espermatozoides con reacción en la porción final de la cola.
Reacción 3	Espermatozoides con colas en forma de látigos.
Reacción 4	Espermatozoides con colas en forma de ovillos.

Fuente: *Camacho, 2000.*

1.3. 3 .3 Test para determinar porcentajes de acrosomas intactos. (ORT)

La frecuencia de espermatozoides crioconservados con membranas plasmáticas intactas pueden ser fácilmente determinados con test muy sencillos y prácticos como el de resistencia a cambios osmóticos llamado ORT, que se basa en la reacción de la membrana de los espermatozoides cuando se exponen a soluciones hipoosmóticas. *Rodríguez, H. (2001)*

Esta prueba permite analizar con un alto grado de fiabilidad la calidad espermática, la determinación del porcentaje de acrosomas intactos es un método morfológico de medición de la viabilidad post descongelación el cual tiene correlación con la fertilidad, es un valioso complemento de la motilidad para determinar la viabilidad y fertilidad potencial del semen congelado, para examinar el acrosoma el movimiento de los espermatozoides debe ser detenido, fijando las membranas y previniendo su deterioro, doscientas células deben ser examinadas a 1000 aumentos inmediatamente después de la congelación. *Catena, M (1999)*.

La acción del medio hipoosmótico en los espermatozoides afecta aquellos cuya membrana citoplasmática a sufrido alguna alteración a diferencia de los espermatozoides que aparecen intactos a nivel de la zona acrosómica estos no sufrirán los efectos del medio hipoosmótico. El resultado de dichotest clasifica las dosis seminales en cinco categorías en función de su calidad:

SEMEN FRESCO

- Muy buenos > 71%
- Buenos 64-71 %
- Regulares: 54-63%
- Malos: 45-53%
- Muy malos: < 45%

SEMEN POST DESCONGELADO.

0 hs: 50 % de acrosomas intactos

1.3. 3 4 Test de termoresistencia (TTR).

Al colocar las muestras de semen a una temperatura de 36 a 38 °C, se estudia el tiempo de supervivencia de las células, obteniendo así una estimación de la viabilidad, fertilidad y capacidad de almacenamiento. Al descongelar el semen a determinada temperatura e ir haciendo evaluaciones a medida que pasa el tiempo, después de este periodo se examina al microscopio observando el porcentaje de motilidad progresiva. *Decuadro (1997)*.

- Porcentaje de espermatozoides vivos y muertos

La determinación del porcentaje de espermatozoides vivos y muertos necesita un frotis y una tinción en donde las cabezas de los espermatozoides muertos en el momento previo de la preparación del frotis se tiñen de rojo, no así los vivos; en el eyaculado que presenta más de 20% de espermatozoides muertos deberán ser eliminados. *Catena M. (2000).*

La relación vivos y muertos es otro parámetro importante, sobre todo para la conservación del semen, un espermatozoide muerto libera enzimas entre las que se encuentra las del acrosoma que van a producir daños en las membranas de los vivos, lo que provoca un mayor número de espermatozoides dañados y por consiguiente pérdida de la calidad de las dosis seminales. *Herman, et. al. (2004)*

1.4 DILUCIÓN Y CONSERVACIÓN DE SEMEN BOVINO

Por diluyente entendemos como una solución acuosa que permite aumentar el volumen del eyaculado, hasta conseguir las dosis necesarias y preservar las características funcionales de las células espermáticas y mantener el nivel de fertilidad adecuado. *Gadea, J. (2003).*

La concentración de espermatozoides en el semen es alta, el objetivo de los diluyentes es aumentar el volumen del eyaculado con suficientes células espermáticas, el diluyente ayuda a conservar la viabilidad del espermatozoide para que un número grande de hembras puedan ser inseminadas, también debe ayudar a la preservación y longevidad de los espermatozoides. *Herman, et. al. (2004).*

El futuro de la reproducción requerirá no solamente de pruebas prácticas para determinar componentes fertilizadores en los eyaculados, sino también la incorporación de aditivos a los diluyentes para asegurar su fertilidad. Debido a que la motilidad espermática es susceptible a efectos ambientales (calor, frío excesivos), es necesario proteger al semen de agentes perjudiciales antes del análisis. *Sperminotes (2001)*

1.4.1 CLASES DE DILUYENTES

1.4.1.1 Requisitos de los diluyentes

El diluyente debe aportar nutrientes necesarios para el mantenimiento metabólico de la célula espermática abasteciéndola de energía y nutrientes (glucosa), la protección frente al shock térmico por frío, controlar el pH del medio (bicarbonato, TRISS, HEPES), la presión osmótica (sales de CLNa KCL) y la inhibición del desarrollo bacteriano (antibióticos), aumentar el volumen del semen para que se pueda utilizar en varias dosis seminales. *Gadeja, J (2003)*

La presión osmótica y el pH del diluyente deben ajustarse para favorecer la supervivencia espermática, mantener la osmolaridad del diluyente próximo a la isotonicidad y favorecer la motilidad espermática, los diluyentes de semen contienen generalmente:

- Amortiguadores como citrato de sodio, amortiguador orgánico Tris (hidroximetil aminometano).
- Yema de huevo o leche los cuales contienen macromoléculas que protegen la vida del espermatozoide contra variaciones de temperatura, interviene en la motilidad y la fertilidad espermática.
- Fuentes de energía necesarias para la motilidad como fructosa, glucosa para preservar las reservas intracelulares.
- Crioprotector intracelular que reduce la formación de cristales y solutos que se producen durante la congelación como glicerol, DMSO (dimetil sulfoxido) y etilinglicol.
- Antibióticos como tilosina, gentamicina, penicilina, dihidroestreptomocina. Para inhibir la proliferación de agentes microbianos. *Lucero, I. (2009).*

1.4.1.2 Diluyentes para congelación.

La congelación goza de claras ventajas ya que el semen puede ser almacenado por periodos dilatados de tiempo, permite su transporte con facilidad. El semen debe ser protegido de los efectos de la congelación y de la manipulación que determinarían la muerte del espermatozoide, por esta razón se añade al semen diluyentes que contengan un sustrato nutritivo, una sustancia para proteger a los espermatozoides de las lesiones provocadas por la congelación y cambios de temperatura, un tampón para evitar cambios de pH y presión osmótica, antibióticos. *V.M. Medina Robles (2007).*

El glicerol como crioprotector produce menor daño celular al espermatozoide que otros productos como DMSO, la concentración requerida de glicerol para proteger a un máximo de espermatozoides, se determina mediante la velocidad de enfriamiento y del descongelamiento reduciendo la formación de hielo intracelular evitando la muerte del espermatozoide. *Hafez (2001).*

La yema de huevo actúa como protector y conservador del espermatozoide, es el más reconocido y utilizado aún hoy, aunque su exceso puede ser contraproducente en el mantenimiento de la integridad ultraestructural del espermatozoide, pudiendo afectar a la fecundación o la normal descondensación nuclear de la cromátina o alterar la viabilidad del embrión. *Ungerfeld (2002).*

La contaminación bacteriana produce una serie de alteraciones como la disminución de la motilidad, aglutinaciones espermáticas, aumento de los acrosomas alterados y una reducción del pH hasta niveles ácidos. La adición de un antibiótico en la adecuada concentración favorecerá la supervivencia espermática y se incrementaran los resultados de fertilidad. Andromed, Triladyl, Biochips, Laichips son la alternativa en diluyentes. Lamentablemente la composición cuantitativa de estos medios no es conocida, ya que está protegida por razones comerciales por lo que hasta el momento se dispone de escasa información de los resultados de fertilidad. *Gadea J. (2003)*

1.4.1.3 Diluyentes utilizados en Ecuador.

CUADRO 5.- Diluyente Yema Citrato

Citrato de sodio	2.3 g
Agua destilada	100ml
Yema de huevo	20 ml
Penicilina	500-1000 UI
Glicerina	7%
Estreptomicina	1mg/ml

CUADRO 6.- Diluyente ANDROMED

Agua bidestilada	200 ml
Fructosa *	
Glicerol*	
Acido cítrico*	
Buffers*	
Fosfolipidos*	
Spectomicina	30 mg
Lincomisina	15 mg
Tylosina	5.0 mg
Gentamicina	25.0 mg

La preparación de los diluyentes, requiere de detalles y mucha atención en especial en la manipulación de reactivos o sustancias que van a ser utilizadas en la elaboración del mismo, alteraciones en la composición o contaminación puede perjudicar la calidad del diluyente preparado en función del tiempo de duración del mismo y la adaptabilidad con los espermatozoides.. *Palomino, J. (2001).*

1.4.1.4 Diluyente a utilizar en la investigación

CUADRO 7.- DILUYENTE TRILADYL

Agua bidestilada	100 ml
Glycerol	6.4 %
Tris*	
Acido cítrico*	
Fructosa*	
Tylosina	5 mg
Gentamicina	25 mg
Lincomicina	15 mg

* Cantidades no reveladas por los fabricantes. Sujetas a mantener la osmolaridad del producto

- Características del diluyente Triladyl

Triladyl es un concentrado para la preparación de un diluyente de semen que está basado en el tampón TRIS. Es un diluyente de un solo paso que nos permite procesar semen a temperatura ambiente, es el diluyente mas recomendado para la congelación de semen de rumiantes, ofrece resultados de descongelación de todos los eyaculados. <http://www.MiniTüb.com>. (2011).

El diluyente de semen listo para la aplicación consiste en una parte de de TRILADYL concentrado, tres partes de agua bidestilada y una parte de yema de huevo aproximadamente el 20%. Triladyl (250 ml), se vacía en un matraz graduado y se mezcla con 750 ml de agua bidestilada. Esta solución puede mantenerse a + 5 °C hasta una semana. <http://www.spermnotes.com>. (2011).

Se debe agregar 250 ml de yema de huevo. Los huevos se abren cuidadosamente y la yema debe separarse completamente de la clara y de las membranas. Para ello se coloca cada yema sobre el papel filtro se la punciona hasta que escurra. Una vez obtenida la cantidad necesaria de yema de huevo esta debe ser bien mezclada con un agitador de cristal hasta obtener una solución uniforme, se debe evitar la formación de espuma. <http://www.MiniTüb.com>. (2011).

Después de la colección de semen, el eyaculado debe ser mantenido en un baño maría entre 26 °C, el semen se diluye en una relación de 1:1 en el envase de colección, el diluyente es añadido lentamente y con precaución. Después el semen es trasladado a un recipiente más grande y la dilución final es realizada en la misma relación 1:1, es importante mantener la misma temperatura entre semen – diluyente y recipiente.<http://www.sperminotes.com>. (2011).

1.4.2 METODOS DE DILUCIÓN FINAL

La dilución debe planificarse de manera que el número de espermatozoides presentes en un envase adecuado para su manejo e inseminación debe ser suficiente, debe ser mezclado inmediatamente después de la eyaculación en relación 1:1, la dilución depende de la concentración inicial. La concentración y motilidad de los espermatozoides en las muestras de semen colectadas, determina el rango o grado de dilución, pero no determinan una fertilidad garantizada. *Rutter, B. (2006)*.

1.4.2.1 Concentración Espermática

El número de pajuelas de pajuelas debe asignarse en función de la calidad original del semen, la edad del toro y de su ritmo de colecta. Con toros muy fértiles puede utilizarse concentraciones extremadamente bajas de 5 – 8 millones de espermatozoides totales por pajuela, siempre que el toro tenga un ritmo de colecta continuo (2 eyaculados por sema). Como dato referencial en Francia se utilizan:

15 millones de espermatozoides en toros elite.

20 millones en toros estándar.

23 millones en toros de testaje (fertilidad desconocida). *Decuadro H. (2002)*.

1.4.3 CONGELACIÓN DE SEMEN

La fertilidad del semen congelado depende de la dilución final, del método de glicerización, de la rapidez de la congelación y de la estabilidad de la temperatura durante la conservación. La crioconservación intenta asegurar la supervivencia de las células espermáticas sin embargo el daño es irreversible alterando las membranas del espermatozoide que causando la muerte de la célula y fallas en la capacitación perturbando la habilidad de fertilizar. *Rodríguez (2000)*.

La baja fertilidad del semen crioconservados es atribuida a cambios ultra estructurales, bioquímicos y funcionales que sufre una porción significativa de las células espermáticas y que conducen a un transporte insuficiente de y pérdida de viabilidad en el tracto genital. Los cambios ultra estructurales afectan principalmente a las membranas, debido a la reordenación de lípidos membranosos durante la congelación –descongelación, alterando las asociaciones lípido-lípido y lípido proteínas. *Hernan, et. al. (2004)*.

El nitrógeno líquido es el refrigerante de elección para conservar semen por largos periodos de tiempo y a bajas temperaturas, existe gran variedad de tanques almacenadores, varían en tamaño y con centrales de almacenamiento de varios cientos de miles de pajillas, y con reserva de nitrógeno hasta por 6 meses, la pérdida del nivel de nitrógeno en estos tanque refrigerantes puede ser letal para el espermatozoide aunque aparentemente el semen está congelado. *Palma, G. (2001)*.

El semen diluido a temperatura ambiente (30 °) es la base del inicio de la curva del enfriamiento, que se inicia en el baño maría a razón de 1.5 °C por minuto, hasta alcanzar una temperatura cercana al cambio de fase 4 – 5 °C, durante el enfriamiento el espermatozoide reduce su metabolismo a la vez que comienza un intercambio de sustancias a través de la membrana celular. *Rutter, B. (2006)*.

Es necesario un periodo de equilibramiento de la temperatura (4- 5 °C) alrededor de 1.5 a 2 horas en lo que se consigue un balance osmolar entre el medio intra y extracelular especialmente cuando el glicerol es incorporado a esta temperatura. La congelación se consigue al llegar a la temperatura de -79 °C, lo que se logra a una distancia de 4 a 5 cm del nivel del nitrógeno líquido durante 4 a 5 minutos. Este método puede variar dependiendo de la susceptibilidad del semen con diferentes tiempos y alturas de vapor de nitrógeno líquido antes de ser sumergidas a -196°C. *Ungerfeld (2002)*.

En la actualidad los métodos tradicionales de congelación han sido remplazados por la tecnología computarizada que ha logrado optimizar en tiempo y recursos el congelamiento de semen bovino, al garantizar curvas de congelamiento exactas se disminuye el porcentaje de mortalidad considerablemente. Un claro ejemplo de tecnología es el CRIOCONSERVADOR ICE CUBE 15M-SY LAB, patentado de la compañía Mini Tübe. El cual posee un sistema computarizado que desciende la temperatura de 10 a -25 °C en un tiempo de 5 minutos y luego desciende de -25 °C a -180°C en un tiempo de 10 a 20 minutos. *AGSO-GENES (2011)*.

Los principales daños que sufren los espermatozoides durante el proceso de congelamiento son el estrés térmico, mecánico, químico y osmótico impuesto sobre la membrana, daños atribuidos a alteraciones osmóticas y a la formación de hielo intracelular, ambos fenómenos relacionados entre sí, el estrés inducido por la formación de cristales de hielo, esta principalmente asociado con el cambio de la osmolaridad de la fracción no congelada. *Gobello (2004)*.

1.4.4 DESCONGELAMIENTO DEL SEMEN

Después de la descongelación los espermatozoides no sobreviven tanto como los han sido congelados y no resiste a un segundo congelamiento, es por eso que el descongelamiento debe controlarse para evitar matar las células por sobrecalentamiento. Cuando el semen crioconservados es descongelado al ser transferido del tanque de nitrógeno a un baño de agua a temperatura controlada a 37°C durante 15-20 segundos para una pajuela de 0.50. *AGSO-GENES (2011)*.

La velocidad de descongelamiento depende de la velocidad con que este fue congelado, si fue moderadamente; el hielo intracelular difunde lentamente a los solutos de la fracción no congelada, esto hace que el agua se difunda lentamente en el interior de los espermatozoides, diluyendo a los solutos a las concentraciones iniciales, si la descongelación es rápida y el hielo se disuelve rápidamente, diluye los solutos extracelulares, si el agua entra rápidamente a los espermatozoides que continúan con una alta concentración de solutos lesionándolos. *V.M. Medina Robles (2007)*.

El semen puede ser descongelado a muy variadas temperaturas desde 0°C en hielo fundente por varios minutos, hasta agua hirviendo por 2 a 3 segundos. El tiempo y la temperatura dependerán de la relación área volumen del envase de semen, de los diluyentes y crioprotectores usados; por estos motivos es importante seguir las instrucciones de cada centro que envasa semen. *AGSO-GENES (2011)*.

1.5 ALOE VERA

1.5.1 CARACTERÍSTICAS

No es fácil encontrar en la naturaleza una planta que reúna tantas propiedades beneficiosas para la salud en general. Hasta el momento se han descrito más de 200 sustancias contenidas en el aloe vera. Concentra un altísimo porcentaje de agua en su interior, de hecho el 95,5% de la planta está compuesta de agua y sólo el 5% de otros componentes sólidos como: vitaminas hidrosolubles y liposolubles, sales minerales y oligoelementos. El aloe aporta diecinueve de los veintidós aminoácidos que necesita el organismo, siete de los cuales son esenciales. *Caballero y Cañas, (2002)*

La sábila es un estimulante de crecimiento ya que en su composición química, se encuentra el fosfato de manosa, su principal función es que actúa como agente de crecimientos de los tejidos. Las hojas están compuestas de tres capas: una protección coriácea exterior, una capa fibrosa debajo de ésta donde se concentra la aloína, el corazón gelatinoso donde almacena sus reservas de agua y con el que se preparan innumerables productos farmacéuticos. *Rodríguez H. (2004)*

Actualmente, hay más de 250 diversas variedades reconocidas de aloe, de las cuales, solamente tres o cuatro tienen características curativas o medicinales significativas. La más potente de éstas, rica en vitaminas, minerales, aminoácidos, y enzimas es *Barbadensis Molinero del Aloe*, conocido comúnmente como aloe vera. Yaron, (1995).

La sábila contiene 13 de los 17 minerales necesarios para la buena nutrición, aporta 20 de los 22 aminoácidos conocidos, ocho de estos son esenciales y deben ser proporcionados desde una fuente externa, ya que el cuerpo no los puede producir y está probado que consumir el jugo de sábila es una de las mejores fuentes para proporcionar al cuerpo estos aminoácidos. La sábila también contiene enzimas naturales y minerales necesarios para el organismo ya que las enzimas ayudan a realizar la reacción química de vitaminas, minerales y hormonas Vázquez, (2001).

1.5.2 COMPONENTES Y BENEFICIOS

CUADRO 8.- Principales componentes del aloe vera.

Componentes	Beneficios del Aloe vera.
Aminoácidos	Interviene en la formación de proteínas.
Creatinina	Ayuda en reacciones de almacenaje y transmisión de la energía.
Minerales	Calcio, magnesio, fósforo, potasio, zinc, cobre.
Saponinas	Antiséptico.
Mucopolisacáridos	Responsables de la hidratación celular
Enzimas	Intervienen en la estimulación de las defensas del organismo.
Vitaminas	Hidrosolubles y liposolubles.

1.5.3 LAS SAPONINAS

Son sustancias vegetales solubles, detergentes naturales con propiedades antisépticas y antibióticas. La propiedad más importante del Aloe Vera en la piel en relación con la desobstrucción de los poros son las propiedades saponificadoras de la combinación aminoácidos/polisacáridos, que transforman los depósitos grasos que obstruyen los poros en sustancias jabonosas. Una de las sustancias más activas del Aloe en la saponificación es el ácido urónico, que reacciona con las sustancias grasas transformándolas en sustancias fácilmente solubles en agua. *Bermejo, J. 2003.*

Las saponinas esteroidales son compuestos que poseen una estructura compleja formada por un núcleo esteroidal hidrofóbico y una parte hidrofílica constituida por unidades de monosacáridos. Están ampliamente distribuidas en el reino vegetal y aunque en mayor o menor medida se encuentran en una gran cantidad de plantas, son especialmente abundantes en algunas familias, entre ellas la *Agavaceae*. Por hidrólisis de las saponinas se obtienen las sapogeninas esteroidales, de gran interés para la industria farmacéutica por ser precursores en la síntesis de hormonas y corticoides. *Parente, J. P. 2002*

La extracción de saponinas se define como un tronco común de metodologías utilizadas como: Proceso de desengrase del material vegetal: El mismo tiene como objetivo eliminar los compuestos lipídicos que posee la planta, que pueden afectar operaciones posteriores. El desangre puede realizarse directamente al material vegetal o extractos obtenidos de éste.

1.6 SURFACTANTE

Cualquier sustancia o producto que reduce la tensión interfacial entre dos superficies en contacto. Los agentes activos superficiales o surfactantes son moléculas que contienen un segmento liposoluble (soluble en aceite) y otro hidrosoluble (soluble en agua). La solubilidad parcial tanto en agua como en aceite permite al surfactante ocupar la interface *Álvaro Fernández (2004).*

Los surfactantes aniónicos son aquellos que en solución acuosa se disocian en un anión anfífilo y un catión, el cual es generalmente un metal alcalino o un amonio cuaternario. A este tipo pertenecen los surfactantes de mayor producción: detergentes como alquilbenceno sulfonatos, jabones o sales de ácidos carboxílicos grasos, espumantes como el lauril éster sulfato etc. *Salager J. (2004)*

1.6.1 EFECTO DE UN SURFACTANTE EN LA INTEGRIDAD DEL ESPERMATOZOIDE

El uso de sustancias tensoactivas en ensayos de criopreservación de semen porcino, ovino y bovino ha sido una constante investigación cuyo propósito ha sido la disminución de la mortalidad espermática. La adición al diluyente de un detergente comercial (Orvus Es Paste OEP1) demostró tener un efecto favorable sobre la integridad de los acrosomas en presencia de yema de huevo. El compuesto comercial utilizado fue descrito como un tensido constituido por una mezcla de Na- y trietanolamino-laurilsulfato (STLS). *Graham (2001)*.

El mecanismo bioquímico por el cual el detergente produce la estabilización de la membrana espermática no está claramente dilucidado. Pudiera deberse a una mayor permeabilización de ellas. Haciéndola más permeable a los solutos, a través de microporos, se evitaría una ruptura mayor, a consecuencia de los desequilibrios osmóticos durante la dilución y congelación/des-congelación de las células. *Salamon y Maxwell. (2001)*

La baja fertilidad del semen crioconservado es atribuida a cambios ultraestructurales, bioquímicos y funcionales que sufre una proporción significativa de las células espermáticas y que conducen a un transporte insuficiente y pérdida de viabilidad de los espermatozoides en el tracto genital *Salamon y Maxwell, (2001)*.

Los cambios ultraestructurales afectan principalmente a las membranas, debido a reordenación de los lípidos membranosos durante la congelación-descongelación, alterando las asociaciones lípido-lípido y lípido-proteínas, necesarias para una función normal de las membranas *Parks y Graham, (2002)*.

Se ha constatado que el daño por la congelación es más severo en espermatozoides ovinos que en espermatozoides bovinos, particularmente sobre la integridad de su borde apical, área que es más sensible que el segmento postacrosomal y de la pieza intermedia. Por ello, la motilidad espermática de los espermatozoides ovinos crioconservados es habitualmente mayor que la integridad morfológica de sus acrosomas. *Salamon y Maxwell, (2001)*.

CAPITULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 UBICACIÓN

El presente trabajo investigativo se lo realizo en el Centro de Desarrollo Genético y Capacitación de la Asociación de Ganaderos de la Sierra y el Oriente, parroquia Guamaní, Cantón Quito, Provincia de Pichincha. Ubicados a 2.850 m.s.n.m, con una temperatura media anual de 13,5 °C, precipitación media anual de 2197.7 mm.

2.2 MATERIALES

Los materiales más relevantes de la investigación fueron los siguientes:

Animales.

Un macho reproductor raza Pizán, edad 1 año 5 meses.

Un macho reproductor raza Holstein, edad 3 años.

Un macho reproductor raza Holstein- Factor rojo, edad 2 años 8 meses.

Diluyente.

Triladyl.

Surfactante Natural.

Aloe vera.

Implementos para la preparación del diluyente.

Probetas

Matraz Erlen Meyer

Vaso de precipitación.

Embudos.

Agitador de vidrio.

Papel filtro.

Agua bidestilada.

Yema de huevo fresca.

Refrigerador.

Implementos para la colección de semen

Maniquí.

Brete o sujetador.

Vagina artificial.

Vaina.

Cono.

Tubo colector graduado.

Ligas de caucho.

Termómetro.

Agua caliente.

Guantes de goma.

Overol y Botas.

Material para análisis macro y microscopio del semen.

Microscopios.

Baño María.

Plancha térmica.

Gradillas metálicas.

Porta y cubre objetos.

Cámara de Neubauer-Thomas.

Pipetas.

Indicadores de Ph.

Tubos de ensayo.

Sustancias químicas: tinción vital eosina-nigrosina, fructuosa.

Materiales para la congelación de semen.

Máquina envasadora y selladora semi-automática de pajuelas (Minitub).

Pajuelas de 0.50 ml.

Termo de nitrógeno líquido para mantenimiento de pajuelas.

Crioconservador Ice Cube (Minitub).

Rack de 0.50 para 50, 100, 500 pajuelas.

Nitrógeno líquido.

Bomba de vacío.

Vaso de precipitación.

Varios.

Cámara fotográfica.

Computadora.

Material de papelería.

2.3.- MÉTODOS

METODOLOGIA

El método de estudio que se empleó en la investigación fue de tipo EXPERIMENTAL aplicando el método HIPOTÉTICO-DEDUCTIVO ya que a través de las hipótesis planteadas se esperó demostrar si la adición de un surfactante natural (aloe vera) influirá en la disminución de la mortalidad de espermatozoides antes y después de la crio-conservación en nitrógeno líquido.

Los animales utilizados en el experimento fueron evaluados andrologicamente y se tomaron muestras sanguíneas para descartar enfermedades infectocontagiosas. Se continuó con las colectas de la siguiente manera: a) Las colectas se realizaron cada 15 días, b) La colecta se procesó solamente si fue apta, una vez calificada del total del eyaculado se fraccionó en partes iguales para cada tratamiento, este proceso se lo realizó en cada animal hasta completar las 5 montas establecidas, c) se calificó el semen fresco, d) posteriormente se diluyó de acuerdo a la concentración en los cuatro tratamientos, e) se añadió el aloe vera en las concentraciones de la investigación para los tres tratamientos e) se evaluó las pajuelas post-descongelación.

Los métodos que se utilizaron para este estudio se los dividió en las siguientes partes:

1. Evaluación del toro semental
2. Colecta de semen y evaluación seminal.
 - a) Colecta.
 - b) Evaluación
3. Examen macroscópico valoración en semen fresco.
 - a) Aspecto
 - b) Color
 - c) pH.
 - d) Volumen
 - e) Olor.

4. Examen microscópico valoración de semen fresco
 - a) Motilidad masal
 - b) Motilidad individual
 - c) Concentración
 - d) Porcentaje de espermatozoides con anormalidades.
 - e) Porcentaje de espermatozoides vivos y muertos.
 - f) Prueba de HOST.
 - g) Prueba de ORT
5. Diluyente, surfactante natural y congelación.
6. Evaluación post descongelado:
 - a) Motilidad individual.
 - b) Porcentaje de espermatozoides con anormalidades primarias y secundarias
 - c) Porcentaje de espermatozoides vivos y muertos.
 - d) Prueba de HOST
 - e) Prueba de ORT.

1. Evaluación del toro semental.

En los machos seleccionados se procedió a hacer un examen reproductivo, dividido este en dos partes:

Historia clínica y anamnesis, se recoge la mayor cantidad de información la cual consiste en una reseña del animal como: raza, peso, edad, estado de salud, alimentación, administración de medicamentos, comportamiento sexual, estado corporal, realizada la anamnesis se pasara a realizar un examen general, objetivo y clínico del animal.

El examen general consistió en evaluar puntos específicos para cada animal seleccionado como: peso vivo, cobertura muscular, comparando con los patrones de la raza y de acuerdo a su edad, también se valoró el sistema respiratorio, circulatorio y locomotor.

El examen de los órganos genitales se realizó sobre el animal en pie, con el método de palpación externa y rectal. El sistema genital fue valorado por inspección y palpación de: cordones espermáticos, escroto testículos, epidídimos, S sigmoidea, anillo inguinal, prepucio, genitales internos (comprenden, vesículas seminales, conductos deferentes, próstata, glándulas bulbouretrales), valorando consistencias para descartas hipoplasias, degeneraciones e inflamaciones.

Se evaluó el comportamiento sexual valorando: libido y habilidad sexual, considerando manifestaciones de cortejo, erección y protrusión del pene, monta, búsqueda, introducción, eyaculación, montas completas o incompletas, eyaculación rápida, potente, profunda. Además se realizara pruebas complementarias para detectar enfermedades infecciosas con brucelosis, tuberculosis, trichomonas.(*Anexo 13*)

b.- EVALUACIÓN.

1) Examen macroscópico y valoración en semen fresco:

El primer examen a realizarse para valoración seminales el examen macroscópico el cual consiste:

a.- Aspecto: se valora según una escala previamente realizada del grado de opacidad: 1 regular, 2 bueno, 3 muy bueno.

b.- Color: al igual que el aspecto tiene una escala de valoración 1 lechoso, 2 blanco, 3 blanco amarillento, pudiendo adoptarse valores intermedios, siendo el mejor el blanco cremoso.

c.- pH: se determinó basándose en el indicador universal siendo lo optimo 6.8.

d.- Volumen: obtenido por la graduación del tubo colectado en la vagina artificial.

e.- Olor: suigenéris de la especie. (*Anexo 1*)

2) Examen microscópico valoración en semen fresco:

a.- Motilidad masal: Para la valoración se utilizo la técnica de gota gruesa, la cual consistió en colocar una gota del tamaño de una lenteja de semen fresco puro, sobre la platina térmica a 37° C, se evaluó a una escala subjetiva del 1 a 5 evaluando las ondas y oleaje espermático esto fue posible observándolas al microscopio con un lente de menor aumento y calificando el movimiento de 0 100%

b.- Motilidad individual: se coloca el semen fresco diluido en un suplemento caliente o solución salina fisiológica, se coloca una lamina cubre objetos y se mira a 20 X evaluando el porcentaje de espermatozoides móviles, movimiento hacia el frente, el número de espermatozoides con movimiento al frente se divide entre el número de células totales (móviles e inmóviles).(*Anexo 1*)

El examen consistió en evaluar el porcentaje de espermatozoides con:

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

Se anoto los conteos en porcentaje y en término de decenas, calificándolas de la siguiente manera:

10% Movilidad progresiva rápida

70% Movilidad progresiva lenta.

10% Movilidad en un mismo lugar.

10% Inertes.

La movilidad o motilidad total es la suma de la Movilidad progresiva rápida mas la Movilidad progresiva lenta, cabe destacar que esta es una valoración subjetiva basada en la experiencia del operador que realice la evaluación de las muestras seminales.

c.- Contaje espermático: Para el cálculo se utilizó el densímetro de Minitüb®, para lo cual se diluyó una muestra de semen 1:10 en SSF (solución salina fisiológica). y se agitó para homogenizar la dilución, luego se observó a tras luz el último valor del densímetro totalmente visible, posteriormente se dio lectura a la tabla Minitüb® para leer la densidad del eyaculado de toro.

El resultado al interpretar el densímetro en una colecta fue el valor de 90 con el factor de dilución 1:10 con una concentración de 150×10^6 por cada ml es decir (150000000 millones de espermatozoides por ml).

A continuación se esquematiza la tabla utilizada para calcular la concentración espermática, la ventaja de utilizar este aparato es la facilidad en función de tiempo y resultado inmediato con una precisión casi igual a la del fotómetro computarizado que también posee esta compañía (Minitüb®).

CUADRO 9.- Tabla del espermiodensímetro bovino.

Valor	FACTOR DE DILUCIÓN									
	0.1/10	0.2/10	0.3/10	0.4/10	0.5/10	0.6/10	0.7/10	0.8/10	0.9/10	1.0/10
95	1350	675	450	337	270	225	193	168	150	135
90	1500	750	500	375	300	250	214	187	167	150
85	1650	825	550	412	330	275	235	206	183	165
80	1800	900	600	450	360	300	257	225	200	180
75	1950	975	650	487	390	325	278	243	216	195
70	2100	1050	700	525	420	350	300	262	233	210
65	2500	1125	750	562	450	375	321	281	250	225
60	2450	1225	816	612	490	408	350	306	272	245
55	2650	1325	883	662	530	441	378	331	294	265
50	2950	1475	983	737	590	491	421	369	328	295
45	3350	1675	1116	837	670	558	478	418	372	335
40	3750	1875	1250	937	750	625	536	469	416	375
35	4250	2125	1416	1062	850	708	607	531	472	425
30	4850	2425	1616	1212	970	808	693	606	539	485
25	5550	2775	1850	1387	1110	925	793	694	617	555
20	6350	3175	2116	1787	1270	1058	907	794	705	635

Fuente: Guía de uso densímetro Minitüb®.

d.- Morfología: se examino en semen fresco y post descongelado. Evaluando el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos, anormalidades primarias y secundarias. Se colocó una placa porta objetos sobre la plancha térmica en la que se coloca una gota de eosina-nigrosina sobre un extremo de la placa luego se coloca una gota de semen al lado del colorante, se procedió a mezclar con movimientos oscilatorios suaves y con otra placa se realizo un frotis, se deja secar la muestra al ambiente y luego se observa al microscopio(40X–100X).

El contaje de 100 espermatozoides entre vivos y muertos dará el porcentaje de cada uno de ellos, solamente se tiñen los espermatozoides que están muertos al momento de tener contacto con el colorante, aquellos que estén vivos permanecen blancos y no se tiñen. Los primeros, muertos, si lo hacen ya que la alteración de su membrana plasmática permite al colorante ingresar en el interior de la célula.

e.- Test de hipoosmósis (HOST).

Se realizó la dilución del semen en un medio hipoosmótico de fructosa y citrato de sodio a (100 mOsm/ kg). En un tubo ensayo se coloco el contenido de 0.5 ml de esta solución entibiada durante 5 minutos más 0-1 ml de semen, fue llevada al baño María a 37 °C durante 20 minutos.

Pasado este tiempo se añadió a la muestra dos gotas de glutaldehido al 25% para fijar la muestra, se homogenizo y con una pipeta se tomo una pequeña muestra, se coloco en un porta objetos, se realizo un frotis y se observo al microscopio, se conto 200 células a 400X y se calculo el porcentaje. Los espermatozoides con colas enrolladas están vivos y están reaccionantes.

Cuantas más colas enrolladas mejor calidad y se expresaran en porcentajes, de acuerdo a los cambios morfológicos de la cola la valoración se realiza de la siguiente manera:

Negativo: Ningún cambio en la cola

Positivo: varios tipos de cambio en la cola, a mayor porcentaje de estos mayor será la calidad de la muestra, se considera normal una muestra de semen, si más del 60 % experimenta hinchazón de la cola y menos del 50 % es considerado anormal.

f.- Test de de resistencia osmótica (ORT).

Para examinar el acrosoma se utilizo la técnica de resistencia osmótica el cual consiste en someter al espermatozoide a un cambio brusco de presión aquellos espermatozoides con el acrosoma intacto no sufrirá ninguna alteración, a diferencia del alterado que se observara claramente deteriorado.se coloco la cantidad total de una pajuela en un tubo de ensayo que contenía la solución, una pequeña muestra es llevada al microscopio y se valora doscientas células que deben ser examinadas a 1000 aumento. El resultado de dicho test clasifica las dosis seminales en cinco categorías en función de su calidad

SEMEN FRESCO: Muy buenos > 71%, Buenos 64-71 %,Regulares: 54-63%,Malos: 45-53%, Muy malos: < 45%

3.- Diluyente, surfactante y congelación.

a.- Composición y preparación del diluyente Triladyl.

Composición:

Agua bidestilada 100 ml, glicerol al 6,4 %, Tris *, Acido cítrico*, Fructosa*, antibiótico, Tylosina5 mg, Gentamicina25 mg, Lincomicina15 mg

(* Cantidades no reveladas por los fabricantes. Sujetas a mantener la osmolaridad del producto).

b.- Preparación del diluyente Triladyl

Un frasco completo de diluyente (250 ml) se vacía en un matraz graduado y se mezcla con 750 ml de agua bidestilada calentada a 30 °C, debe agregarse 250 ml de yema de huevo, el diluyente se mezcle con el agitador hasta obtener una solución uniforme, por 15 minutos, luego se retira de la estufa y se procede a filtrar para luego ser almacenado en refrigeración hasta su utilización.

Se diluyo el semen con la solución preparada a temperatura ambiente o a 35 °C. esto se consiguió colocando en el vaso de precipitación sobre una gradilla inmersa en el baño María a 37 °C, en el cual se realiza la dilución completa del semen más cultivo de Triladyl

c.- Preparación del surfactante natural (aloe vera).

El Aloe Vera utilizado para adicionarlo al diluyente será obtenido de la Sábila común y será extraído por desangre de las hojas más próximas al suelo ya que es allí en donde se concentra la mayor cantidad de nutrientes.

Se preparó las soluciones de la forma siguiente:

- Aloe al 10 %.
- Aloe al 15%.
- Aloe al 25 %.

Se tomó 10 ml, 15 ml y 25 ml del extracto de Aloe y se combino con 100 ml de Agua bidestilada en un matraz para cada concentración. De esta manera podremos extraer todos los componentes beneficiosos del aloe vera las cuales son el objeto de nuestra investigación, luego se filtrara la muestra en papel filtro especial el mismo utilizado para filtrar el diluyente comercial, se adicionara el aloe vera en la concentración establecida para la investigación en el mismo instante de la colecta.

d.- Dilución y preparación del semen con diluyente Triladyl.

Inmediatamente de finiquitadas las pruebas de calidad seminal, se agregará al semen un diluyente que no solo sirve para incrementar el volumen del eyaculado, y así poder envasarlo sino que también posee sustancias tales como glicerol, nutrientes y antibióticos que brindan a los espermatozoides una protección durante las etapas de enfriado, congelación y descongelación y se inicia el proceso de descenso térmico y estabilización del semen que durará aproximadamente 4 horas. Al cabo de ese lapso, el semen diluido bajará su temperatura a 5° Celsius.

Durante las etapas de enfriado, congelación y descongelación se inicia el proceso de descenso térmico y estabilización del semen que durará aproximadamente 4 horas. Al cabo de ese lapso, el semen diluido bajará su temperatura a 5° Celsius.

Después de la colección del semen el eyaculado permaneció en baño María entre 35 a 36 °C, se diluyó el semen 1:1 con Triladyl a la misma temperatura a la misma temperatura en el envase de colección, añadiendo el diluyente con precaución lentamente.

Después el semen es trasladado a otro envase más grande para ser añadido la otra parte del diluyente previo cálculo de la dosis y diluyente final, de la misma manera se añadió el aloe vera en las concentraciones establecidas para cada tratamiento previo cálculo de la dosis de diluyente.

e.- Cálculo de dosis y dilución final.

Se trabajo con pajuelas de 0.50 ml con una concentración de espermatozoides de 20 millones. El cálculo de la dosis se realizo con la siguiente formula.

$$\text{Dosis: } \frac{\text{Volumen} \times \text{Concentración} \times \% \text{ Motilidad} \times \% \text{ Normalidad}}{\text{Número de espermatozoides viables por unidad.}}$$

Interpretando esta formula el proceso se desarrollo de la siguiente manera:

- Volumen: Cantidad (ml) de semen que quedan después de realizado las pruebas de evaluación.
- Concentración/ml: Número de espermatozoides por ml
- % Motilidad: se debe transformar el % en valor absoluto es decir si encontramos un 90% de motilidad el valor a ir en la formula será 0.90.
- % Normales: se obtiene restando el porcentaje de anormalidades encontradas del cien por ciento.
- Número de espermatozoides por dosis: en el caso de nuestra investigación utilizamos un aproximado de 20000000 de células espermáticas por dosis.(Lucero . I. 2009)

Para obtener la cantidad de diluyente necesario para procesar semen bovino se utiliza la siguiente fórmula:

Vm: (Número de dosis x volumen necesario por dosis) – volumen total de eyaculado

Interpretando esta fórmula se puede obtener la cantidad necesaria de diluyente, utilizando como ejemplo si tenemos 94 dosis de semen calculadas:

- Número de dosis: 94
- Volumen necesario por dosis: 0,50 porque quiero elaborar pajuelas de 0.50 ml.
- Volumen total de eyaculado 2.5 ml.

Vm: (94 x 0.50) – 2.5: 44.5 ml de diluyente para congelación.

Concluido este proceso se puede pasar a la siguiente etapa la cual es la de impresión de pajuelas, sellado y envaso de las dosis seminales de nuestra investigación.

f.- Llenado y sellado de pajuelas.

Con el semen estabilizado se paso al proceso de llenado y sellado de pajuelas, que se realiza siempre al ambiente climatizado a 5° a través de un flujo laminar que mantiene toda el habitáculo en el que trabaja la máquina llenadora a la misma temperatura durante todo el proceso.

La máquina llenadora es semi-automática envasa exactamente 0,5 mililitros por pajuela para esto utiliza una bomba de vacío regulable adaptada a una pequeña manguera que absorbe el semen diluido y luego de llenarlas es sellada por la misma máquina completando el cerrado hermético de la pajuela, dejándola en condiciones de ser congelada a través de vapor de nitrógeno. Posteriormente se retira las pajuelas de la máquina y se las colocó en un rack para 0.50 adaptado para 50, 100 pajuelas, esto se realizó dentro de una vitrina refrigeradora a 5 °C.

g.- congelamiento y almacenamiento en nitrógeno líquido.

Una vez terminado el envasado y sellado de las pajuelas y colocados en los rack de congelación se procedió a encender la máquina de congelamiento computarizada denominada CRIOCONSERVADOR ICE CUBE 15M-SY LAB, patentado de la compañía Mini Tübe. En el cual es programada la curva de congelamiento lo que nos garantizara un congelamiento uniforme.

Alcanzada la temperatura de 5 °C en el congelador automático las rack que contienen las pajuelas son traspasadas de la maquina refrigerada al CRIOCONSERVADOR ICE CUBE 15M-SY LAB dentro del cual la temperatura desciende de 10 a -25 °C en un tiempo de 5 minutos y luego desciende de -25 °C a -180°C en un tiempo de 10 a 20 minutos.

Concluido el congelamiento se ubico en el tanque de almacenamiento definitivo a una temperatura de (-196 °C). Terminado el procesamiento de semen se procede a evaluar la calidad del mismo 8 días después mínimo de haber sido almacenado, con las pruebas señaladas anteriormente, descongelando varias pajuelas a 37 °C por 30 segundos.

4.- Evaluación de la calidad seminal post descongelación.

a.- Contaje de espermatozoides vivos-muertos y anormales.

Se coloca en una porta objetos previamente calentados a 37°C dos gotas una eosina nigrosina y una de semen de una pajuela descongelada. Esto se realiza en un extremo y se homogeniza con otro porta objetos, se mantiene la misma temperatura por un lapso de 30 segundos, se homogeniza con precaución y se procede a realizar un frotis. De un total de 100 espermatozoides se anotan los que presentan anormalidades tanto primarias como secundarias y se expresa el resultado en forma de porcentaje. Un toro con más del 5 % de anormalidades primarias es de descarte.

b.- Test de hipoosmosis HOST a las cero post descongelación

Se realiza la dilución del semen en un medio hipoosmótico de fructosa y citrato de sodio a (100 mosm/kg). En un tubo de ensayo se coloca el contenido de 0.5 ml de esta solución entibiada durante 5 minutos, se procede a descongelar una pajuela y el contenido de la misma es colocada en el interior del tubo, se lleva a baño maría a 37 °C durante 20 a 30 minutos.

Con una pipeta se toma una pequeña muestra se coloca en un porta objetos, se realiza un frotis y se observa al microscopio, se cuentan 200 células y se calcula el porcentaje. Los espermatozoides con colas enrolladas están vivos y están reaccionante, cuanto más colas enredadas mejor calidad.

c.- Test de resistencia Osmótica ORT.

Se descongelo una pajuela de semen a 37°C por 30 segundos, la colocamos en un tubo de ensayo que contenga 3 ml de solución a 300 mOsm/Kg incubándolas en baño María durante 15 minutos. Se coloca la muestra en un porta objetos mezclándola bien y realizan un frotis. En esta prueba la membrana del acrosoma debe estar integra, se observa al microscopio la integridad del acrosoma de un aproximado de 100 espermatozoides contados en diferentes campos.

SEMEN POST DESCONGELADO: 0 hs: 50 % de acrosomas intactos

d.- Test de Termoresistencia (TTR)

Consiste en poner el semen a determinada temperatura e ir haciendo evaluaciones de motilidad a medida que pasa el tiempo. Para este procedimiento se toma tres tubos de ensayo, se coloca el contenido de una pajuela en cada tubo y se los lleva al baño María a 35 o 36 °C a la oscuridad y con agua no circulante. Las determinaciones de motilidad individual (técnica de motilidad individual) se la realizan a los 0, y 2 horas.

CAPITULO III

3.1.-RESULTADOS Y DISCUCIONES

Los resultados obtenidos en las características que identifican al semen antes de la congelación, en función de las 5 colectas. Se incluyen análisis estadísticos correspondientes a medidas de tendencia central y variación.

Se utilizo en esta investigación un Diseño completamente al azar (DCA), en el cual se comparo el efecto de la adición del aloe vera como surfactante natural al diluyente Triladyl para crioconservación de semen bovino en toros reproductores de AGSO-GENES.

El desarrollo del trabajo consistió de cuatro tratamientos en diferentes concentraciones (aloe vera al 10, 15 y 25%, y el cuarto tratamiento sin aloe vera), respectivamente, con 5 repeticiones por experimento, lo cual dio como resultado 20 unidades experimentales.

Los tratamientos establecidos fueron de:

TI = Aloe vera al 10 %

T2 = Aloe vera al 15 %

T3 = Aloe vera al 25%

T4 = Sin Aloe vera

Para la sistematización de la información se sometió a los tratamientos a un ANADEVA (análisis de varianza) para establecer si existe diferencia estadística y si encontráramos diferencias significativas se utilizo la prueba de DUNCAN para determinar que tratamiento es el mejor..

EVALUACIÓN DE SEMEN FRESCO.

CUADRO 1.- Características espermáticas antes de la congelación.

R	Vol. (ml)	C(esperm.ml)	M.M	M.	V	M	N	A	HOST	ORT
			(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
1	8	975000000	85	75	83	17	87	13	88	84
2	8,5	1050000000	80	90	75	25	92	8	92	88
3	14,8	1350000000	90	90	77	23	90	10	94	88
4	9,3	1500000000	85	85	78	22	89	11	94	85
5	10.5	900000000	90	80	80	20	94	6	93	87
X	10,22	1155000000	86	84	78,6	21,4	90,4	9,6	92,2	86,4
S	2,73	257633461	4,18	6,52	3,05	3,05	2,70	2,70	2,49	1,82
Cv	26,71	22,31	4,86	7,76	3,88	14.25	2,98	28,13	2,70	2,11

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

Vol. (ml)

Volumen.

M.M. (%)

Movimiento en masa.

M.I. (%)

Motilidad individual.

C. esperm.ml)

Concentración espermática.

V. (%)

Vivos.

M. (%)

Muertos.

N. (%)

Normales.

A. (%)

Anormales.

CUADRO 2.- Espermiograma y pruebas de HOST y ORT previa congelación.

VARIABLE SEMINAL	PROMEDIO ± D.E	COEFICIENTE DE VARIACION
VOLUMEN (ml)	10,22±2,73	26,71
MOTILIDAD MASAL (%)	86±4,18	4,86
MOTILIDAD INDIVIDUAL (%)	84±6,52	7,76
MORFOLOGIA NORMAL (%)	90,4±2,70	2,98
VITALIDAD (%)	78,6±3,05	3,88
CONCENTRACION ESPERMATICA (10⁹)	1155 ±257,6	22,31
RESPUESTA HOST (%)	92,2 ±2,49	2,70
RESPUESTA ORT (%)	86,4 ±1,82	2,11

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

En semen fresco previo a la dilución y procesamiento y congelamiento se obtuvo los siguientes promedios:

Volumen: 10,22; concentración: 1155000000; motilidad masal: 86 %; motilidad individual 84 %; espermatozoides normales 90,4 %; prueba de endosmósis HOST a las 2 horas de incubación 92.2 % y en la prueba de O.R.T a las 2 horas 86,4 %.

De acuerdo con estos resultados se evaluó y se comparó con los promedios normales estándar y establecidos.

El volumen del eyaculado promedio de un toro es de 12 ml de acuerdo con *Rutter, B. (2006)* y mínimo de 3 ml *Hafez (2000)*, comparado con lo obtenido 10,22±2,73 ml promedio, los datos obtenidos están dentro del parámetro normal.

La concentración espermática promedio registrada es de 1155 x 10⁹ ±257,6 espermatozoides/ ml, comparado con el citado por *Hafez (2000)* por centímetro cúbico de 1.8 x 10⁹ espermatozoides/ ml en toros adultos y el parámetro citado por *Russo A. (2006)* 1.3 x 10⁹ espermatozoides/ ml, en toros de raza Holstein Friesian es similar.

Rutter B. (2006). Señala que las características del semen para poder ser congelado deben poseer los siguientes valores para la motilidad de masa microscópica: ondas oscuras provocadas por un conjunto de remolinos que se organizan y se desorganizan valoradas como positivas (80 – 100%), relacionado con lo obtenido $86 \pm 4,18$; podemos observar que nos encontramos dentro de los parámetros normales.

Dentro de la motilidad individual se obtuvo un promedio de $84 \pm 6,52$, este valor es similar a lo citado por *Russo A. (2006)*, se evalúa a una escala subjetiva de 1 a 5 siendo el mas optimo $\geq 70 \%$.

El porcentaje de espermatozoides vivos $78,6 \pm 3,05$, es similar a lo descrito por *Hafez. (2000)*, señalando que valores sobre el 75% de espermatozoides vivos permiten estimar un eyaculado de buena calidad.

La morfología espermática normal obtenida es de $90,4 \pm 2,70$, de acuerdo a las evaluaciones morfológicas preparadas con frotis coloreados se considera un 70 % de espermatozoides normales como limite mínimo aceptable para seleccionar a un toro reproductor. *Vasquez, A. (2000)*.

En contraste las anormalidades del espermatozoide lo obtenido es de $9,6 \pm 2,70$ (Cuadro 1), según lo reportado por *Barrios, D. (2002)*, indica que una muestra seminal apta para la congelación no debe poseer defectos morfológicos mayores del 18 al 20%, las anormalidades primarias no deben superar el 5 %. Los defectos secundarios no están generalmente considerados como serios y no afectan la fertilidad a menos que un número mayor al 15 % este presente.

El promedio de hipoosmósis (HOST). Obtenido es de $92,2 \pm 2,49$ de acuerdo con *Camacho (2000)*, que a mayor porcentaje de espermatozoides positivos, o hinchamiento y enroscamiento de la cola mayor será la calidad de la muestra, pero se la considera normal si sobrepasa el 60 % y valores inferiores a 60 % se consideran como valores patológicos.

En la prueba de ORT se obtuvo el siguiente promedio: $86,4 \pm 1,82$, se encuentran en la categoría de muy buenos según valores para ORT *González, R. (2002)* clasifica los resultados en porcentajes de la siguiente manera.

Muy Buenos > 71%

Buenos 64- 71%

Regulares 54-63%

Malos 45-63%

Muy malos < 45%

Observando que los resultados obtenidos en la presente investigación están dentro de los parámetros estándares para procesar semen.

Los resultados obtenidos en las características que identifican al semen diluido, en función de las 5 colectas. Se incluyen análisis estadísticos correspondientes a medidas de tendencia central y variación

EVALUACIÓN SEMEN DILUIDO

CUADRO 3.- Motilidad espermática individual del semen diluido.

R	T1	T2	T3	T4
1	91	77	56	87
2	75	76	53	84
3	86	88	55	80
4	69	84	65	78
5	84	74	60	88
X	81	79,80	57,80	83,40
S	8,86	5,93	4,76	4,43
Cv	10,94	7,43	8,24	5,31

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

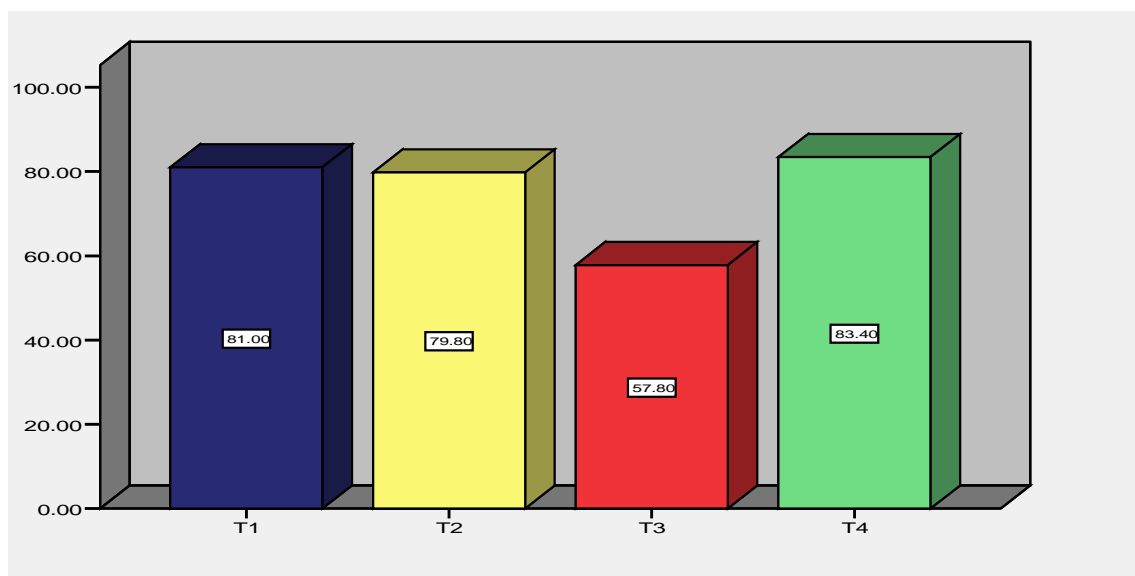
CUADRO 4.- Comparación de los resultados de Motilidad Individual en semen diluido en los 4 tratamientos.

Tratamientos	Motilidad individual
Triladyl Aloe vera 10 %	81
Triladyl Aloe vera 15 %	79,80
Triladyl aloe vera 25 %	57,80
Triladyl Testigo	83,40
Promedio	75,50
Desviación estándar	11,89
Coefficiente de variación	15,75

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

GRAFICO 1.- Porcentaje de motilidad individual comparación entre los cuatro tratamientos (Triladyl + aloe vera al 10%, 15%, 25% y Tratamiento testigo), para semen diluido.



FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

De acuerdo con las valoraciones realizadas en cada uno de los tratamientos fueron analizados según su motilidad obteniendo los siguientes resultados que se comparan con los estándares.

El porcentaje de la motilidad individual para el tratamientos Triladyl + aloe vera al 10% fue de 81%, mientras que para el tratamiento Triladyl + aloe vera al 15 % alcanzamos 79,80%, en el caso del tratamiento Triladyl + aloe vera al 25% encontramos el valor más bajo con 57,80%, y nuestra tratamiento testigo alcanzo 83,40% respectivamente y con un promedio total de 75,50%, comparado por lo señalado por *Palma, G. (2001)*, el cual indica que muestras con un promedio de 70% de espermatozoides con motilidad individual son considerados aptas para crioconservación.

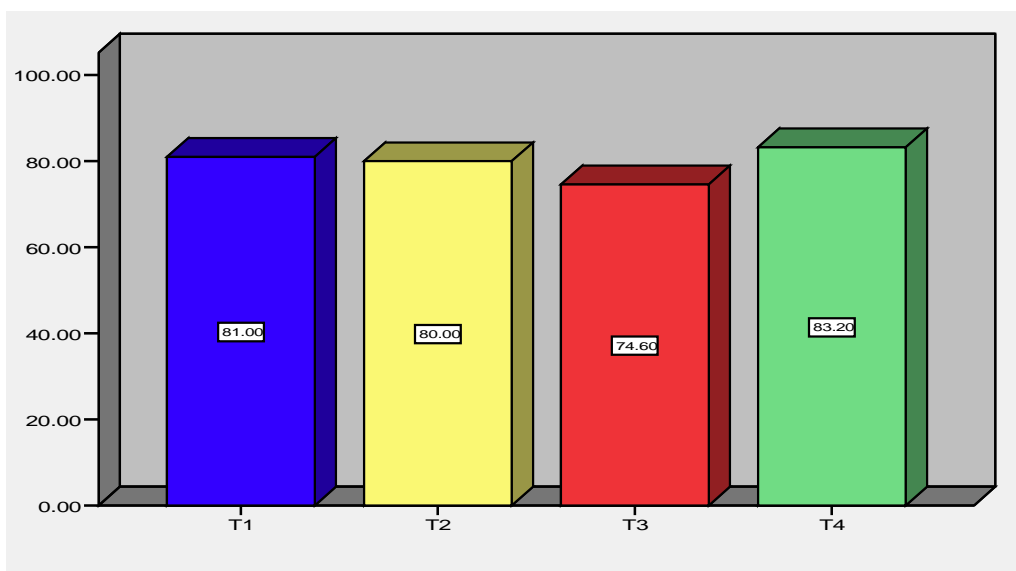
CUADRO 5.- Espermatozoides vivos antes de la congelación

R	%Vivos T1	% Vivos T2	% Vivos T3	% Vivos T4
1	78	84	76	84
2	82	78	73	86
3	85	76	77	82
4	86	82	69	76
5	74	80	78	88
Promedio	81	80	74,60	83,20
Desviación Estándar	5,00	3,16	3,64	4,60
coeficiente de Variación	6,17	3,95	4,87	5,52

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

Grafico 2.- Porcentaje de espermatozoides vivos antes de la congelación comparación entre los cuatro tratamientos en estudio.



FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

En la prueba de tinción vital de semen diluido se pudo establecer los siguientes resultados: T 1 (81%); T2 (80%); T 3 (74,60), de acuerdo con lo citado por *Rutter, B. (2006)*, aquellos espermios teñidos se contabilizados como muertos y los sin teñir como vivos. Se considera como valor mínimo aceptable, el 70 % de espermatozoides vivos, lo que es considerado como aceptable ya que el diluyente en estos tres tratamientos esta adisionado con aloe vera lo cual podría explicar la diferencia entre el tratamiento testigo T4 (83,20%), que fue quien presento mayor porcentaje de células espermáticas debido a que el diluyente no ha sido alterado en su composición.

C.- los resultados obtenidos en las características que identifican al semen diluido, en función de las 5 colectas. Se incluyen análisis estadísticos correspondientes a medidas de tendencia central y variación

EVALUACION DE SEMEN POST DESCONGELADO

CUADRO 6.- Motilidad espermática individual post descongelación

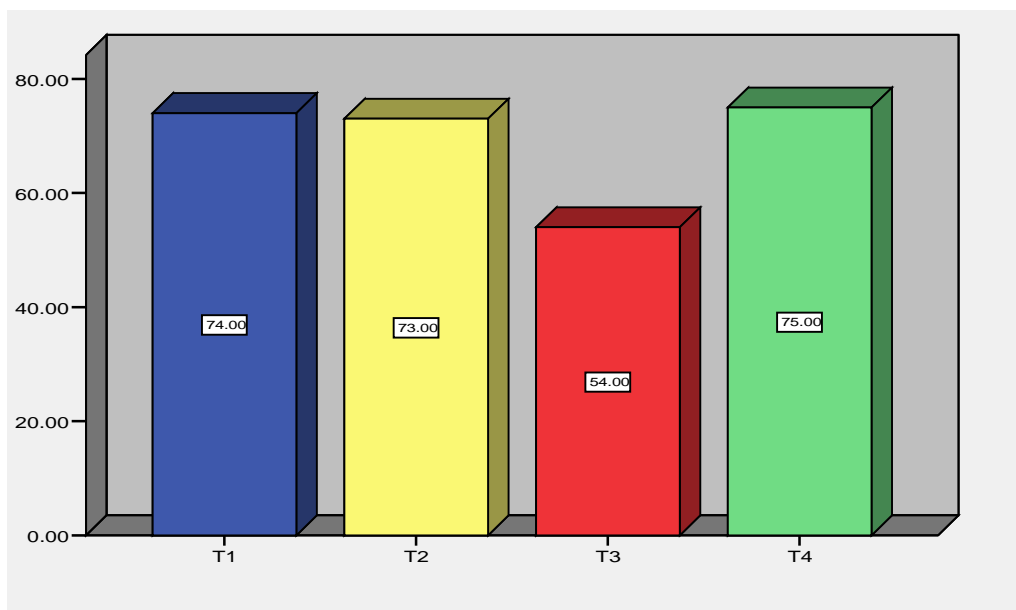
R	T1	T2	T3	T4
1	75	70	60	70
2	80	70	50	80
3	75	80	60	75
4	70	70	50	70
5	70	75	50	80
Promedio	74	73	54	75
Desviación estándar	4,18	4,47	5,48	5,47
Coefficiente de variación	5,64	6,12	10,14	7,29

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

En la valoración de la motilidad progresiva post descongelación es importante destacar que los coeficientes de variación presentados en el cuadro 6 para los cuatro tratamientos en estudios estadísticamente son considerados muy aceptables.

Grafico 3.- Porcentaje de motilidad espermática individual post descongelación, comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.



FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

El promedio de cada tratamiento (T1: 74; T2:73; T3: 54; T4: 75) esta considerado dentro de los parámetros según el *Departamento de Medicina del Rodeo y Teriogenología de la Universidad de Saskatchewan, Canadá (2007)* el semen descongelado a 37°C debe poseer un valor mínimo de 40% de espermatozoides motiles. De igual manera *Catena, M. (2004)*, destaca que un semen de buena calidad, que ha sido descongelado tiene normalmente 40% - 50% de espermatozoides con motilidad progresiva.Lo que nos indica que el resultado de los cuatro tratamientos está dentro de los parámetros especificados por los autores.

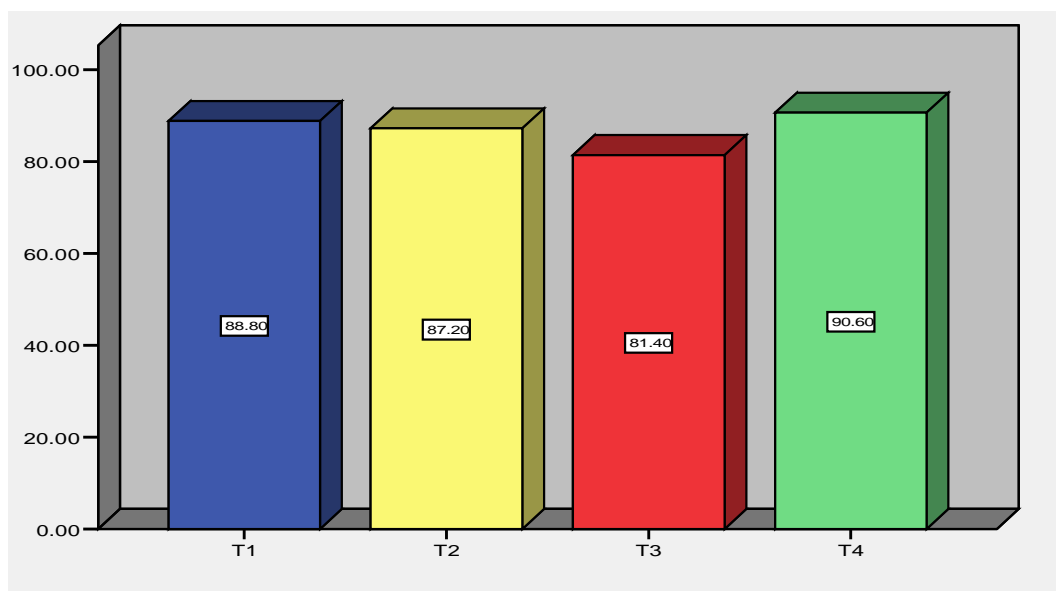
CUADRO 7.- Espermatozoides normales post descongelación

R	%Normales T1	%Normales T2	%Normales T3	%Normales T4
1	89	93	80	89
2	85	90	75	92
3	88	80	79	87
4	90	88	84	93
5	92	85	89	92
Promedio	88,8	87,2	81,4	90,6
Desviación Estándar	2,59	4,97	5,32	2,51
coeficiente de Variación	2,92	5,69	6,42	2,77

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

Gráfico 4.- Porcentaje de espermatozoides normales post descongelación comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.



FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

En el cuadro No 7 permite observar que T 4 (90,6 % \pm 2,51) es el mejor tratamiento de esta variable debido a que T 4 es el grupo testigo de esta investigación y por ende el diluyente utilizado no presenta ningún elemento diferente a su composición original, en segundo lugar encontramos al T 1 (88,8 % \pm 2,59) seguido estrechamente por T 2 (87,2 % \pm 4,97) y en cuarto lugar T 3 (81,4 % \pm 5,32) al comparar estos promedios con lo que señala *Catena, M. (2004)*, El valor mínimo tanto para congelación y post descongelación es de 70% de células normales lo que indica que estuvieron dentro de los parámetros aceptables.

Rodríguez (2000), señala que al evaluar la morfología post descongelación está correlacionada con la fertilidad del toro y debe ser igual que el semen fresco con un mínimo de espermatozoides normales del 70%. El resultado del porcentaje de espermatozoides normales obtenidos en los 4 tratamientos concuerda con los valores señalados por otros autores. Lo cual nos permitió considerar estas muestras de semen aceptables.

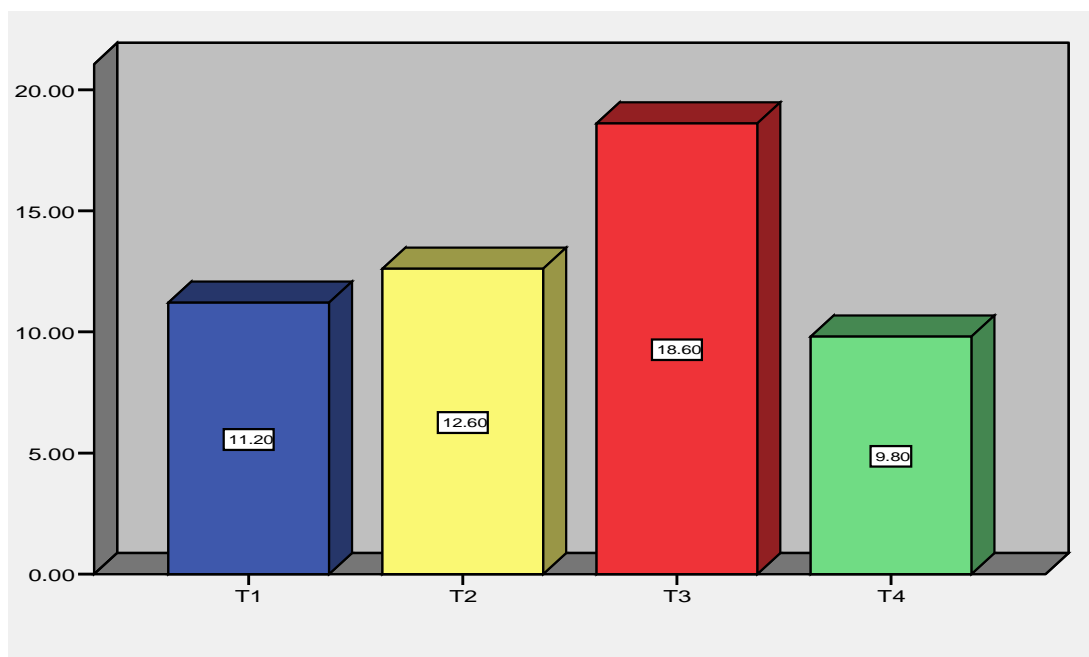
Cuadro 8.- Porcentaje de espermatozoides con anomalías primarias y secundarias post descongelación

R	% Anormalidades T1	% Anormalidades T2	% Anormalidades T3	% Anormalidades T4
1	11	7	20	11
2	15	10	25	8
3	12	20	21	13
4	10	11	16	7
5	8	15	11	10
Promedio	11,20	12,60	18,60	9,80
Desviación Estándar	2,59	5,03	5,32	2,39
coeficiente de Variación	23,13	39,92	28,60	24,39

FUENTE: Espinosa, Walter.

Elaboración: El autor

Grafico 5.- Porcentaje de espermatozoides anormales post descongelación comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.



FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

Los siguientes resultados de acuerdo al Cuadro 10 permite observar que T 4 (9,80% \pm 2,39) nuevamente es el mejor tratamiento de esta variable, seguidos por T1 (11,20% \pm 2,59) y T 2 (12,60% \pm 5,03), pero se pudo observar una diferencia muy notable para T 3 (18,60% \pm 5,32) lo que indica al comparar estos tratamientos con lo que señala *Hafez (2000)*, que el semen debe tener un máximo del 20 % de células anormales.

Por lo tanto los resultados en los tres tratamientos (T1; T2; T4), están en el promedio citados por el autor, pero T3 está casi sobre el limite pudiendo ser efecto del aloe vera en el diluyente utilizado para la congelación.

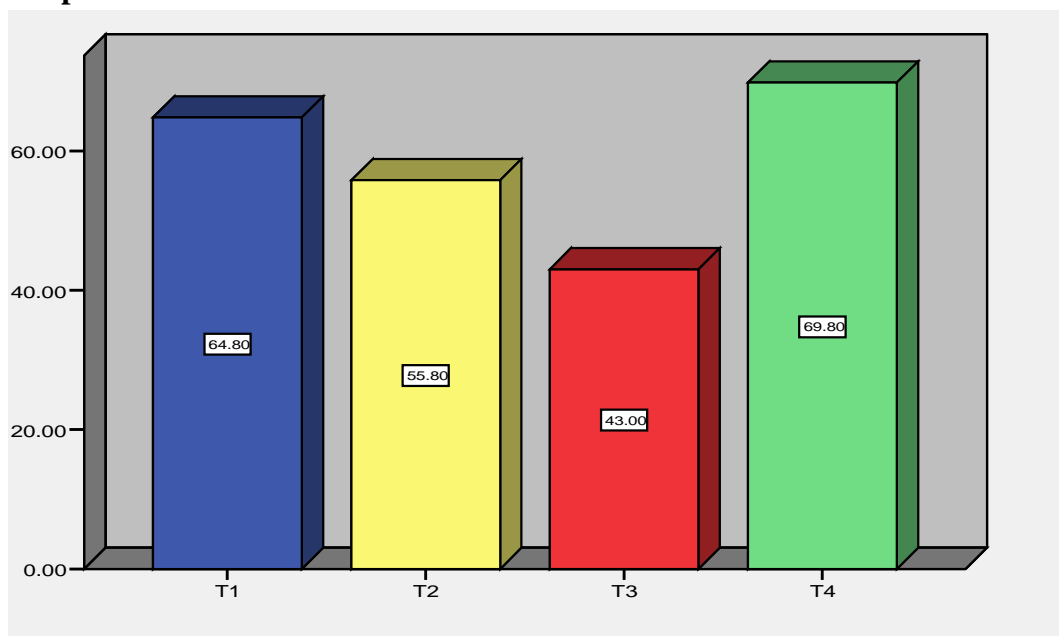
CUADRO 9.- Espermatozoides vivos post descongelación.

R	%Vivos T1	% Vivos T2	% Vivos T3	% Vivos T4
1	64	57	52	68
2	68	54	50	75
3	61	59	51	72
4	65	56	53	66
5	66	53	58	68
Promedio	64,80	55,80	50,8	69,80
Desviación Estándar	2,59	2,39	2,90	3,63
coeficiente de Variación	3,99	4,28	5,70	5,20

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

Grafico 6.- Porcentaje de espermatozoides vivos post descongelación, comparación entre los cuatro tratamientos en estudio.



FUENTE: Investigación directa

Elaboración: El autor

La vitalidad del semen post descongelado alcanzado en el estudio indica que el Tratamiento 1 (64,80% \pm 2,59) es el que presenta un valor mejor en comparación con T 2 (55,80 % \pm 2,39), mientras que T 3 (50,8% \pm 2,90) es el que menor número de espermatozoides vivos presenta, T 4 (69,80% \pm 3,63) por ser el grupo control presenta el mejor promedio de células espermáticas vivas, de acuerdo con lo referido por *Correa y Zavos (1997)* que cita que al descongelar una pajuela se espera que una tercera parte de los espermatozoides muera.

Esta más que demostrado que los procesos de congelación descongelación afectan en gran proporción al espermatozoide provocando daños irreversibles causando la muerte celular, un cierto número de espermatozoides mantiene su viabilidad, cuanto menos sean los espermatozoides viables para inseminar, mayor será el riesgo de una fertilidad disminuida *Rodríguez (2000)*.

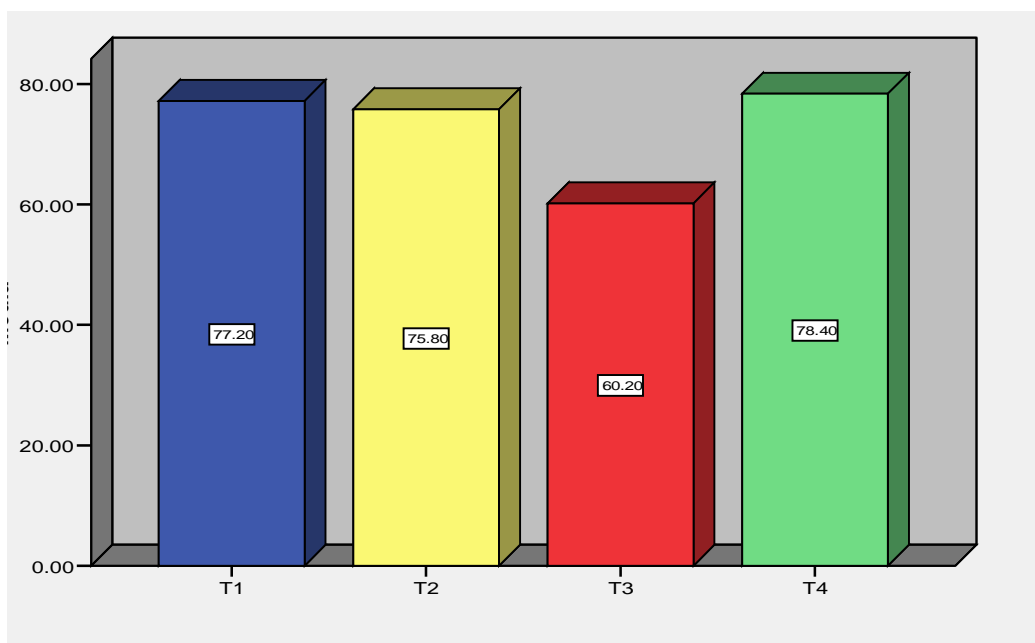
CUADRO 10.- Pruebas de HOST Y ORT post descongelación para los cuatro tratamientos en estudio.

	HOST O Horas				ORT O Horas			
	T 1	T2	T3	T4	T 1	T2	T3	T4
Repeticiones	%	%	%	%	%	%	%	%
1	74	75	57	81	73	74	55	83
2	77	74	58	77	76	73	57	77
3	74	78	60	80	82	76	63	74
4	80	77	61	73	80	78	68	82
5	81	75	65	81	79	76	64	81
Promedio	77,2	75,8	60,2	78,4	78	75,4	61,4	79,4
Desviación Estándar	3,27	1,64	3,11	3,44	3,54	1,95	5,32	3,78
coeficiente de Variación	4,23	2,16	5,17	4,39	4,54	2,59	8,7	4,76

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

Grafico 7.- Porcentaje de HOST para espermatozoides post descongelación, comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.



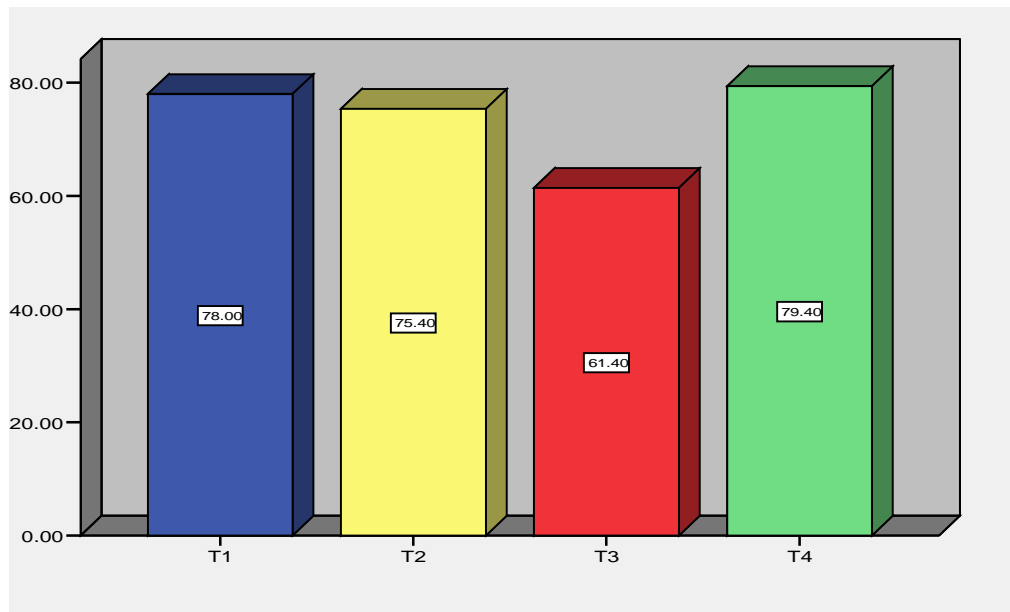
FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

El porcentaje de endósmosis (HOST) a las dos horas post descongelación se obtuvieron los siguientes datos: (77,2 % \pm 3,27 para T 1, 75,8% \pm 1,62 para T 2, 60,2% \pm 3,11 para T 3, 78,4% \pm 3,44), de acuerdo con lo encontrado por *Gonzales, R. (2002)*, a mayor porcentaje de espermatozoides reaccionantes mejor será la calidad de la muestra por lo tanto T 1 del grupo experimental se manifiesta como la mejor calidad de la muestra.

Comparado con *Madrid, et.al (2003)*, que obtuvo valores de endosmosis positiva que variaron entre 74,10% \pm 1,7 y 75,8% \pm 0,9 considerando el semen dicho estudio apto para inseminar, en nuestro estudio T 3 no se podría calificar apto para inseminar.

Grafico 8.- Porcentaje de HOST para espermatozoides post descongelación, comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.



FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

En el caso del test de resistencia osmótica los promedios obtenidos a las dos horas de incubación $78\% \pm 3,54$ para T1, $75,4\% \pm 1,95$ para T2, $61,4\% \pm 5,34$ para T 3, $79,4\% \pm 3,78$ para T4) según *Correa y Zavos (1997)* obtuvo un porcentaje de espermatozoides positivos a ORT o con acrosomas intactos, en un rango de 60 % - 68%, por lo tanto los valores obtenidos en este estudio están sobre el rango, calificando a las muestras como muy buenas.

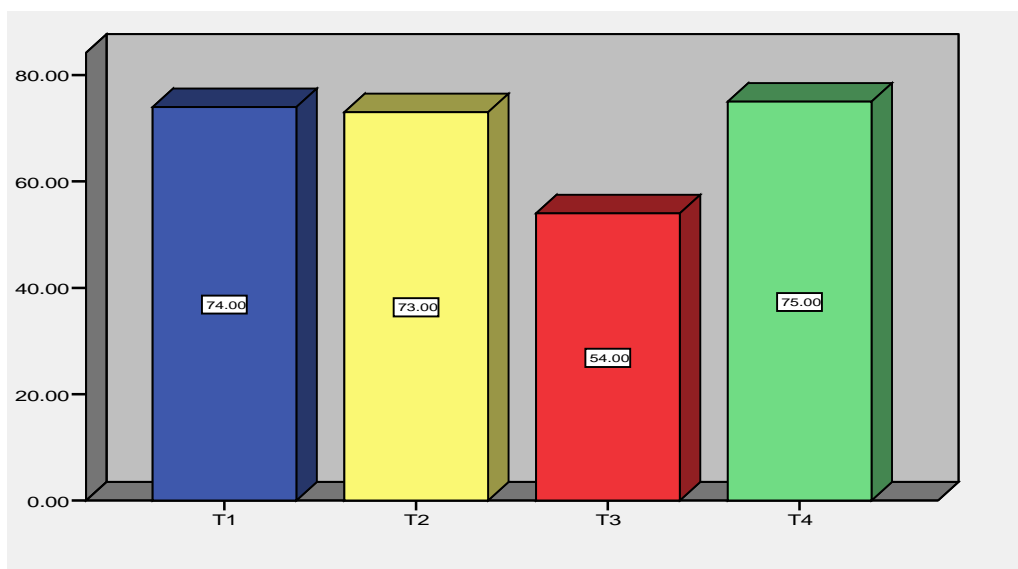
CUADRO 11.- Test de Termoresistencia para la motilidad progresiva post descongelación

		%MOTILIDAD PROGRESIVA			
R	T1	T2	T3	T4	
1	75	70	60	70	
2	80	70	50	80	
3	75	80	60	75	
4	70	70	50	70	
5	70	75	50	80	
Promedio	74	73	54	75	
Desviación estándar	4,18	4,47	5,48	5,47	
Coefficiente de variación	5,64	6,12	10,14	7,29	

FUENTE: Espinosa, Walter.

Elaboración: El autor

Gráfico 9.- Porcentaje de motilidad espermática individual en la prueba de termoresistencia, post descongelación, comparación entre los cuatro tratamientos de estudio.



FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

Se pudo apreciar que los valores de motilidad progresiva post descongelación a las cero horas señala como mejor promedio T 1 ($74\% \pm 4,18$), ligeramente superior a T 2 con ($73\% \pm 4,47$) y superando a T 3 ($54\% \pm 5,48$); indicando una similitud entre T1 y T2.

CUADRO 12.-Test de Termoresistencia para la motilidad progresiva a las 2 horas post descongelación

% Motilidad progresiva				
R	T1	T2	T3	T4
1	60	60	40	65
2	70	50	55	75
3	75	70	50	70
4	65	75	55	70
5	75	65	40	60
Promedio	64	58	48	63
Desviación estándar	4,18	5,70	7,58	2,73
Coefficiente de variación	6,53	9,82	15,79	4,33

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

Durante las dos horas post descongelación se obtuvo que el tratamiento 1 ($64\% \pm 4,18$), obtuvo mayor porcentaje de motilidad progresiva post descongelación, seguida de T2 ($58\% \pm 5,70$), y superando a T3 que presenta ($48\% \pm 7,58$), comparado con lo señalado por Hernández, et.al (1999), a medida que aumenta el tiempo de post descongelación disminuye la motilidad, encontrando que a las cero horas post descongelación obtuvo valores del 62% de motilidad progresiva y a las dos horas del 42,5%.

Por lo tanto los valores mencionados y obtenidos en este estudio están de acuerdo con valores promedio.

Cuadro 13.- Análisis de Varianza para la variable motilidad individual de semen diluido.

Bloques						
R	t1	t2	t3	t 4		
1	370	365	270	375		
fuentes de variación	Gl.	Sc	m	Fc	Fc Tabulado	
Tratamiento	3	2122,2	707,4		1%	5%
Error	16	614,8	38,425	18,4	5,19	3,13
Total	19	2737				

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

El análisis de varianza para el porcentaje de motilidad individual antes de la congelación demostró que existe diferencia estadísticamente significativa al comparar los cuatro tratamientos de estudio.

Cuadro 14.- Prueba de DUNCAN al 5% para la variable de motilidad individual de semen diluido antes de la congelación.

COMPARACIONES				
	2	3	4	
RMD (0.05)	2,99	3,14	3,23	
RMS	8,28	8,75	8,95	
TRATAMIENTO N°	T4	T1	T2	T3
X	83,4	81	79,8	57,8
	A	B	C	D

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

La prueba de DUNCAN demostró que si existe diferencia significativa al comparar los cuatro tratamientos, obteniendo el mayor promedio T4 con 83,4% de motilidad espermática del semen diluido, en tanto que en T3 obtuvo el menor promedio 57,8 % de motilidad espermática en semen diluido

Cuadro 15.- Análisis de varianza para la variable motilidad individual de semen post descongelado.

Bloques						
R	t1	t2	t3	t 4		
1	444	436	407	453		
fuentes de variación	Gl	Sc	Cm	Fc	Fc Tabulado	
Tratamiento	3	238	79,33		1%	5%
Error	16	264	17	4,66	5,19	3,13
Total	19	502				

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

El análisis de varianza para la motilidad del semen post descongelado no demostró diferencia significativa al 1%, pero al 5% si existe diferencia estadística al comparar los cuatro tratamientos en estudio.

Cuadro 16.- Prueba de DUNCAN al 5% para los tratamientos en la variable motilidad individual para semen post descongelado.

COMPARACIONES				
	2	3	4	
RMD (0.05)	2,99	3,14	3,23	
RMS	5,5	5,77	5,94	
TRATAMIENTO N°	T4	T1	T2	T3
X	75	74	73	54
	A	B	C	D

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

La prueba de DUNCAN demostró que si existe diferencia significativa al comparar los cuatro tratamientos, obteniendo el mayor promedio T4 con 75% de motilidad espermática del semen diluido, en tanto que en T3 obtuvo el menor promedio 54 % de motilidad espermática en semen diluido.

Cuadro 17.- Análisis de varianza para la variable porcentaje de espermatozoides normales post descongelación.

Bloques						
R	t1	t2	t3	t 4		
1	405	399	289	417		
fuentes de variación	Gl	Sc	Cm	Fc	Fc Tabulado	
Tratamiento	3	1510	503.33		1%	5%
Error	16	370	23.125	21,76	5,19	3,13
Total	19	1880				

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

El análisis de varianza para la motilidad del semen post descongelado no demostró diferencia significativa al comparar los cuatro tratamientos en estudio.

Cuadro 18.- Prueba de DUNCAN al 5% para los tratamientos en la variable de espermatozoidesnormales post descongelación.

COMPARACIONES				
	2	3	4	
RMD (0.05)	2,99	3,14	3,23	
RMS	6,43	6,71	6,94	
TRATAMIENTO N°	T4	T1	T2	T3
X	90,6	88,8	87,2	81,4
	A	B	C	D

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

La prueba de DUNCAN demostró que si existe diferencia significativa al comparar los cuatro tratamientos, obteniendo el mayor promedio T4 con 90,6 de motilidad espermática del semen diluido, en tanto que en T3 obtuvo el menor promedio 81,4 % de motilidad espermática en semen diluido.

Cuadro 19.- Análisis de varianza para la variable porcentaje de espermatozoides vivos post descongelación.

Bloques						
R	t1	t2	t3	t 4		
1	324	279	215	349		
fuentes de variación	Gl	Sc	Cm	Fc	Fc Tabulado	
Tratamiento	3	1105	368,33		1%	5%
Error	16	1222,2	7	50,28	5,19	3,13
Total	9	117,2				

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

El análisis de varianza para el porcentaje de espermatozoides vivos post descongelado demostró que si existe diferencia significativa al comparar los cuatro tratamientos en estudio.

Cuadro 20.- Prueba DUNCAN al 5% para los tratamientos en la variable porcentajes de espermatozoides vivos post descongelación.

COMPARACIONES				
	2	3	4	
RMD (0.05)	2,99	3,14	3,23	
RMS	3,52	3,7	3,81	
TRATAMIENTO N°	T4	T1	T2	T3
x	69,8	64,8	55,8	50,8
	A	B	C	D

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

La prueba de DUNCAN demostró que si existe diferencia significativa al comparar los cuatro tratamientos, obteniendo el mayor promedio T4 con 69,8 de motilidad espermática del semen diluido, en tanto que en T3 obtuvo el menor promedio 55,8 % de motilidad espermática en semen diluido

Cuadro 21.- Análisis de varianza para la variable HOST a las cero horas pos descongelación.

Bloques						
R	t1	t2	t3	t 4		
1	386	379	301	392		
fuentes de variacion	Gl	Sc	Cm	Fc	Fc Tabulado	
Tratamiento	3	1092,2	364,06		1%	5%
Error	16	139,6	8.725	41,72	5,19	3,13
Total	19	1231,8				

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

El análisis de varianza para el porcentaje de espermatozoides positivos a la prueba de HOST post descongelación demostró diferencia estadística significativa al comparar los cuatro tratamientos en estudio.

Cuadro 22.- Prueba de DUNCAN al 5% para la variable HOST a las cero horas pos descongelación.

COMPARACIONES				
	2	3	4	
RMD (0.05)	2,99	3,14	3,23	
RMS	3,95	4,14	4,26	
TRATAMIENTO N°	T4	T1	T2	T3
x	78,4	77,2	75,8	60,2
	A	B	C	D

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

La prueba de DUNCAN demostró que si existe diferencia significativa al comparar los cuatro tratamientos, obteniendo el mayor promedio T4 con 69,8 de motilidad espermática del semen diluido, en tanto que en T3 obtuvo el menor promedio 55,8 % de motilidad espermática en semen diluido

Cuadro 23.- Análisis de varianza para la variable ORT a las cero horas pos descongelación.

Bloques						
R	t1	t2	t3	t 4		
1	390	377	307	397		
fuentes de variacion	Gl	Sc	Cm	Fc	Fc Tabulado	
Tratamiento	3	1025,35	341,78		1%	5%
Error	16	235,6	14.725	23,2	5,19	3,13
Total	19	1260,95	4.725			

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

El análisis de varianza para el porcentaje de espermatozoides positivos a la prueba de HOST post descongelación demostró que si existe diferencia significativa al comparar los cuatro tratamientos en estudio.

Cuadro4.- Prueba de DUNCAN al 5% para la variable ORT a las cero horas post descongelación.

COMPARACIONES				
	2	3	4	
RMD (0.05)	2,99	3,14	3,23	
RMS	8,81	9,25	9,51	
TRATAMIENTO N°	T4	T1	T2	T3
X	79,4	78,4	61,4	61,4
	A	B	C	D

FUENTE: Investigación directa

Elaboración: Espinosa, Walter.

La prueba de DUNCAN demostró que si existe diferencia significativa al comparar los cuatro tratamientos, obteniendo el mayor promedio T4 con 769,4 de motilidad espermática del semen diluido, en tanto que en T3 obtuvo el menor promedio 61,4 % de motilidad espermática en semen diluido

COSTOS TOTAL TRATAMIENTO EFECTO DE LA ADICION DE UN SURFACTANTE NATURAL (ALOE VERA) AL DILUYENTE TRILADYL PARA CRIOCONSERVACION DE SEMEN BOVINO EN TOROS REPRODUCTORES DE AGSO-GENES, QUITO PICHINCHA

1. Costos variables (Dólares)

	Unidad	Número	Valor Unit	Valor Tratamiento
1.- Diluyente				
Triladyl	Frasco	4	60	240
Agua destilada	MI	750 (4 frascos)	48	12
Yema de huevo	MI	250	0.10	21
Alo Vera	MI	250	1	4
Subtotal 277				
2.- material de laboratorio				
Tinción Morfológica	Frasco	1	25	25
Cintas Ph	Unidad	10	0.20	2
Papel aluminio	Rollo	1	1	1
Para film	Rollo	1	5	5
Puntas micropipetas	Unidad	50	0.10	5
Subtotal 38 x 4 = 152				
3.- Material de vidrio				
Tubos de ensayo	Unidad	20	0.40	8
Porta objetos.	Unidad	60	0.10	6
Cubre objetos	Unidad	60	0.05	3
Cámara de leja	Unidad	25	0.75	18.75
Subtotal: 37.75 x 4= 151				
4.- Material de envasado y conservación				
Pajuelas Minitub 0.50 ml	Unidad	2000	0.10	200
Manguera de llenado	Unidad	40	0.10	4
Nitrógeno líquido	Kg	160	2.45	392
Subtotal:				596
SUBTOTAL COSTOS (DOLARES) \$ 1176				
IMPREVISTOS (10 %) \$ 117,60				
TOTAL				\$1293,60

COSTOS POR TRATAMIENTO TRILADYL MAS SURFACTANTE

NATURAL (ALOE VERA) TRATAMIENTO AL 10%

1. Costos variables (Dólares)

	Unidad	Número	Valor Unit	Valor Tratamiento
1.- Diluyente				
Triladyl	Frasco	1	60	60
Agua destilada	MI	750	12	12
Yema de huevo	MI	250	0.10	7
Alo Vera	MI	250	1	1
Subtotal			80	
2.- material de laboratorio				
Tinción Morfológica	Frasco	1	25	25
Cintas Ph	Unidad	10	0.20	2
Papel aluminio	Rollo	1	1	1
Para film	Rollo	1	5	5
Puntas micropipetas	Unidad	50	0.10	5
Subtotal		38		
3.- Material de vidrio				
Tubos de ensayo	Unidad	20	0.40	8
Porta objetos.	Unidad	60	0.10	6
Cubre objetos	Unidad	60	0.05	3
Cámara de leja	Unidad	25	0.75	18.75
Subtotal:			37.75	
4.- Material de envasado y conservación				
Pajuelas Minitub 0.50 ml	Unidad	540	0.10	54
Manguera de llenado	Unidad	40	0.10	4
Nitrógeno líquido	Kg	40	2.45	98
Subtotal:			154	
SUBTOTAL COSTOS (DOLARES)			\$ 311,50	
IMPREVISTOS (10 %)			\$ 31,15	
TOTAL			\$342,15	
TOTAL POR DOSIS			0.63 Cts.	

**COSTOS POR TRATAMIENTO TRILADYL MAS SURFACTANTE
NATURAL (ALOE VERA) TRATAMIENTO AL 15%**

1. Costos variables (Dólares)

	Unidad	Número	Valor Unit	Valor Tratamiento
1.- Diluyente				
Triladyl	Frasco	1	60	60
Agua destilada	MI	750	12	12
Yema de huevo	MI	250	0.10	7
Alo Vera	MI	250	1	1
Subtotal				80
2.- material de laboratorio				
Tinción Morfológica	Frasco	1	25	25
Cintas Ph	Unidad	10	0.20	2
Papel aluminio	Rollo	1	1	1
Para film	Rollo	1	5	5
Puntas micropipetas	Unidad	50	0.10	5
Subtotal				38
3.- Material de vidrio				
Tubos de ensayo	Unidad	20	0.40	8
Porta objetos.	Unidad	60	0.10	6
Cubre objetos	Unidad	60	0.05	3
Cámara de leja	Unidad	25	0.75	18.75
Subtotal:				37.75
4.- Material de envasado y conservación				
Pajuelas Minitub 0.50 ml	Unidad	514	0.10	51,40
Manguera de llenado	Unidad	40	0.10	4
Nitrógeno líquido	Kg	40	2.45	98
Subtotal:				153,40
SUBTOTAL COSTOS (DOLARES)		\$ 309,15		
IMPREVISTOS (10 %)		\$ 30,92		
TOTAL		\$340,10		
TOTAL POR DOSIS				0.66 Cts.

**COSTOS POR TRATAMIENTO TRILADYL MAS SURFACTANTE
NATURAL (ALOE VERA) TRATAMIENTO AL 25%**

1. Costos variables (Dólares)

	Unidad	Número	Valor Unit	Valor Tratamiento
1.- Diluyente				
Triladyl	Frasco	1	60	60
Agua destilada	MI	750	12	12
Yema de huevo	MI	250	0.10	7
Alo Vera	MI	250	1	1
Subtotal				80
2.- material de laboratorio				
Tinción Morfológica	Frasco	1	25	25
Cintas Ph	Unidad	10	0.20	2
Papel aluminio	Rollo	1	1	1
Para film	Rollo	1	5	5
Puntas micropipetas	Unidad	50	0.10	5
Subtotal				38
3.- Material de vidrio				
Tubos de ensayo	Unidad	20	0.40	8
Porta objetos.	Unidad	60	0.10	6
Cubre objetos	Unidad	60	0.05	3
Cámara de leja	Unidad	25	0.75	18.75
Subtotal:				37.75
4.- Material de envasado y conservación				
Pajuelas Minitub 0.50 ml	Unidad	281	0.10	28,10
Manguera de llenado	Unidad	40	0.10	4
Nitrógeno líquido	Kg	40	2.45	98
Subtotal:130,10				
SUBTOTAL COSTOS (DOLARES)			\$ 285,85	
IMPREVISTOS (10 %)			\$ 28,56	
TOTAL			\$314,15	
TOTAL POR DOSIS				1.12 Cts.

COSTOS POR TRATAMIENTO TRILADYL TRATAMIENTO TESTIGO

1. Costos variables (Dólares)

	Unidad	Número	Valor Unit	Valor Tratamiento
1.- Diluyente				
Triladyl	Frasco	1	60	60
Agua destilada	MI	750	12	12
Yema de huevo	MI	250	0.10	7
Subtotal			79	
2.- material de laboratorio				
Tinción Morfológica	Frasco	1	25	25
Cintas Ph	Unidad	10	0.20	2
Papel aluminio	Rollo	1	1	1
Para film	Rollo	1	5	5
Puntas micropipetas	Unidad	50	0.10	5
Subtotal			38	
3.- Material de vidrio				
Tubos de ensayo	Unidad	20	0.40	8
Porta objetos.	Unidad	60	0.10	6
Cubre objetos	Unidad	60	0.05	3
Cámara de leja	Unidad	25	0.75	18.75
Subtotal:			37.75	
4.- Material de envasado y conservación				
Pajuelas Minitub 0.50 ml	Unidad	500	0.10	50
Manguera de llenado	Unidad	40	0.10	4
Nitrógeno líquido	Kg	40	2.45	98
Subtotal:			152	
SUBTOTAL COSTOS (DOLARES)		\$ 306,75		
IMPREVISTOS (10 %)		\$ 30,67		
TOTAL		\$337,43		
TOTAL POR DOSIS				0.67 ctvs

CONCLUSIONES

- A. La adición de un surfactante natural al diluyente Triladyl (aloe vera), en concentraciones al 10 %, 15% y 25% no aumentaron los niveles de motilidad, no disminuyeron los porcentajes de mortalidad establecidos para el procesamiento y crioconservación de semen frente al tratamiento número cuatro que tuvo los mejores indicadores en las distintas variables esto debido a que su composición inicial no fue alterada.
- B. Cabe resaltar que él no superar al tratamiento testigo no significo que las dosis seminales procesadas con aloe vera no hayan sido aptas para el procesamiento y crioconservación de semen, los porcentajes de motilidad y mortalidad espermática están dentro de los parámetros citados por muchos autores, la causa de esta disminución podría ser efecto del aloe vera.
- C. En esta investigación en los tres tratamientos que se adiciono el aloe vera como surfactante natural existe dominancia porcentual de las variables antes mencionadas así: Triladyl + aloe vera al 10% es el tratamiento que mejor niveles de motilidad y mortalidad espermática obtuvo además de no observarse daños significativos en la integridad estructural de la membrana, seguido por el tratamiento Triladyl + aloe vera al 15 % y en tercer lugar Triladyl + aloe vera al 25%
- D. Los resultados de este estudio permiten destacar la importancia de la combinación de las pruebas de HOST, ORT, TTR, para la evaluación del semen fresco y post descongelado ya que estos estudios son buenos predictores de la fertilidad en los machos bovinos.
- E. El análisis de costos de elaboración de dosis seminales congeladas (pajuelas de 0.50 ml), para cada valor sin cargar el valor del semen en este estudio nos permite ver que los tratamientos con aloe vera son económicamente menos costosos, observándose que T1 (Triladyl + aloe

vera al 10%) alcanza los 0,63 centavos de dólares americanos por pajueta, T2 (Triladyl + aloe vera al 15%), 0,66 centavos de dólares americanos por pajueta mientras que T4 (Triladyl sin aloe vera), 67 centavos de dólares americanos por pajueta, esto debido a que el aloe vera aumenta el volumen del diluyente por lo que se obtienen más pajuelas por lote, el único inconveniente en costos fue el obtenido en T3 (Triladyl mas aloe vera al 25%) ya que aquí fue en donde se presento mayor problemas al envasado obteniendo menos muestras por lotes, alcanzando el costo de 1, 12 dólares por pajueta, debido al efecto de la alta concentración de aloe vera.

RECOMENDACIONES

1. Por la rápida carrera tecnológica futuros experimentos y estudios del semen requerirán de métodos más objetivos para la evaluación de características espermáticas, como asistentes de análisis de semen por computadora, que permitan evaluar varias condiciones intrínsecas del movimiento, amplitud, dirección, desplazamiento, velocidades, etc.
2. Recomendamos que para poder demostrar el verdadero potencial reproductivo de estas muestras procesadas con aloe vera en las distintas concentraciones, se pase al siguiente paso que es la inseminación artificial ya que de esta manera podremos conocer realmente si la fertilidad del semen no se vio alterada. Como muchos autores definen a las valoraciones seminales como un pronóstico de la capacidad fertilizante de un macho, la única manera de comprobar esta capacidad es el número de preñeces que alcancemos.
3. Es una buena alternativa el uso de este tipo de compuestos naturales especialmente el aloe vera por sus innumerables propiedades benéficas, en el caso de haber sido utilizado como un aditivo para el diluyente Triladyl y de no haber alterado significativamente las muestras seminales nos indica el grado de confianza que nos brinda en nuestra investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. ALBARRAN I, GONZALES E, Y CALDERON R.. Inseminación artificial y Andrología Veterinaria. Tomo I, La Habana, Editorial “Félix Varela”, 2001. Pág. 80-86.1 ISBN: 968-24-4648-1
2. BARTH, Albert, BO, Gabriel, TRIBULO, Humberto. Curso de evaluación de toros y control de la calidad seminal: 16 al 19 de Agosto del 2000. 1 ed. Córdoba (Argentina). Universidad católica de Córdoba, 2000. 3-10, 55 p.
3. BRITO, L.F.C., SILVA, A. E. D. F., RODRIGUEZ, L. H., VIEIRA, F.V., DERAGON, L.A. G., KASTELIC, J. P., effect of age and genetic group on characteristics of the scrotum, testes and testicular vascular cones, and on sperm production and semen quality in AI bulls in Brazil. Theriogenology 58 (2002) 1175-1186 p.
4. C.HELLEMANN,. Efecto de un surfactante sobre la integridad de espermatozoides ovinos crioconservados. 2008
5. CAMPOS GAONA, Rómulo. Reproducción animal. 2 ed. Santa Fe de Bogota: Unisur, 1996. 5-14 p.
6. SANCHEZ CARVAJAL. Crioconservación de semen bovino usando un crioconservador programable y determinación de su calidad post descongelación. 2007. Pg. 75 -86 ISSN 0121-3739.

7. GALINA, CARLOS. Reproducción de animales domésticos, tercera edición, editorial Limusa , 2008. Pág 70,73,75,120,122,123. ISBN: 13: 978-968-18-7132
8. GONZÁLES CARLOS. Reproducción Bovina. Venezuela primera edición, Editorial Astro Data, 2001, pág., 205-2011. ISBN 980-296-826-0.
9. GOBELLO C. La Fertilidad del reproductor determinado en los Toros de Manada, Editorial Gráfica Latina S.A. Buenos Aires. Pg. 17-26
10. HAFEZ. ESE. Reproducción e Inseminación artificial en animales. México D.F séptima edición.. Editorial McGraw-Hill. México. 2002, Pág. 40-45. ISBN 970-10-3719-7
11. HERMANN, et. al. The artificial inseminations and embryo transfer of dairy and beef cattle. Eighth editon, Illinois, Interstate Publishers, Inc. Pg. 75
12. HOLY, L. Bases biológicas de la reproducción bovina 1. ed. México: Editorial Diana. 238, 330 y 401 p.
13. LUCERO. I, Modulo de crioconservación de semen bovino Uiversidad Central Del Ecuador “Evaluación y procesamiento del semen”. Pg. 10-30

14. MUÑOZ, M. Y PAUCAR N,. Comparación de tres diluyentes para semen bovino. Tesis Med. Vet. Quito. Universidad Central, Facultad de Medicina Veterinaria. 2005. Pág. 35,42,90-107.
15. PALMA GUSTAVO, Biotecnología de la reproducción, primera edición, Argentina, Editorial INTA, 2001, pág.23-25. ISBN: 987-43-3779-6
16. FERNANDEZ DE CÓRDOVA Y DE LA BARRERA, LUIS. Reproducción aplicada en el ganado bovino lechero. Segunda edición. México. Editorial Trillas, 2009. Pág. 15-17 ISBN: 978-607-0033-9
17. :
18. OLGA ROIG.” ALOE VERA”. Primera edición. Editorial De Vecchi 2009 ISBN 788431540784
19. PALOMINO. L. 2001 Conservación del semen caprino en diluyentes yema citrato y leche descremada. Revista Veterinaria Perú. Vol 12. Pg. 3-10
20. ROBLES, M. El proceso de reproducción Animal. Primera edición, Editorial Universidad de Cuenca, 2002, pg. 89-142
21. RUTTER BRUNO, Bases para la Evaluación de la aptitud Reproductiva del Toro. Segunda edición. Buenos Aires, Editorial Agro-Vet, 2006, págs. 113-135. ISBN 950-9763-42-X
22. RUSSO ANGEL. Evaluación Reproductiva del Toro, Segunda edición. Buenos Aires, Editorial Agro-Vet, págs. 67-75. ISBN 978-950-9763-42-5.

23. SALISBURY, GW. Y VAN DERMARK N. L. AND LODGET J. R.
Fisiología de la Reproducción e inseminación artificial de los bovinos. Ed.
W.H Freeman and company (USA). 1974. 250-252, 283

24. STEVENS NEIL. Aloe Vera. Virtudes y cualidades de una planta
milagrosa. Editorial Sirio. España 2003. ISBN 9788497770330

25. STORNELLI . Evaluación, Crioconservación de semen, inseminación
artificial en el bovino. Pg. 208-213.

26. UNGERFELD RODOLFO. Reproducción de los animales domésticos,
Tomo I. Ediciones Melibea. Uruguay, 2001. ISBN 997465923

INTERNET

- a) http://www.produccionbovina.com/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/45-mantenimiento_semen_congelado.pdf **30/05/2011 11:30 am**
- b) <http://www.reprobovitec.com/gustavo-palma-malformaciones-espermatocitos-primarias-secundarias>**30/06/2011 11:30 am**
- c) <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=89611108>**30/05/2011 12:0 pm.**
- d) <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/7791/ACTUALIDAD/suplementacion-crioprotector-trealosa-mejora-conservacion-semen-bovino.html> **28/06/2011 10:00 am**
- e) <http://www.visionchamanica.com/Plantas/sabila.htm> **01/06/2011 15:00 pm**
- f) <http://www.conciencia-animal.cl/paginas/temas/temas.php?d=753>**01/06/2011 14:00 pm**
- g) <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/730/73000311.pdf>**05/07/2011 16:00 pm**
- h) <http://ccbolgroup.com/teasaponina.html>**06/07/2011 13:00 pm**
- i) <http://www.latinpedia.net/Ciencia/animal/Examen-de-la-calidad-del-semen-para-su-uso-en-inseminacion-artificial-ad498.htm>**06/07/2011 14:00 pm**
- j) <http://www.agrarias.unlz.edu.ar/files/anatomia/programas.htm> **06/08/2011 13:00 pm**
- k) http://www.minitube.cl/var/StorageMinitube/Datenblaetter/13500-0250_Triladyl_es_101109.pdf**19/09/2011 11:00 am**

- l) http://www.produccion_animal.com.ar/informacion_tecnica/inseminacion_artificial/05-evaluacion_de_semen_bovino_congelado.htm 20/09/2011 10:45 am
- m) <http://www.tesis.ufm.edu.gt/pdf/2482.pdf> (beneficios del gel de ALOE VERA), 21-09-2011-18:00 pm.
- n) <http://www.prodiversitas.bioetica.org/aloe.htm> 21-09-2011-18:00 pm.
- o) <http://www.aloe-vera.es/blog/diferentes-tecnicas-de-conservacion-del-aloe-vera/21-09-2011-18:00> pm.
- p) <http://ria.asturias.es/RIA/bitstream/123456789/192/1/analisis%20semen%20bovino.pdf> 23/09/2011 15:30 pm
- q) http://mundopecuario.com/tema252/reproduccion_bovinos/tecnicas_conservacion_semen-1506.html **07-11-2011 13:15 pm**
- r) <http://www.buenastareas.com/ensayos/Congelaci%C3%B3n-De-Semen-Bovino/1535355.html>**07-11-2011 13:15 pm**
- s) <http://eprints.ucm.es/tesis/19911996/D/2/AD2002401.pdf> **08-11-2011 19:30 pm**

ANEXO 1

EVALUACION DE SEMEN FRESCO

Fecha de colecta: 14/ 06/2011

Hora de colecta: 9:00 am

Toro: Perico

Método de colecta: Vagina artificial

Raza: Pizán

		REPETICIONES
Características		
Concentración		975000000
Volumen		8 ml
Color		Blanco cremoso
pH		7
Olor		Típico
Motilidad en masa		
0	Sin movimiento	
1	Ligera ondulación comienzo de movimiento	
2	Progresión lenta comienzo de movimiento	
3	Movimiento progresivo continuo	
4	Movimiento progresivo rápido	
5	Movimiento progresivo muy rápido	85%
Motilidad individual		
Muy bueno	80-100	
Bueno	79-60	75%
Regular	59-40	
Malo	39-0	
Porcentaje espermatozoides vivos		83%
espermatozoides muertos		17%
prueba de HOST		88%
prueba de ORT		84%

ANEXO 2

EVALUACION DE SEMEN FRESCO

Fecha de colecta: 07/ 07/2011
Hora de colecta: 9:00 am
Toro: Inquieto
Método de colecta: Vagina artificial
Raza: Holstein

		REPETICIONES
Características		
Concentración		1050000000
Volumen		8,5 ml
Color		Blanco cremoso
pH		7
Olor		Típico
Motilidad en masa		
0	Sin movimiento	
1	Ligera ondulación comienzo de movimiento	
2	Progresión lenta comienzo de movimiento	
3	Movimiento progresivo continuo	
4	Movimiento progresivo rápido	
5	Movimiento progresivo muy rápido	85%
Motilidad individual		
Muy bueno	80-100	
Bueno	79-60	75%
Regular	59-40	
Malo	39-0	
Porcentaje espermatozoides vivos		75%
espermatozoides muertos		25%
prueba de HOST		88%
prueba de ORT		85%

ANEXO 3

EVALUACION DE SEMEN FRESCO

Fecha de colecta: 19/ 09/2011

Hora de colecta: 9:00 am

Toro: Angelino - red

Método de colecta: Vagina artificial

Raza: Holstein

		REPETICIONES
Características		
Concentración		1350000000
Volumen		14,8 ml
Color		Blanco cremoso
pH		7
Olor		Típico
Motilidad en masa		
	0 Sin movimiento	
	1 Ligera ondulación comienzo de movimiento	
	2 Progresión lenta comienzo de movimiento	
	3 Movimiento progresivo continuo	
	4 Movimiento progresivo rápido	
	5 Movimiento progresivo muy rápido	80%
Motilidad individual		
Muy bueno	80-100	90%
Bueno	79-60	
Regular	59-40	
Malo	39-0	
Porcentaje espermatozoides vivos		77%
espermatozoides muertos		23%
prueba de HOST		94%
prueba de ORT		88%

ANEXO 4

EVALUACION DE SEMEN FRESCO

Fecha de colecta: 29/ 09/2011

Hora de colecta: 9:00 am

Toro: Perico

Método de colecta: Vagina artificial

Raza: Pizán

		REPETICIONES
Características		
Concentración		1500000000
Volumen		9.3 ml
Color		Blanco cremoso
pH		7
Olor		Típico
Motilidad en masa		
0	Sin movimiento	
1	Ligera ondulación comienzo de movimiento	
2	Progresión lenta comienzo de movimiento	
3	Movimiento progresivo continuo	
4	Movimiento progresivo rápido	
5	Movimiento progresivo muy rápido	85%
Motilidad individual		
Muy bueno	80-100	
Bueno	79-60	75%
Regular	59-40	
Malo	39-0	
Porcentaje espermatozoides vivos		78%
espermatozoides muertos		22%
prueba de HOST		94%
prueba de ORT		85%

ANEXO 5

EVALUACION DE SEMEN FRESCO

Fecha de colecta:20/ 10/2011
Hora de colecta:9:00 am
Toro:Perico
Método de colecta: Vagina artificial
Raza:Pizan

		REPETICIONES
Características		
Concentración		900000000
Volumen		10,5 ml
Color		Blanco cremoso
pH		7
Olor		Típico
Motilidad en masa		
	0 Sin movimiento	
	1 Ligera ondulación comienzo de movimiento	
	2 Progresión lenta comienzo de movimiento	
	3 Movimiento progresivo continuo	
	4 Movimiento progresivo rápido	
	5 Movimiento progresivo muy rápido	90%
Motilidad individual		
Muy bueno	80-100	80%
Bueno	79-60	
Regular	59-40	
Malo	39-0	
Porcentaje espermatozoides vivos		80%
espermatozoides muertos		20%
prueba de HOST		93%
prueba de ORT		87%

ANEXO 6

ESPERMIOGRAMA DE SEMEN FRESCO

	NUMERO DE COLECTA				
ESPERMATOZOIDES EVALUADOS	1	2	3	4	5
100					
ANORMALIDADES PRIMARIAS					
Cola enrollada alrededor de la cabeza	-	-	-	-	-
Defectos en la cabeza: Pequeña Larga Estrecha	-	-	-	-	-
ANORMALIDADES SECUNDARIAS	-	-	-	-	-
Colas dobladas	6	8	3	6	3
Cabezas perdidas	4	4	4	3	2
Con gota citoplasmática	3	2	3	2	1
Total:	13	16	10	11	6
Total%	13%	16%	10%	11%	6%

ANEXO 7

ESPERMIOGRAMA DE SEMEN FRESCO

	NUMERO DE COLECTA				
ESPERMATOZOIDES EVALUADOS	1	2	3	4	5
100					
ANORMALIDADES PRIMARIAS					
Cola enrollada alrededor de la cabeza	-	-	-	-	-
Defectos en la cabeza: Pequeña Larga Estrecha	-	-	-	-	-
ANORMALIDADES SECUNDARIAS	-	-	-	-	-
Colas dobladas	3	4	17	7	11
Cabezas perdidas	3	4	2	3	2
Con gota citoplasmática	1	2	1	1	2
Total:	11	15	20	11	15
Total%	11%	15%	12%	11%	15%

ANEXO 8

ESPERMIOGRAMA DE SEMEN FRESCO

	NUMERO DE COLECTA				
ESPERMATOZOIDES EVALUADOS	1	2	3	4	5
100					
ANORMALIDADES PRIMARIAS					
Cola enrollada alrededor de la cabeza	-	-	-	-	-
Defectos en la cabeza: Pequeña Larga Estrecha	-	-	-	-	-
ANORMALIDADES SECUNDARIAS	-	-	-	-	-
Colas dobladas	6	8	3	6	3
Cabezas perdidas	4	4	4	3	2
Con gota citoplasmática	3	2	3	2	1
Total:	13	16	10	11	6
Total%	13%	16%	10%	11%	6%

ANEXO 9

ESPERMIOGRAMA DE SEMEN FRESCO

	NUMERO DE COLECTA				
ESPERMATOZOIDES EVALUADOS	1	2	3	4	5
100					
ANORMALIDADES PRIMARIAS					
Cola enrollada alrededor de la cabeza	-	-	-	-	-
Defectos en la cabeza: Pequeña Larga Estrecha	-	-	-	-	-
ANORMALIDADES SECUNDARIAS	-	-	-	-	-
Colas dobladas	17	22	18	16	9
Cabezas perdidas	3	2	1	-	1
Con gota citoplasmática	-	1	3	-	1
Total:	20	25	21	16	11
Total%	20%	25%	21%	16%	11%

ANEXO 10

ESPERMIOGRAMA DE SEMEN FRESCO

	NUMERO DE COLECTA				
ESPERMATOZOIDES EVALUADOS	1	2	3	4	5
100					
ANORMALIDADES PRIMARIAS					
Cola enrollada alrededor de la cabeza	-	-	-	-	-
Defectos en la cabeza: Pequeña Larga Estrecha	-	-	-	-	-
ANORMALIDADES SECUNDARIAS	-	-	-	-	-
Colas dobladas	9	8	3	6	3
Cabezas perdidas	2	4	4	3	2
Con gota citoplasmática	-	2	3	2	1
Total:	11	16	10	11	6
Total%	11%	16%	10%	11%	6%

ANEXO 11

FORMULARIO DE PROCESAMIENTO DE SEMEN

Nombre del macho: Perico

No de colecta: 1

CARACTERISTICAS	Tratamiento 10%	Tratamiento 15%	Tratamiento 25%	Tratamiento Testigo
Volumen eyaculado (ml)	2	2	2	2
No pajuelas calculadas	72	72	72	72
Volumen diluyente (ml)	36	36	36	36
Volumen aloe vera (ml)	3,6	5,4	9	-----
No pajuelas Producidas	70	72	48	72

Nombre del macho: Inquieto

No de colecta: 2

CARACTERISTICAS	Tratamiento 10%	Tratamiento 15%	Tratamiento 25%	Tratamiento Testigo
Volumen eyaculado (ml)	2,5	2	2	2
No pajuelas calculadas	94	75	75	75
Volumen diluyente (ml)	47	38	38	38
Volumen aloe vera (ml)	4,7	5,7	9,1	-----
No pajuelas Producidas	90	72	52	72

Nombre del macho: Angelino-Red

No de colecta: 3

CARACTERISTICAS	Tratamiento 10%	Tratamiento 15%	Tratamiento 25%	Tratamiento Testigo
Volumen eyaculado (ml)	3,5	3,5	3,5	3,5
No pajuelas calculadas	170	170	170	170
Volumen diluyente (ml)	85	85	85	85
Volumen aloe vera (ml)	8,5	12,75	21,25	-----
No pajuelas Producidas	160	158	85	164

Nombre del macho: Angelino-Red

No de colecta: 4

CARACTERISTICAS	Tratamiento 10%	Tratamiento 15%	Tratamiento 25%	Tratamiento Testigo
Volumen eyaculado (ml)	2,5	2,5	2	2
No pajuelas calculadas	142	142	113	113
Volumen diluyente (ml)	71	71	57	57
Volumen aloe vera (ml)	7,1	10,65	14,25	-----
No pajuelas Producidas	132	126	56	102

Nombre del macho: Perico

No de colecta: 5

CARACTERISTICAS	Tratamiento 10%	Tratamiento 15%	Tratamiento 25%	Tratamiento Testigo
Volumen eyaculado (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5
No pajuelas calculadas	95	95	95	95
Volumen diluyente (ml)	48	48	48	48
Volumen aloe vera (ml)	4,8	7,2	12	-----
No pajuelas Producidas	88	86	40	90

ANEXO 12

TOTAL PROCESAMIENTO DE SEMEN

Total colectas	5
Total volumen eyaculado	51,1 ml
Total volumen diluyente	1094 ml
Total volumen Aloe vera	136 ml
Total numero de pajuelas calculadas	2177
Total pajuelas producidas por diluyente	1835

Fuente: Investigación directa

Elaboración: El autor.

ANEXO 12.1

TOTAL PROCESAMIENTO DE SEMEN TRILADYL + ALOE VERA AL 10%

CARACTERISTICAS	Tratamiento 10%
Volumen eyaculado (ml)	13
No pajuelas calculadas	573
Volumen diluyente (ml)	287
Volumen aloe vera (ml)	28,7
No pajuelas Producidas	540

Fuente: Investigación directa

Elaboración: El autor

ANEXO 12.2

TOTAL PROCESAMIENTO DE SEMEN TRILADYL + ALOE VERA AL 15%

CARACTERISTICAS	Tratamiento 10%
Volumen eyaculado (ml)	12,5
No pajuelas calculadas	554
Volumen diluyente (ml)	278
Volumen aloe vera (ml)	41,7
No pajuelas Producidas	514

Fuente: Investigación directa

Elaboración: El autor.

ANEXO 12.3

TOTAL PROCESAMIENTO DE SEMEN TRILADYL + ALOE VERA AL 25%

CARACTERISTICAS	Tratamiento 25%
Volumen eyaculado (ml)	12
No pajuelas calculadas	525
Volumen diluyente (ml)	264
Volumen aloe vera (ml)	65,6
No pajuelas Producidas	281

Fuente: Investigación directa

Elaboración: El autor.

ANEXO 12.4

TOTAL PROCESAMIENTO DE SEMEN TRILADYL SIN ALOE VERA

CARACTERISTICAS	Tratamiento sin aloe vera
Volumen eyaculado (ml)	12
No pajuelas calculadas	525
Volumen diluyente (ml)	264
Volumen aloe vera (ml)	----
No pajuelas Producidas	500

Fuente: Investigación directa

Elaboración: El autor

ANEXO 13

EXAMEN DEL POTENCIAL REPRODUCTIVO DEL MACHO

Lugar y fecha: Guamaní 1 de junio de 2011.

1.- Reseña.

Nombre del toro: PERICO.

Especie: Bovina

Propietario: AGSO-GENES

Raza: Pizán

Dirección: Panamericana sur Km 12 ½

Fecha de nacimiento: 26-04-2010

Ubicación: Quito

2.- Anamnesis

Procedencia: Salcedo “CADER”

Fecha ultima monta natural: nunca realizo monta natural

Fecha ultima extracción de semen: 20-05-2011

Medicamentos aplicados antes de la fecha: Levamisol

Comportamiento sexual: Activo.

Alimentación: Avena y forraje, suplemento balanceado

Concepciones conocidas: ninguna

Numero de saltos o colectas durante el último año: 3 saltos.

3.- Datos clínicos

a.- Estado general:

Muy bueno **XX**

Regular

Malo

Condición corporal: 1 2 3 4 5

b.- Ojos:

Normales: **xx**

Anormales

Adherencia entre glande y prepucio: ninguna
Observaciones: examen de trichomonas negativo

Pene

Superficie:

Ampollas: no

Vesículas: no

Laceraciones: no

Normal: si

Movilidad: normal

Desviación: no

Corto: no

Escroto

Desplazabilidad: si

Tamaño: normal

Consistencia: normal

Circunferencia escrotal: 34 cm

Defectos: ninguno

Estado de la piel: sana

Testículos

Simetría: si

Asimetría: no

Epidídimos

Simetría: si

Asimetría: no

Sensibilidad: no

Consistencia: normal

Duro:

Blando:

Elástico

Colas

Simetría: si

Asimetría: no

Sensibilidad: no

Consistencia: normal

Duro:

Blando:

Elástico:

Cuerpo y Cabeza

Simetría: si

Asimetría: no

Sensibilidad: no

Consistencia: normal

Conductos deferentes

Intacto: derecho si, izquierdo si.

Consistencia: normal

Examen rectal

Vesículas seminales

Anchura: normal.

Longitud: normal

Abscesos: no

Adherencias: no

Otras alteraciones: no

i.- Análisis para enfermedades infecciosas: se adjunta certificados de laboratorio clínico Veterinario.

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

ANEXO 14

EXAMEN DEL POTENCIAL REPRODUCTIVO DEL MACHO

Lugar y fecha: Guamaní 15 de junio de 2011.

1.- Reseña.

Nombre del toro: INQUIETO.

Especie: Bovina

Propietario: Universidad Central del Ecuador

Raza: HolsteinFriesian

Dirección: Panamericana sur Km 12 ½

Fecha de nacimiento: 16-07-2008

Ubicación: Quito

2.- Anamnesis

Procedencia

Fecha ultima monta natural: nunca realizo monta natural

Fecha ultima extracción de semen: 17-06-2011

Medicamentos aplicados antes de la fecha: Levamisol

Comportamiento sexual: Activo.

Alimentación: Avena y forraje, suplemento balanceado

Concepciones conocidas: ninguna

Numero de saltos o colectas durante el último año: 6 saltos.

3.- Datos clínicos

a.- Estado general:

Muy bueno **XX**

Regular

Malo

Condición corporal: 1 2 3 4 5

b.- Ojos:

Normales: **xx**

Anormales

Mucosas: normales

Pene

Superficie:

Ampollas: no

Vesículas: no

Laceraciones: no

Normal: si

Movilidad: normal

Desviación: no

Corto: no

Escroto

Desplazabilidad: si

Tamaño: normal

Consistencia: normal

Circunferencia escrotal: 36 cm

Defectos: ninguno

Estado de la piel: sana

Testículos

Simetría: si

Asimetría: no

Epidídimos

Simetría: si

Asimetría: no

Sensibilidad: no

Consistencia: normal

Duro:

Blando:

Elástico

Colas

Simetría: si

Asimetría: no

Sensibilidad: no

Consistencia: normal

Duro:

Blando:

Elástico:

Cuerpo y Cabeza

Simetría: si

Asimetría: no

Sensibilidad: no

Consistencia: normal

Conductos deferentes

Intacto: derecho si, izquierdo si.

Consistencia: normal

Examen rectal

Vesículas seminales

Anchura: normal.

Longitud: normal

Abscesos: no

Adherencias: no

Otras alteraciones: no

i.- Análisis para enfermedades infecciosas: se adjunta certificados de laboratorio clínico Veterinario.

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

ANEXO 15

EXAMEN DEL POTENCIAL REPRODUCTIVO DEL MACHO

Lugar y fecha: Guamaní 2 de julio de 2011.

1.- Reseña.

Nombre del toro: Angelino-Red.

Especie: Bovina

Propietario: AGSO-GENES

Raza: HolsteinFriesian factor rojo

Dirección: Panamericana sur Km 12 ½

Fecha de nacimiento: 17-03-2009

Ubicación: Machachi

2.- Anamnesis

Procedencia:

Fecha ultima monta natural: nunca realizo monta natural

Fecha ultima extracción de semen: 17-08-2010

Medicamentos aplicados antes de la fecha: Levamisol

Comportamiento sexual: Activo.

Alimentación: Avena y forraje, suplemento balanceado

Concepciones conocidas: ninguna

Numero de saltos o colectas durante el último año: 4 saltos.

3.- Datos clínicos

a.- Estado general:

Muy bueno **XX**

Regular

Malo

Condición corporal: 1 2 3 4 5

b.- Ojos:

Normales: **xx**

Anormales

Mucosas: normales

Pene

Superficie:

Ampollas: no

Vesículas: no

Laceraciones: no

Normal: si

Movilidad: normal

Desviación: no

Corto: no

Escroto

Desplazabilidad: si

Tamaño: normal

Consistencia: normal

Circunferencia escrotal: 39 cm

Defectos: ninguno

Estado de la piel: sana

Testículos

Simetría: si

Asimetría: no

Epidídimos

Simetría: si

Asimetría: no

Sensibilidad: no

Consistencia: normal

Duro:

Blando:

Elástico

Colas

Simetría: si

Asimetría: no

Sensibilidad: no

Consistencia: normal

Duro:

Blando:

Elástico:

Cuerpo y Cabeza

Simetría: si

Asimetría: no

Sensibilidad: no

Consistencia: normal

Conductos deferentes

Intacto: derecho si, izquierdo si.

Consistencia: normal

Examen rectal

Vesículas seminales

Anchura: normal.

Longitud: normal

Abscesos: no

Adherencias: no

Otras alteraciones: no

i.- Análisis para enfermedades infecciosas: se adjunta certificados de laboratorio clínico Veterinario.

Fuente: Investigación directa

Elaborado por: El autor

IMAGEN 1.- Elaboración del diluyente Triladyl, Laboratorio AGSO-GENES 2011



IMAGEN 2.- Colecta del semental “PERICO”, AGSO-GENES 2011”



IMAGEN 3.-Ultima colecta toro “PERICO” AGSO-GENES 2011



IMAGEN 4.- Determinación espermática toro PERICO a través del espermiodensímetro, AGSO-GENES 2011.



IMAGEN 5.- Adición del aloe vera al diluyente Triladyl



IMAGEN 6.- Valoraciones microscópicas del semen diluido de las muestras procesadas.



IMAGEN 7.- Colecta de ANGELINO-RED, AGSO GENES 2011.



IMAGEN 8.- Colecta toro “INQUIETO”.



IMAGEN 9.- Valoraciones microscópicas del semen post descongelación de las muestras procesadas.



IMAGEN 10.- Tratamientos de Triladyl mas aloe vera en las tres concentraciones antes y después de la dilución final.

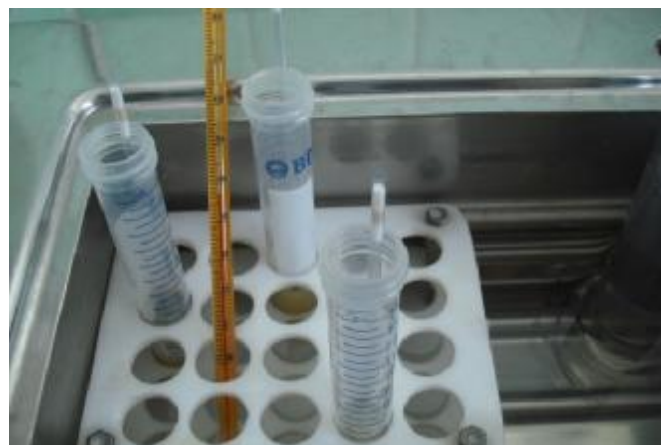




IMAGEN 11.- Envasado y sellado de pajuelas.



IMAGEN 12.- Lotes listos para congelación



IMAGEN 13.- Congelación varios lotes.



IMAGEN 14.- Visita presidente de tribunal UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI, 28 de Octubre de 2011

Dr. Juan Vargas (Director AGSO-GENES), Dr. Víctor Pallango (Presidente tribunal), Egresado MVZ. Walter Espinosa.

