

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI



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

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

Tesis de grado previo a la obtención del título medico veterinario

zootecnista

TEMA:

**“EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS SEMINALES
EPIDÍDIMIARIOS POST-MORTEN EN LA ESPECIE BOVINA EN
LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI CAMPUS SALACHE”**

AUTOR:

Naranjo Avila Paúl Eduardo

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Edwin Orlando Pino Panchi

LATACUNGA –ECUADOR

2015

AUTORÍA

Yo, Naranjo Avila Paul Eduardo, portador de la Cédula de Identidad N°160064165-6, libre y voluntariamente declara que la tesis titulada, **“EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS SEMINALES EPIDÍMIARIOS POST-MORTEN EN LA ESPECIE BOVINA EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI CAMPUS SALACHE.”**, es original, auténtica y personal. En tal virtud declara que el contenido será de exclusiva responsabilidad del autor legal y académico, autoriza la reproducción total y parcial siempre y cuando se les cite al autor del presente documento.



Naranjo Avila Paúl Eduardo

160064165-6

AUTOR

AVAL DEL DIRECTOR

En calidad de director de tesis de grado titulada "EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS SEMINALES EPIDÍMIARIOS POST-MORTEN EN LA ESPECIE BOVINA EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI CAMPUS SALACHE." presentada por el estudiante Paúl Eduardo Naranjo Avila portador de la Cédula de Identidad N° 160064165-6 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 méritos suficientes para ser sometido a defensa de tesis.



DIRECTOR DE TESIS

Dr. Edwin Orlando Pino Panchi
C.I 050229598-3

AVAL DE MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Cumpliendo con el Reglamento del Curso Profesional de la Universidad Técnica de Cotopaxi, en calidad de Miembros de tribunal de la Tesis con el Tema: **“EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS SEMINALES EPIDÍMIARIOS POST-MORTEN EN LA ESPECIE BOVINA EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI CAMPUS SALACHE.”** propuesto por el egresado Paúl Eduardo Naranjo Avila, presentamos el Aval Correspondiente al presente trabajo, certificando que se ha realizado las respectivas revisiones, correcciones y aprobaciones del presente documento. Por lo antes expuesto se autoriza realizar los empastados correspondientes según la normativa institucional.

Revisado por:

Dr. Xavier Cristobal Quishpe Mendoza. Mg



Dr. Miguel Ángel Gutierrez Reinoso



Dr. Luis Alonzo Chicaiza Sanchez



DEDICATORIA

A Dios por brindarme la vida y los conocimientos que me han compartido mis docentes en este lapso de tiempo Universitario transcurrido, enseñanzas y experiencias únicas que se han presentado.

A mi familia especialmente a mis padres Raúl Naranjo Quinteros y Rosa Avila Calle, que son mi vida entera, gracias a su apoyo económico y moral pude culminar con mis estudios universitarios con éxito.

A mis hermanos David Naranjo y Paola Naranjo por su apoyo y cariño, por compartir desde que nacimos y luchamos juntos lo bueno y malo que la vida nos ha dado.

Al Dr. Edwin Pino, por su apoyo como Director de Tesis, pues me enseñó las pautas y brindó sus consejos durante la realización de este trabajo.

A mi novia que ha estado conmigo incondicionalmente motivándome para poder culminar con mi carrera universitaria.

A mi ta Margaritha Avila y sus hijos Jeovani y Paola mi familia que comparten su tiempo conmigo.

A mis tios Ruben Naranjo y Gloria Vargas y sus hijos Eddy, Brigeth, Edwin, Elvis primos de corazón.

Con mucho cariño para todos.

Paúl Eduardo Naranjo Avila

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por otorgarme la oportunidad de estudiar en esta prestigiosa Universidad y formar parte de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A los Señores (as) docentes de la UA- CAREN, por su dedicación en la noble labor de educar a los estudiantes.

Al Dr. Edwin Pino, por su invaluable contribución de conocimientos para la realización del presente trabajo de investigación en calidad de director de tesis.

A los docentes Dr. Xavier Quishpe, y Dr. Alonzo Chicaiza por su importante colaboración, aporte en la supervisión y calificación del presente estudio.

Al Dr. Miguel Gutierrez por su relevante colaboración en la estructuración, validación y análisis de los resultados obtenidos en la presente investigación.

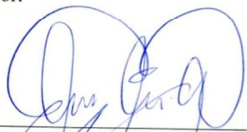
Agradezco a Dios por otorgarme la oportunidad de estudiar en esta prestigiosa Universidad y formar parte de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

A la Dra. Claudia por colaborar en el Camal Frigorífico Ambato ubicado en el parque industrial de la ciudad de Ambato.

Paúl Eduardo Naranjo Avila

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA

Los criterios emitidos en este trabajo de investigación, como también el contenido, ideas, análisis, conclusión y propuestas son de exclusiva responsabilidad del autor.



Paul Eduardo Naranjo Avila
C.I. 160064165-6

PRELIMINARES

Portada	
Autoría.....	ii
Aval del director.....	iii
Aval de los miembros de tribunal.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
Declaración expresa.....	vii
Preliminares.....	viii
Índice de contenido.....	ix
Índice de cuadros.....	xi
Índice de gráficos.....	xii
Índice de tablas.....	xiii
Índice de anexos.....	xiv
Índice de fotos.....	xv
Resumen.....	xvii
Abstract.....	xix
Aval de traducción.....	xxi
Introducción.....	xxii

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	1
1.1.1. Anatomía del Testículo	1
1.2. El Epidídimo	3
1.2.1. Anatomía del Epidídimo	3
1.2.2. Funciones del Epidídimo	4
1.2.3. Concentración	6
1.2.4. Almacenamiento	7
1.2.5. Maduración	8
1.4. Semen Epididimario	15
1.4.1. Definición de Espermatozoide	15
1.4.3. Técnicas de evaluación de la calidad semen	18
1.4.5. Volumen	19
1.4.6. Aspecto	19
1.4.9. pH	21
1.4.10. Cuerpos extraños	21
1.5. Pruebas Microscópicas	21
1.5.1. Motilidad en masa microscópica	22
1.5.2. Motilidad individual microscópica	22
1.5.3. Densidad	23
1.5.5. Evaluación de la morfología espermática	28
1.5.6. Concentración espermática	28
1.5.7. Hemocitómetro o cámara de newbauer	29
2. MATERIALES Y MÉTODOS	36
2.1.3. Situación geográfica	37
2.3. TIPO DE INVESTIGACIÓN	40
2.3.1. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	40
2.3.1.1. Investigación Descriptiva	40

2.3.2. METODOLOGÍA	41
2.3.2.1. <i>Investigación no experimental</i>	41
2.3.3. Métodos	41
2.3.3.1. <i>Inductivo</i>	41
2.3.3.2. <i>Deductivo</i>	41
2.3.3.3. <i>Técnicas</i>	42
2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	42
2.4.1. <i>Estadística Descriptiva para cada variable.</i>	42
2.4.2. <i>Unidad de estudio</i>	42
2.5.1. <i>Evaluación macroscópica del semen epididimario.</i>	44
2.5.2. <i>Evaluación microscópica del semen epididimario.</i>	44
2.5.3. <i>Morfometría testicular post-mortem.</i>	44
2.6. EVALUACIÓN ESPERMÁTICA	45
2.6.1. <i>Examen macroscópico</i>	45
2.6.2. <i>Recolección de espermatozoides epididimarios mediante desmenuzamiento</i>	45
2.6.2. <i>Evaluación microscópica</i>	46
2.6.3. <i>Morfología</i>	47
2.6.4. <i>Morfometría testicular post-mortem</i>	48
3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	49
3.1. <i>Registro de la información morfométrica del testículo</i>	49
3.2. <i>Características microscópicas evaluadas</i>	54
RECOMENDACIONES	65

ÍNDICE DE CUADROS

<i>Cuadro N°1. Concentración espermática en toros adultos.....</i>	<i>30</i>
<i>Cuadro N°2. Características morfométricas de testículos y colas epididimaria.....</i>	<i>31</i>
<i>Cuadro N°3. Evaluación subjetiva de la densidad.....</i>	<i>41</i>
<i>Cuadro N°4. Aspecto del eyaculado correlacionado a la concentración.....</i>	<i>42</i>
<i>Cuadro N°5. Escala de la motilidad en masa microscópica.....</i>	<i>45</i>
<i>Cuadro N°6. Escala basada en el porcentaje de células móviles.....</i>	<i>46</i>
<i>Cuadro N° 7. Escala de valores en densidad del espermatozoide y Correlación entre concentración y densidad.....</i>	<i>47</i>
<i>Cuadro N°8. Valoración de la motilidad masal macroscópica.....</i>	<i>47</i>
<i>Cuadro N° 9. Escala de la motilidad en masa microscópica.....</i>	<i>49</i>
<i>Cuadro N°10. Parámetros de aceptabilidad seminal.....</i>	<i>57</i>
<i>Cuadro N°11. Resultados macroscópicos de la Motilidad espermática en masa del fluido epididimario post-morten de la especie bovina.....</i>	<i>74</i>
<i>Cuadro N°12. Volumen, color, olor y Ph del fluido epididimario post-morten en la especie bovina.....</i>	<i>78</i>

ÍNDICE DE GRÁFICOS

<i>Grafico 1. Partes anatomicas del epididimo.....</i>	<i>27</i>
<i>Grafico2. Espermatogénesis y sus fases, tipos celulares que aparecen secuencialmente.....</i>	<i>36</i>
<i>Grafico 3. Estructura del espermatozoide.....</i>	<i>39</i>
<i>Grafico 4. Movimiento en masa de los espermatozoides.....</i>	<i>48</i>
<i>Grafico 5. Evaluación de la motilidad individual.....</i>	<i>50</i>
<i>Grafico 6. Hemocitómetro o camara de newbauer.....</i>	<i>52</i>
<i>Grafico 7. Conteo de espermatozoides con la camara de newbauer.....</i>	<i>52</i>
<i>Grafico 8. Anormalidades frecuentes de los espermatozoides.....</i>	<i>57</i>
<i>Grafico N° 9. Morfometría Testicular.....</i>	<i>72</i>
<i>Grafico N° 10. Medida del testículo.....</i>	<i>73</i>
<i>Grafico N° 11. Porcentaje de espermatozoides vivos y muertos.....</i>	<i>76</i>
<i>Grafico N° 12. Motilidad y Mortalidad en masa de lo espermatozoides del Epidídimo.....</i>	<i>80</i>

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla N°1.- Morfometria del testículo.....</i>	<i>71</i>
<i>Tabla N°2.- Porcentaje de Espermatozoides vivos y muertos obtenidos del fluido epididimario post-morten en la especie bovina.....</i>	<i>76</i>
<i>Tabla N°3.- Concentración, motilidad, y mortalidad espermática epididimaria.....</i>	<i>80</i>

ÍNDICE DE ANEXOS

<i>ANEXO N° 1.- Los registros de las actividades del muestreo en los diferentes grupos en el siguiente cuadro.....</i>	<i>94</i>
<i>ANEXO N° 2.- Formulario de inspección antemortem en mataderos.....</i>	<i>95</i>
<i>ANEXO N° 3.- Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.....</i>	<i>96</i>
<i>ANEXO N° 4.- Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.....</i>	<i>97</i>
<i>ANEXO N° 5.- Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.....</i>	<i>98</i>
<i>ANEXO N° 6.- Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.....</i>	<i>99</i>
<i>ANEXO N° 7.- Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.....</i>	<i>100</i>
<i>ANEXO N° 8.- Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.....</i>	<i>101</i>
<i>ANEXO N° 9.- Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.....</i>	<i>102</i>
<i>ANEXO N° 10.- Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.....</i>	<i>103</i>
<i>ANEXO N° 11.- Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.....</i>	<i>104</i>
<i>ANEXO N° 12.- Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.....</i>	<i>105</i>

ÍNDICE DE FOTOS

<i>FOTO N° 1.- Instalaciones del camal de Frigorico de la Ciudad de Ambato.....</i>	<i>104</i>
<i>FOTO N° 2.- Animales ingresando al matadero.....</i>	<i>104</i>
<i>FOTO N° 3.- Animal macho en el proceso de faenamiento.....</i>	<i>105</i>
<i>FOTO N° 4.- Animal en el proceso de faenamiento y sangrado.....</i>	<i>105</i>
<i>FOTO °N 5.- Testículos listos para ser transportados al laboratorio.....</i>	<i>106</i>
<i>FOTO °N 6.- Materiales para realizar la investigación.....</i>	<i>106</i>
<i>FOTO °N 7.- El peso exacto del par de testículos antes de abrir la túnicas internas.....</i>	<i>107</i>
<i>FOTO °N 8.- El primer paso para sacar la piel o escroto.....</i>	<i>107</i>
<i>FOTO °N 9.- El peso del testículo izquierdo sin escroto.....</i>	<i>108</i>
<i>FOTO °N 10.- Peso del testículo derecho en gramos.....</i>	<i>108</i>
<i>FOTO °N 11.- Medida del largo del testículo sin escroto con el vainer o pie de ray.....</i>	<i>109</i>
<i>FOTO °N 12.- Medida de la circunferencia del testículo con una cinta métrica.....</i>	<i>109</i>
<i>FOTO °N 13.- Medición con piel o escroto mediante el vain.....</i>	<i>110</i>
<i>FOTO °N 14.- Se esta realizando la separación de la piel para extraer el testículo.....</i>	<i>110</i>
<i>FOTO °N 15.- Se está retirando las túnicas albugínea y músculo cremaster de cada testículo.....</i>	<i>111</i>
<i>FOTO °N 16.- Separación del cuerpo cola y cabeza del epidídimo del testículo.....</i>	<i>111</i>
<i>FOTO °N 17.- Medida del Epidídimo con el vainer y su peso en gramos....</i>	<i>112</i>
<i>FOTO °N 18.- Medida con la cinta métrica al epidídimo.....</i>	<i>112</i>

<i>FOTO °N 19.- Extracción del semen del epidídimo para su análisis mediante desmenuzamiento.....</i>	<i>113</i>
<i>FOTO °N 20.- Extracción del semen procedente de la cola y cabeza del epidídimo.....</i>	<i>113</i>
<i>FOTO °N 21.- Resultados del volumen seminal para observacion macroscópica y microscópica.....</i>	<i>114</i>
<i>FOTO °N 22.- Preparacion del porta objetos mediante la tincion de Eosina.....</i>	<i>114</i>
<i>FOTO °N 23.- Muestra calentada y lista para ser observada en el microscópio.....</i>	<i>115</i>
<i>FOTO °N 24.- Observación en el microscópio del semen epidídinario bovino.....</i>	<i>115</i>
<i>FOTO °N 25.- Observación miscroscópica del semen epidídinario.....</i>	<i>116</i>
<i>FOTO °N 26.- Observación microscópica con el lente de 400x.....</i>	<i>116</i>
<i>FOTO °N 27.- Identificación de espermatozoides completos que presntan todas sus partes.....</i>	<i>117</i>
<i>FOTO °N 28.- Identificación espermática epidídinaria.....</i>	<i>117</i>
<i>FOTO °N 29.- Cálculo espermático mediante la cámara de Neuwaver.....</i>	<i>118</i>
<i>FOTO °N 30.- Observación del semen Epidídinario.....</i>	<i>118</i>
<i>FOTO °N 31.- Observación microscopica del semen Epidídinario.....</i>	<i>119</i>
<i>FOTO °N 32.- Resultados microscópicos del semen Epidídinario post-morten.....</i>	<i>119</i>
<i>FOTO °N 33.- Observación microscópicos del semen Epidídinario post-morten.....</i>	<i>120</i>
<i>FOTO °N 34.- Resultados microscópicos del semen Epidídinario post-morten.....</i>	<i>120</i>

TEMA:

“EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS SEMINALES EPIDÍDIMIARIOS POST-MORTEN EN LA ESPECIE BOVINA EN LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI CAMPUS SALACHE”

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar los parámetros morfométricos respecto a las características macroscópicas y microscópicas del fluido epididimario de toros post- morten del camal frigorífico – Ambato. Para el experimento se seleccionaron al azar 10 semovientes bovinos mestizos, en edad de 24 meses, con un peso de 550 kg a 600 kg. Se recolectaron 10 pares de testículos de toros, conservandolos a una temperatura ambiente (18 °C.). Estos fueron pesados individualmente, medidos la longitud y diámetro escrotal y testicular; seguido se diseccionó la cola del epidídimo para que por el método de desmenuzamiento conseguir la muestra de fluido epididimario, y evaluar los parámetros macro y microscópicos; así mediante la tinción de eosina nigrosina se analizó la viabilidad espermática. Los datos se analizaron mediante el método estadístico descriptivo. Los resultados obtenidos determinan que la morfometría escrotal y testicular evidencia y relaciona las diferencias entre el testículo derecho (dr) respecto el testículo izquierdo (iz) de acuerdo a la medida de la tasa de crecimiento testicular. En consecuencia, estos pesos están considerados dentro de los rangos establecidos y determinados por la edad y mestizaje, en el que se determina que el testículo derecho es más pesado, de mayor largo, diámetro y ancho que el testículo izquierdo. Así los valores promedio de volumen fueron 0,85 ml, color blanco lechozo, olor a leche fresca y ph de 5,5. La motilidad en masa analizada a las 0 horas, 12 horas y 24 horas determinó una diferencia significativa muy variable de disminución, que oscila desde 0-25% hasta 75-

100%. El porcentaje de espermatozoide vivos es muy inferior (26,5%) respecto al porcentaje de espermas muertos (73,9%); sin embargo el promedio de concentración espermática fue de 2.48×10^6 , y de motilidad individual 57,91%. Se concluye, que a la evaluación de los parámetros de los fluidos epididimarios de toros *post mortem*, estos evidencian diferencias respecto a los parámetros del semen bovino recolectado por métodos convencionales. Y que a pesar, que las técnicas de obtención de espermatozoides de la cola del epidídimo reducen significativamente todos los parámetros macroscópicos y microscópicos evaluados, los espermas logran mantener la viabilidad; dándonos la posibilidad de utilizarlas en programas de reproducción asistida y de preservación de células espermáticas.

Palabras clave: espermatozoides, fluido epidimario, toros, postmortem

TEMA: "EVALUATION OF THE PARAMETERS SEMINAL EPIDIDYMAL POST-MORTEM IN BOVINE IN COTOPAXI TECHNICAL COLLEGE CAMPUS SALACHE"

SUMMARY

The objective of this research was to evaluate the morphometric parameters regarding the macroscopic and microscopic features of epididymal fluid post-mortem bulls refrigerator slaughterhouse - Ambato. For the experiment 10 randomly selected bovines livestock, age 24 months, with a weight of 550 kg to 600 kg. 10 pairs of testicles of bulls, keeping them at room temperature (18 ° C.) Were collected. These were individually weighed, measured the length and testicular and scrotal diameter; followed cauda epididymis were dissected to comminution by the method of getting the fluid sample epididymal and evaluate macro and microscopic parameters and by nigrosine dye eosin, sperm viability was analyzed. The data were analyzed using descriptive statistical method. The results determine that scrotal and testicular morphometry and related evidence the differences between the right testis (dr) for the left testicle (left) according to the measure of the rate of testicular growth. In consecuecia, these weights are considered within the predetermined range and determined by age and mixing, where it is determined that the right testicle is heavier, larger length than the left testicle diameter and width. And the average values were 0.85 ml volume, lechozo white, smell of fresh milk and pH 5.5. Mass motility analyzed at 0 hours, 12 hours and 24 hours determined a significant decrease difference varies, ranging from 0-25% to 75-100%. The percentage of live sperm is much lower (26.5%) in the percentage of dead sperm (73.9%); however the average sperm concentration was 2.48×10^6 , and individual motility 57.91%. It is concluded that the evaluation of epididymal fluid parameters of post mortem

bulls, they show differences in the parameters of bovine semen collected by conventional methods. And despite that the techniques for obtaining sperm from the cauda epididymis significantly reduce all macroscopic and microscopic parameters evaluated, the sperm manage to maintain viability; enabling us to use in assisted reproduction programs and the preservation of sperm cells.

Keywords: sperm, fluid epidimario, bulls, postmortem

INTRODUCCIÓN

Se ha visto la necesidad de realizar esta investigación descriptiva, para obtener cuadros de diferenciación en los parámetros morfológicos y morfométricos epididímiarios de toros post-mortem en el laboratorio de biotecnología de la reproducción de la Universidad Técnica de Cotopaxi campus Salache – CEYPSA.

El objetivo de la evaluación de semen, fue el de generar perspectivas de predicción de la capacidad fecundante del Toro post-mortem, considerando que existen algunos métodos de evaluación estandarizados desde las décadas pasadas; sin embargo muy pocos métodos se han adoptado para el trabajo práctico. Se considera, que los principales problemas que enfrentan la mayor parte de las explotaciones ganaderas, es la evaluación del mérito genético del reproductor y su capacidad fecundante, la misma que es evaluada naturalmente de manera fenotípica en el reproductor; además del desconocimiento de los parámetros de evaluación macroscópicos y microscópicos de semen epididímiario post-mortem.

Así, la recuperación de espermatozoides del epidídimo de animales muertos resulta ser una herramienta útil, para la obtención de reservas de germoplasma de animales genéticamente valiosos, o de especies en peligro de extinción que de otro modo se hubieran perdido, o en la aplicación de biotecnologías de la reproducción en especies de interés veterinario. Siempre existe riesgo, que al adquirir un ejemplar bovino de alto valor genético, existan enfermedades, sustancias tóxicas, y una serie de factores que podrían causar una muerte súbita del animal, o simplemente atrofiar su capacidad reproductiva. (KAABI, 2003).

El epidídimo tiene dos funciones: la maduración y el almacenamiento espermático: la maduración, o desarrollo progresivo de la capacidad fertilizante de los espermatozoides ocurre en la cabeza y el cuerpo del epidídimo y el almacenamiento ocurre en la cola del epidídimo. Es importante señalar que se podrían obtener espermatozoides viables provenientes de la cola del epidídimo con movilidad y capacidad fertilizante, poco tiempo después de la muerte del animal, que podrían ser procesados y congelados para su posterior uso. (MORTIMER, 1997)

Es así, que la mayor parte de los animales faenados en los camales o mataderos del país, se los utiliza para dispendio de su carne y consumo, más no para realizar concomitantemente estudios de carácter reproductivo. En tal sentido, bajo la existencia en la actualidad de Toros con un alto mérito genético de carne, leche y doble propósito en la región amazónica, costa y sierra del Ecuador, podría incorporarse esta técnica planteada en forma rutinaria para su valoración en la evaluación y recuperación de material seminal y su incidencia en los parámetros macro y microscópicos respecto a la altitud de los diferentes pisos climáticos. Este estudio establece perspectivas de un método descriptivo y de aplicación práctica, que permita recolectar espermatozoides epididimarios de toros con alto mérito genético.

Esta investigación afianzara la posibilidad de aplicación rutinaria de la técnica planteada, y la consecución en la obtención del título como Médico Veterinario Zootecnista.

OBJETIVOS

Objetivo General

“Evaluación de los parámetros seminales epididimarios post-mortem en la especie bovina para la obtención de espermatozoides viables para la reproducción.

Objetivos Específicos:

- Evaluar los parámetros macroscópicos (concentración, volumen, color, olor, ph) del fluido epididimario recuperado.
- Evaluar los parámetros microscópicos (motilidad individual, motilidad masal, vivos, muertos) del fluido epididimario recuperado.

Hipótesis:

Hipótesis alternativa

Ha = Los parámetros microscópicos y microscópicos del fluido epididimario son afectados post-mortem en la especie bovina.

Hipótesis nula

Ho = Los parámetros microscópicos y microscópicos del fluido epididimario no son afectados post-mortem en la especie bovina.

CAPÍTULO I

En el presente capítulo se muestra la revisión bibliográfica anatómica y fisiológica, del testículo respecto a la formación de células espermáticas.

1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

1.1. El Testículo

1.1.1. Anatomía del Testículo

En 1677 Antón Van Leeuwenhoek y su pupilo John Hann, descubrieron los espermatozoides con el uso de “lentes de aumento”, refiriéndose a una innumerable cantidad de cuerpos minúsculos, los cuales se movían con fuerza.

El sistema reproductor masculino está formado por el cordón espermático, testículo, epidídimo, glándulas sexuales accesorias y el pene. El testículo produce espermatozoides y testosterona, así como otras sustancias como la inhibina, el estrógeno y una variedad de proteínas.(SENGER, 2003)

El epidídimo proporciona el entorno para la maduración final de los espermatozoides y sirve como un órgano de almacenamiento para estas células. Las glándulas sexuales accesorias producen plasma seminal y el pene es el órgano copulador.

En los bovino los testículos estan colocados en la región inguinal, en posicion vertical presentando una forma oval, bastante a largada, de alrededor de 10 a 15 cm de largo y 5 8,5 cm de diametro y su peso se estima individualmente de 250 a 300 g y en conjunto unos 500 g. (RUTTER, 2006).

Los testículos tienen tres funciones en los machos adultos, la primera es la producción de espermatozoides vivos potencialmente fértiles, y la segunda es la formación de los andrógenos testosterona y androstenediona.

La función principal del escroto es regular la temperatura interna de las gónadas mediante la contracción involuntaria del músculo dartos, que recubre el escroto interna y externamente.

Los testículos están recubiertos por dos capas serosas de la túnica vaginalis, y una capade tejido conectivo denso e irregular, que constituye la túnica albugínea. De la túnica albugínea ubicado en el parénquima testicular, y dividen al testículo en un número variable de lobulillos testiculares que contienen de 1 a 4 túbulos seminíferos contorneados. (SISSON, 2001)

1.1.2. Post-mórtem

La recolección de espermatozoides de la cola del epidídimo, es una técnica útil para propagar y preservar la calidad de genética de toros postmórtem. Consiste en recuperar y criopreservar los espermatozoides, en casos donde, la colecta de semen por otros métodos es compleja como en el caso de muerte natural o accidental de especímenes que estén en peligro de extinción, y en el caso concreto.

La maduración, o desarrollo progresivo de la capacidad fertilizante de los espermatozoides sucede en la cabeza y el cuerpo del epidídimo y es en la cola de este último donde se almacenan. (ANEL, 2002)

La técnica consiste en extraer los testículos del escroto, y separar las colas epididimarias cortando la unión entre la base del testículo con el cuerpo del epidídimo y con el conducto deferente. Posteriormente la extracción de los espermatozoides se puede realizar por tres métodos:

Recolección por desmenuzamiento de la cola del epidídimo: se corta finamente y se filtra la cola del epidídimo, para obtener el material seminal. Es fundamental para la supervivencia espermática, el manejo del epidídimo y el tiempo transcurrido desde la muerte del animal hasta el estudio del gameto. Este material seminal puede ser utilizado en inseminación artificial o fertilización in-vitro para conseguir descendientes de alto valor genético. (BARRIOS, 2002)

1.2. El Epidídimo

1.2.1. Anatomía del Epidídimo

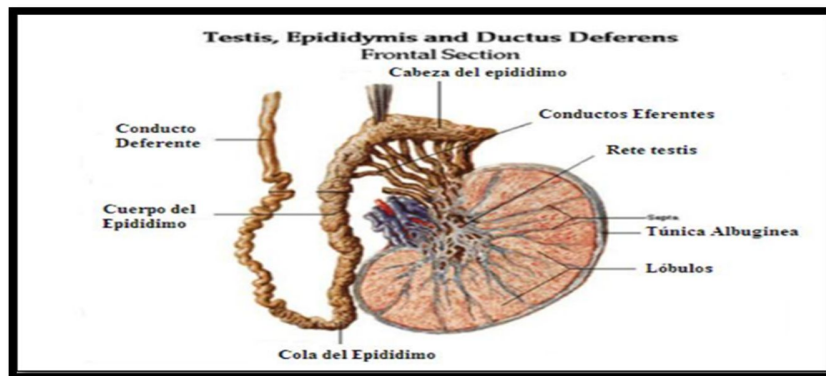
El epidídimo es un túbulo tortuoso empaquetado en un saco de tejido conectivo, en su extensión de la túnica albugínea; mide alrededor de 30 a 50 metros de largo en el toro. Anatómicamente el epidídimo consta de tres partes bien definidas: cabeza, cuerpo cola.

La cabeza es la parte más grande, recorre el polo dorsal del testículo y desciende en forma de asa unos 2.5 a 3 cm de la superficie del testículo. El cuerpo del epidídimo se extiende hacia el polo distal del testículo como una banda de 1 cm

de ancho y se une firmemente a la cara caudo-medial de este último. La cola del epidídimo tiene forma cónica y se une estrechamente por su base mayor al polo distal del testículo, la cola del epidídimo continua con el conducto deferente (KONIG, 2008).

Las convoluciones del epidídimo van disminuyendo en amplitud progresivamente desde la cabeza al cuerpo, en el cual se aprecia una constricción delgada de la túnica albugínea; pero al nivel de la cola aumentan el diámetro del túbulo y el tamaño de las convoluciones. (LIEBICH, 2008)

Grafico 1. Partes anatómicas del epidídimo



<http://androvvet.blogspot.com/>

1.2.2. Funciones del Epidídimo

Las funciones del epidídimo son el transporte, maduración y almacenamiento de los espermatozoides, los cuales, a través del pasaje por los conductos eferentes y el epidídimo, adquieren la habilidad de tener movimiento progresivo lineal y la capacidad de fertilizar. Durante ese proceso, en la célula espermática ocurren cambios funcionales, bioquímicos y morfológicos. También concentra la espermia pues al paso del epidídimo se absorbe una parte del líquido. (CHENOWETH, 1997)

Específicamente, en la cabeza del epidídimo ocurre la reabsorción de solutos y fluidos, en el cuerpo del epidídimo la maduración espermática, y en la cola del epidídimo el almacenamiento de los espermatozoides fértiles. Con esta consideración, es importante señalar que se podrían obtener espermatozoides viables provenientes de la cola del epidídimo que tengan, motilidad y capacidad de fertilizar, poco tiempo después de la muerte del animal que podrían ser congelados para su posterior uso en inseminación artificial. (BARRIOS, 2002)

En su origen, los espermatozoides son incapaces de moverse, de allí que el transporte inicial a la rete testis es dependiente del fluido secretado por las células de Sertoli en los conductos eferentes, cabeza y cuerpo del epidídimo. El transporte es mediado por el epitelio del epidídimo, especialmente las células ciliadas y las principales, las contracciones peristálticas de la musculatura lisa de los conductos eferentes y la cabeza, cuerpo del epidídimo, más la presión hidrostática interna. (NOAKES, 2001)

El ambiente al que se enfrentan las células espermáticas cuando llegan al epidídimo es diferente al de los túbulos seminíferos y los conductos eferentes.

Tal diferencia se debe a los cambios en la composición del fluido drenado por la rete testis, debido a que la presencia de la barrera hemotesticular es incompleta en esta región además, en todo el trayecto del epidídimo hay células secretoras cuyas secreciones afectan a los espermatozoides vale decir que la porción de la cabeza del epidídimo está revestida internamente por un epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado. (AMANN, 1993)

El fluido producido por las células secretoras del epidídimo es rico en carnitina, glicerofosforilcolina y varias glicoproteínas; generalmente es amarillento pero en toros fértiles adquiere apariencia blanco-cremosa debido a la concentración de espermatozoides.

La maduración espermática en el epidídimo es dependiente de las secreciones epiteliales, del transporte de sodio y potasio, de los andrógenos, y de la temperatura escrotal, los cambios estructurales de los espermatozoides se deben a la utilización de fosfolípidos y colesterol como sustratos durante la maduración en el epidídimo. (REYES, 2002)

En estos cambios se completa el proceso de condensación nuclear, los espermatozoides pierden la gota citoplasmática, aumentan la negatividad de la carga superficial, y ocurren ligeros cambios en la morfología del acrosoma. La testosterona ejerce influencia directa en la maduración espermática en el epidídimo los receptores intracelulares captan andrógenos y la enzima 5 α -reductasa convierte la testosterona en dihidrotestosterona. (NOAKES, 2001)

1.2.3. Concentración

En el toro los espermatozoides que vienen del testículo y entran al epidídimo están relativamente diluidos (aproximadamente 100 millones de espermatozoides /ml). En el epidídimo se concentran aproximadamente el 75% de la producción total de espermatozoides de los testículos. (RODRIGUEZ, 2000).

Cuadro 1. Concentración espermática en toros adultos

RAZA	EPIDIDIMO			CONDUCTO DEFERENTE Y AMPOLLA	TOTAL
	CABEZA	CUERPO	COLA		
Hereford	11	1	21	6	40
Charolais	18	4	35	7	64
Holstein	20	5	39	8	72

(AMANN, 1993)

1.2.4. Almacenamiento

La mayor parte se almacena en la cola del epidídimo, donde los espermatozoides concentrados son retenidos en el lumen ancho. El epidídimo de toros maduros puede contener de 50 a 74 mil millones de espermatozoides. En la cola las condiciones son óptimas para preservar la viabilidad de los espermatozoides por un tiempo prolongado. El pH bajo, una alta viscosidad, la gran concentración de bióxido de carbono, la gran proporción de K a Na, la influencia de la testosterona y probablemente otros factores, se combinan para contribuir a un bajo índice metabólico y una vida más prolongada. (RODRIGUEZ, 2000).

Estos son almacenados mayormente en la porción caudal del epidídimo siendo éstos ya maduros los que pueden ser eyaculados. Si bien este ambiente les es favorable para su supervivencia, no serán preservados por tiempo indefinido. Los espermatozoides no eyaculados se eliminan de forma gradual por excreción en la orina. (HAFEZ, 2000)

1.2.5. Maduración

Cuando los espermatozoides recientemente formados entran a la cabeza a partir de los conductos eferentes, no tienen la capacidad de motilidad ni fertilidad. Durante su paso por el epidídimo, adquieren capacidad para moverse y se tornan fértiles.

Cuadro 2. Características morfométricas de testículos y colas epididimaria

Variable	Media	EE
Circunferencia Escrotal (cm)	31.80	0,47
Ancho testicular (cm)	5.56	0,11
Largo testicular (cm)	11,36	0,22
Peso testicular (gr)	267, 12	12,03
Ancho de la cola del epidídimo (cm)	1,58	0,07
Largo de la cola del epidídimo (cm)	1,92	0,06
Peso de la cola del epidídimo (gr)	30,06	1,57

(CHACON, 2002)

La testosterona ejerce influencia directa en la maduración espermática. En el epidídimo los receptores intracelulares captan andrógenos y la enzima 5alfa-reductasa convierte la testosterona en dihidrotestosterona. Durante ese proceso, en la célula espermática ocurren cambios funcionales, bioquímicos y morfológicos. También concentra la esperma pues al paso del epidídimo se absorbe una parte del líquido. (RODRIGUEZ, 2000).

La maduración espermática en el epidídimo es dependiente de las secreciones epiteliales, del transporte de sodio y potasio, de los andrógenos, y de la temperatura escrotal. Los cambios estructurales de los espermatozoides se deben

a la utilización de fosfolípidos y colesterol como sustratos durante la maduración en el epidídimo.(BARRIOS, 2002)

1.3. Control Endocrino del Sistema Reproductor del Macho

En el macho normal, el testículo es una glándula par, de doble función, endocrina (producción de hormonas) y exocrina en la elaboración de células sexuales o gametos masculinos. El proceso de la espermatogénesis se halla bajo control endócrino. Las principales glándulas implicadas son la pituitaria y los testículos, también pueden intervenir las glándulas adrenales y posiblemente la glándula tiroides aunque en papeles secundarios. (HAFEZ, 2002)

El hipotálamo integra estímulos del SNC y es generalmente considerado el regulador de la actividad testicular. A diferencia de lo que sucede en hembras (ciclicidad), en el macho la función endócrina. Esto se debe a que los andrógenos producidos y liberados por el feto antes del nacimiento, destruyen el centro cíclico sexual del hipotálamo, permaneciendo activo solo el centro tónico y la actividad sexual de macho es tónica y constante. Para el funcionamiento testicular normal se requiere de estimulación hormonal por gonadotropinas adenohipofisarias, las cuales a su vez son controladas por la secreción pulsátil de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) del hipotálamo. (HAFEZ, 2002)

1.3.1. Hormona GnRH

La hormona liberadora de gonadotropinas o GnRH es un decapeptido secretado por el hipotálamo que desempeña un papel fundamental en el desarrollo y mantenimiento de la reproducción; como su nombre lo indica la función más conocida es el control de la secreción de las hormonas gonadotrópicas como la hormona luteinizante (LH) y la foliculo estimulante (FSH). (UNGERFELD, 2002)

La GnRH se libera al sistema porta-hipofisario desde el hipotálamo en forma de pulsos leves, desde donde alcanzan los gonadotrofos de la hipófisis anterior y promueven la descarga pulsátil de LH y FSH. La retroacción de las hormonas hipofisarias no está muy clara, lo que sí está establecido es la acción de las hormonas testiculares sobre el hipotálamo. La testosterona (T) ejerce una retroacción negativa en el hipotálamo, disminuyendo la tasa de secreción de GnRH. La testosterona es la hormona circulante, pero a nivel central es aromatizada en 17 B-estradiol que es en definitiva la hormona que actúa a nivel del hipotálamo, por lo tanto las hormonas responsables de la retroacción serían los estrógenos en vez de la testosterona. (UNGERFELD, 2002)

1.3.2. Hormonas Gonadotrópicas

Como su nombre lo indica juegan un rol fundamental en la estimulación de las gónadas; son las principales mediadoras del sistema nervioso central sobre las actividades endócrinas y gametogénicas de las gónadas. Su secreción está regulada por la hormona GnRH y los esteroides gonadales, mientras que los retrocontroles de las gónadas sobre la FSH, ejercidos por el estradiol, progesterona, inhibina, activina y folistatina, actúan primariamente a nivel hipofisario, la mayoría de los retrocontroles sobre la LH se efectúan a nivel hipotalámico, modulando la liberación de GnRH. (UNGERFELD, 2002)

Un aumento inicial de FSH entre los 3 y 5 meses de edad en toros resulta en una proliferación de células de Sertoli, alargamiento del túbulo seminífero y en un aumento en el diámetro del túbulo. En consecuencia, hay un aumento en el tamaño testicular a esta altura, al mismo tiempo, aumenta la secreción de LH, la cual resulta en una mayor producción de testosterona por las células de Leydig. (UNGERFELD, 2002)

Entre los 5 y 8 meses de edad la FSH y LH permanecen bajas y luego aumentan nuevamente junto con el comienzo de la pubertad. Se ha demostrado recientemente que mientras mayor sea el aumento de LH a los 3-5 meses de edad, antes se producirá el comienzo de la pubertad y mayor será el tamaño de los testículos al año de edad (datos no publicados). Por esto, se podría especular que las condiciones ambientales, las cuales interfieren con la salud o con el crecimiento de los terneros durante este período crítico, podrían resultar en pubertad atrasada y en tamaño testicular reducido en el toro de 1 año. (BARTH, 1999)

1.3.3. Espermatogénesis

Se puede definir como el desarrollo de la célula germinal masculina en el mamífero adulto, o como la suma de las transformaciones que resultan en la formación de espermatozoos a partir de espermatogonias, al mismo tiempo que se mantiene constante la cantidad de éstas últimas. La espermatogénesis es la suma de las divisiones mitóticas y meióticas de células espermáticas precursoras, que ocurren dentro del túbulo seminífero y resultan en la formación de los espermatozoides y se inicia a partir de la pubertad. El ciclo de la espermatogénesis en el toro adulto dura aproximadamente 61 días. (SENGER, 2003)

La espermatogénesis es el proceso de producir espermatozoides, tiene lugar dentro de los túbulos seminíferos y consiste en la suma de todas las transformaciones celulares en el desarrollo de las células germinales que se producen en el epitelio seminífero. (REYES, 2002)

El proceso de la espermatogénesis se puede subdividir en tres fases. La primera fase, consiste en todas las divisiones mitóticas de espermatogonias, donde generaciones de espermatogonias son que sometidas a divisiones mitóticas,

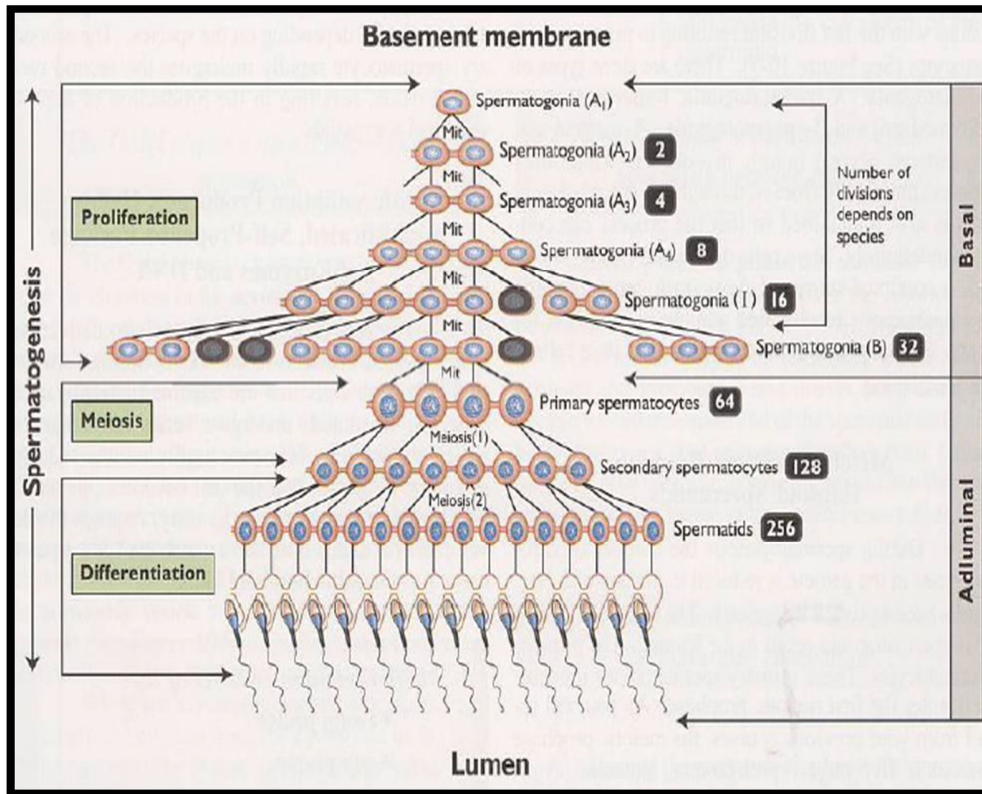
generando una gran cantidad de B-espermatogonias, una parte importante de la fase de proliferación es la renovación de células madre. La segunda fase de la espermatogénesis se denomina la fase meiótica e implica espermatocitos primarios y secundarios. Durante la fase meiótica, la diversidad genética está garantizada por la replicación del ADN y cruzamientos desde un punto de vista genético no son dos espermatozoides idénticos. (RODRIGUEZ, 2000).

A modo de conclusión de la fase meiótica (la segunda división meiótica) produce espermátidas haploides. La tercera fase de la espermatogénesis o final es la fase de diferenciación. No hay más divisiones celulares durante esta fase. Durante la fase de diferenciación, una espermátida indiferenciada esférica sufre una transformación notable que resulta en la producción de un espermatozoide completamente diferenciado altamente especializado que contiene una cabeza (material nuclear), un flagelo que incluye una pieza intermedia (con una hélice mitocondrial) y una pieza principal. (SENGER, 2003)

Las células germinales más inmaduras (espermatogonias) se encuentran en la periferia de un túbulo seminífero cerca de la membrana basal como estas células germinales deben proliferar y madurar se mueve hacia el lumen. Grupos de espermatogonias, espermatocitos o espermátidas están conectados por puentes intercelulares, por lo que el citoplasma de una célula de cohorte completa (grupos de células del mismo tipo) está interconectado. (HAFEZ, 2002)

El número exacto de células germinales que están interconectadas no se conoce, pero puede acercarse a 50. El significado de estos puentes intercelulares no se entiende completamente. Sin embargo, sí proporcionan comunicación entre las células y pueden contribuir al desarrollo sincronizado de una cohorte. (SENGER, 2003)

Grafico 2. Espermatogénesis y sus fases, tipos celulares que aparecen secuencialmente.



(SENGER, 2003)

1.3.4. Fases de formación de un espermatozide

Las células de Sértoli sobre la membrana basal de los túbulos seminíferos y representan el 25% del epitelio tubular. Las células de Sértoli responden a la FSH regulando el número de espermatogonias que entran en el proceso de división celular y juegan un papel importante en la elongación nuclear y en la formación del acrosoma en las espermátides. Bajo la acción de la FSH las células de Sértoli secretan glicoproteínas como transferina, ceruloplasmina, inhibina, y proteínas transportadora de andrógeno ABP. (HAFEZ, 2001).

La espermatogénesis incluye dos fases:

a) La espermatocitogénesis, en la cual las espermatogonias sufren una división celular hasta transformarse en espermatídes.

b) La espermiogénesis, en la que las espermatídes sufren cambios morfológicos progresivos y se transforman en espermatozoides completamente formados.

Las espermatogonias contienen el número de cromosomas característico de las células somáticas de la especie (60 cromosomas en el bovino) y están categorizadas en: espermatogonia tipo A, que incluye espermatogonias A1 y formas células más diferenciadas llamadas espermatogonias A2, A3, A4.

c) espermatogonia intermedia o "In", derivada de A4; y c) espermatogonia tipo B, que incluye B1 y B2. (HAFEZ, 2000).

La espermatogonia es una célula diploide que se divide mitóticamente solo para establecer otra espermatogonia, excepto la espermatogonia tipo B2, que se divide para formar dos espermatocitos primarios. Durante la espermiogénesis ocurren cambios morfológicos como la formación del acrosoma, la condensación de la cromatina nuclear, el desarrollo de la cola, y la pérdida del "Cuerpo Residual de Regaud" (sobrante de la espermatide que no es necesario para el espermatozoide maduro. (SENGER, 2003)

La espermiogénesis ha sido dividida en fase de Golgi, fase de capuchón, fase del acrosoma y fase de maduración. Estos cambios se asocian a aspectos de la integridad funcional de los espermatozoides: a) desarrollo del potencial para la motilidad progresiva sostenida, b) modificación de los patrones metabólicos y el estado estructural de organelos específicos de la cola, c) cambios en la cromatina nuclear, d) cambios en la naturaleza de la superficie de la membrana plasmática, e) movimiento y pérdida de la gota citoplasmática, f) modificación de la forma del acrosoma (en algunas especies). (HAFEZ, 2000)

1.4. Semen Epididimario

Suspensión celular líquida que contienen los gametos masculinos (espermatozoides) y las secreciones de los órganos accesorios del aparato reproductor masculino, y se mezclan al momento de la eyaculación.

1.4.1. Definición de Espermatozoide

Gametos masculinos que se forman en los tubulos seminíferos de los testículos, son células alargadas y mide de 10 a 60 micras de longitud que consiste en una cabeza plana portadora de un núcleo y una cola que le da la movilidad. El espermatozoide maduro es una célula con motilidad activa, que se desplaza libremente en el líquido y consiste en una cabeza que contiene un núcleo con todos los rasgos genéticos que un padre le puede transmitir a su descendencia. Una cola o flagelo, que le proporciona la motilidad necesaria para su transporte al lugar donde se efectúa la fertilización y procura que su orientación sea la adecuada para penetrar a través de las capas que recubren el óvulo. (KNOBIL, 2003)

1.4.2. Estructura y morfología del espermatozoide

a) Cabeza: Tiene un núcleo aplanado oval, que tiene una cromatina muy compacta donde la cromatina consiste en un complejo formado por el ácido desoxirribonucleico.

b) Acrosoma: Delgado saco membroso de doble capa ubicado sobre el núcleo y que establece las últimas etapas de formación del espermatozoide.

c) Cola: Se subdivide en cuello y segmentos medio, principal y caudal.

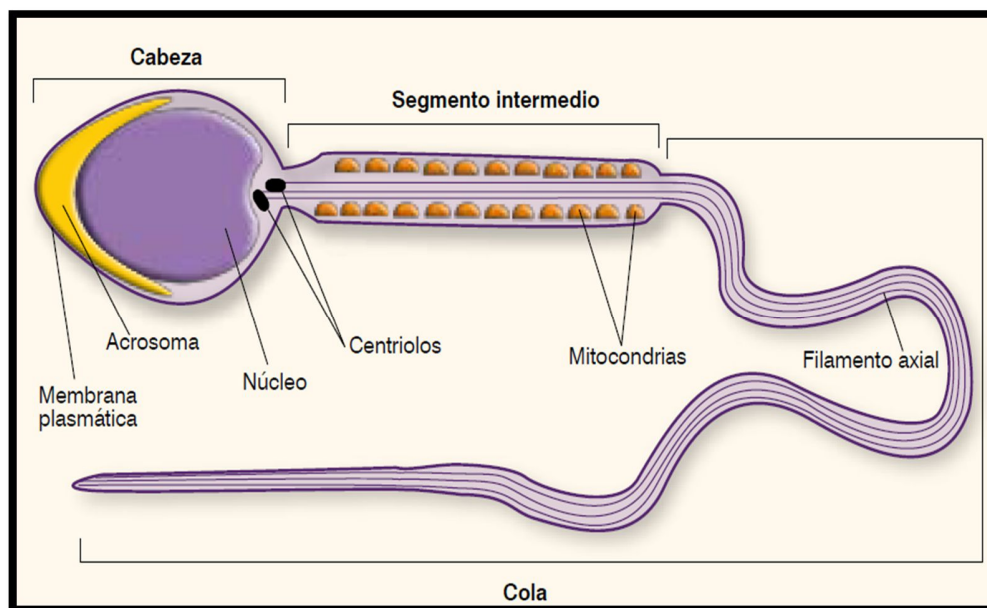
Desde una placa basal ubicada en el cuello nacen nueve fibras gruesas que se proyectan hasta el anillo citoplasmático (ubicado entre el segmento medio y el principal). (KNOBIL, 2003)

En el segmento medio nace el axonema que comprende nueve pares de microtúbulos dispuestos radialmente alrededor de dos filamentos centrales. Esta disposición (9+2) está rodeada por las nueve fibras gruesas antes mencionadas durante su paso por el segmento medio.

El axonema y las fibras gruesas están cubiertas por una vaina mitocondrial que es la fuente de energía necesaria para la motilidad espermática.

d) Gota protoplásmica o citoplasmática: Está compuesta por citoplasma residual, suele desprenderse de los espermatozoides tras el eyaculado, aunque puede retenerse en la región del cuello (gota proximal) o cerca del anillo citoplasmático (gota distal). (GARNER, 2000)

Grafico 3. Estructura del espermatozoide



(GARNER, 2000)

Los espermatozoides testiculares son transportados desde el testículo a través de un conducto contorneado llamado epidídimo.

En su paso por éste, los espermatozoides experimentan un proceso de maduración, adquiriendo capacidad potencial de fecundar óvulos. Estos cambios se asocian a aspectos de la integridad funcional de los espermatozoides:

- a) desarrollo del potencial para la motilidad progresiva sostenida.
- b) modificación de los patrones metabólicos y el estado estructural de organelos específicos de la cola,
- c) cambios en la cromatina nuclear.
- d) cambios en la naturaleza de la superficie de la membrana plasmática.
- e) movimiento y pérdida de la gota citoplasmática.
- f) modificación de la forma del acrosoma (en algunas especies). (KNOBIL, 2003)

Para que no exista un metabolismo innecesario por parte de los espermatozoides madurados, las células que recubren el epidídimo secretan “factores de inmovilidad” prolongando así la supervivencia de los espermatozoides.

Estos son almacenados mayormente en la porción caudal del epidídimo siendo éstos ya maduros los que pueden ser eyaculados.

Si bien este ambiente les es favorable para su supervivencia, no serán preservados por tiempo indefinido. Los espermatozoides no eyaculados se eliminan de forma gradual por excreción en la orina. (GARNER, 2000)

1.4.3. Técnicas de evaluación de la calidad semen

El objetivo de la evaluación de semen es de predecir la capacidad fecundante del mismo lo más acertadamente posible. Muchos métodos diferentes han sido evaluados a lo largo de las décadas pasadas, pero sólo pocos métodos han sido adoptados para el trabajo práctico. La mayor parte de estos estudios han usado las evaluaciones sencillas microscópicas de clásicos parámetros espermáticos, incluyendo la concentración de espermia, motilidad, morfología y viabilidad. Inmediatamente después de la extracción debe hacerse un examen macroscópico del semen eyaculado en el tubo de colecta. Dicho examen comprende la anotación del volumen, color, densidad, motilidad en masa macroscópica, pH, cuerpos extraños. (JANUSAKAUSKAS, 2002)

1.4.4. Pruebas Macroscópicas

Inmediatamente después de la extracción debe hacerse un examen macroscópico del semen eyaculado. Dicho examen comprende la anotación del volumen, color, densidad, motilidad en masa macroscópica, pH, cuerpos extraños.

Cuadro 3. Evaluación subjetiva de la densidad

Creinoso:	1.000.000 esp./mm ³ o más
Lechoso:	de 500.000 a 800.000 esp./mm ³
Aguachento	de 100.000 a 300.000 esp./mm ³

(AX, 2000)

1.4.5. Volumen

Normalmente tiene un amplio rango que va de 2-6ml.

Se debe tener en cuenta que para toros mayores de 2 años el mínimo esperable son 4ml y los animales jóvenes y los de menor talla dentro de una especie producen menor volumen de semen. Se le llama aspermia a la ausencia de eyaculado, hipospermia a un volumen reducido e hiperespermia al volumen aumentado. (AX, 2000)

La capacidad de producción de semen por gramo de tejido testicular (Producción Diaria de Espermatozoides, PDE) está directamente correlacionada con la circunferencia escrotal en toros jóvenes. En los toros que están sometidos a un régimen periódico de colección de semen, el volumen y la concentración espermática son indicadores de la capacidad para producir espermatozoides y le permiten a los centros de inseminación artificial (IA) monitorear la función testicular de los mismos. Se mide directamente en la graduación en mililitro (ml) del tubo de la centrifuga. (BARACALDO, 2007)

1.4.6. Aspecto

Es un líquido denso, cremoso, ligeramente amarillento, que contiene una suspensión de espermatozoides en un medio llamado plasma seminal.

Cuadro 4. Aspecto del eyaculado correlacionado a la concentración

Aspecto	Valor descriptivo	Número de spz estimado (spz/mm ³)
Cre moso espeso	Muy buena	> 750.000
Lechoso	Buena	400-750.000
Leche aguachenta	Regular	250-400.000
Traslucida	Pobre	<250.000

(AX, 2000)

1.4.7. Olor

El olor natural es bastante característico de cada especie animal y en general no es muy intenso donde el semen puede tomar un olor urinoso si se mezcla con orina y un olor más o menos intensamente alterado, de putrefacción, cuando se mezcla con productos purulentos y trozos necróticos. Toma el mismo olor cuando el orificio prepucial está lesionado y supura, por grietas descuidadas, y por escasa limpieza. (AX, 2000)

1.4.8. Color

En general el semen es de color blanco cremoso, que más o menos tiende al tono marfil, en relación con la cantidad de espermatozoides contenidos. Puede ser blanco grisáceo y al mismo tiempo normal que posee una coloración blanquecina o ligeramente amarillenta y su opacidad se halla en función de la concentración espermática. La mayor parte de los sémenes de toro son blanco lechosos, variando hacia un color crema, aunque algo más del 10% produce un semen que es normalmente amarillo. (AX, 2000)

El color amarillo es un carácter normal del semen de muchos toros, que no altera las células espermáticas y que carece de influencia en la fertilidad. Piensa que es un lipocromo derivado del epitelio de la ampolla, pero no está influido por el tipo de alimentos ingeridos. Los toros pueden producir semen de color amarillo

debido a la presencia de riboflavina por las glándulas vesiculares y ampollas del conducto deferente, no teniendo ningún tipo de significación clínica. Esto no debe confundirse con orina, la cual tiene su olor característico. (AX, 2000)

1.4.9. pH

El pH del semen de toro recientemente eyaculado depende de las proporciones variables de las diversas secreciones implicadas. La mayoría de las muestras normales se hallan en el lado ácido de la neutralidad, oscilando desde pH 6,5 al de 6,9, con una media de 6,75. Este parámetro no varía mucho en las distintas especies animales. Aunque el pH varía en un rango amplio, desde, alrededor de 6,0 o más bajo a 8,0 o ligeramente mayor. (AX, 2000)

El semen de buena calidad es generalmente más ácido (pH inferior) que el semen con concentraciones más bajas de células espermáticas. El semen de mala calidad contiene una cantidad proporcionalmente mayor de líquido procedente de las glándulas uretrales y accesorias. Puesto que los espermatozoides descomponen la fructosa del semen en ácido láctico en las condiciones anaerobias que generalmente existen en los estrechos tubos de recogida, el pH del semen disminuye con el tiempo transcurrido entre la recogida y la determinación. (AX, 2000)

1.4.10. Cuerpos extraños

La muestra debe estar libre de polvo, tierra, pasto, heces, pelo y otros contaminantes. Debe desecharse el semen con fragmentos de material extraño; estos generalmente decantan al fondo del tubo. La presencia de alguno de éstos contaminantes es indicadora de una mala técnica de extracción de semen (AX, 2000)

1.5. Pruebas Microscópicas

1.5.1. Motilidad en masa microscópica

El movimiento en masa depende de tres factores: concentración, porcentaje de células con movimiento progresivo y velocidad de movimiento de los espermatozoides. Cuando uno de estos tres factores se encuentra disminuido, las ondas rápidas en remolinos esperadas son severamente deprimidas o eliminadas. La determinación de la motilidad masal se hace utilizando una gota de semen puro de 5 a 10 mm de diámetro, colocada sobre un portaobjeto atemperado y sin cubreobjetos. La observación se realiza bajo un campo luminoso con un aumento de 40X (lupa). Se evalúa la presencia de ondas cerca del borde de la gota. (HAFEZ, 2000)

Cuadro 5. Escala de la motilidad en masa microscópica

		Movimiento en ondas	Valor descriptivo
+++	5/5 y 4/5	Corrientes turbulentas o vertiginosas que se mueven muy rápidamente	Muy buena
++	3/5	Ondas lentas	Buena
+	1/5 y 2/5	Movimientos singulares o esporádicos y ninguna actividad de masa	Regular
-	0	Necropermia o inmovilidad total.	Mala

(HAFEZ, 2000)

1.5.2. Motilidad individual microscópica

La valoración de la motilidad que implica la estimación subjetiva de la viabilidad de los espermatozoides y calidad de la motilidad. Si no fuera por la capacidad de desplazamiento que poseen los espermatozoides de los mamíferos, es imposible que llegaran a recorrer un camino tan grande como lo es desde el

lugar de su deposición en el tracto genital de la hembra, ya sea por inseminación natural como artificial. La adquisición de la capacidad de movilidad progresiva, coincide con la adquisición de la capacidad fecundante. (HAFEZ, 2000)

Método: colocar una gota de semen sobre un portaobjeto limpio, seco y entibiado a 37 °C y colocar un cubreobjeto sobre ella. Observar con un aumento de 100X y 450X. Establecer el grado de intensidad y el tipo de movimiento.

Cuadro 6. Escala basada en el porcentaje de células móviles

	Porcentajes de motilidad individual.
5/5	80 y 100% de spz con movimiento rectilíneo uniforme
4/5	60 y 80% de spz con movimiento rectilíneo uniforme
3/5	40 y 60% de spz con movimiento rectilíneo uniforme
2/5	20 y 40% de spz con movimiento rectilíneo uniforme
1/5	20 % o menos de spz con movimiento rectilíneo uniforme

(HAFEZ, 2000)

Si los espermatozoides nadan en movimiento circular estrecho, ello significa que tal vez sufrieron choque por frío. El movimiento oscilatorio podría definirse como células envejecidas o en proceso de secarse. Los patrones de motilidad también se correlacionan con la fertilidad o subfertilidad en machos. La motilidad es rutinariamente evaluada por estimación visual del porcentaje de células móviles, por lo cual el resultado es subjetivo. (HAFEZ, 2000)

1.5.3. Densidad

Este parámetro permite predecir de forma subjetiva mediante una escala la concentración espermática o sea el número de espermatozoides por mm³ o cm³.

El semen debe tener un aspecto opaco y relativamente uniforme, indicativo de alta concentración de células espermáticas.

Método: colocar una gota de semen en un portaobjeto limpio, seco y entibiado a 37 °C y observar en el borde de la gota la densidad del material con 450 aumentos. (AX, 2000)

Cuadro 7. Escala de valores en densidad del espermatozoide Correlación entre concentración y densidad.

	Criterio evaluativo	Descripción	Número de spz estimados
DD	Densísimo	Se observan los spz superpuestos	> 1.500.000 spz/mm ³
D	Denso	El campo óptico está lleno de spz y entre ellos no existen espacios.	800 - 1.500.000 spz/mm ³
SD	Semidenso	Campo visual con espacios intermedios entre los spz del tamaño de una cabeza.	800 - 500spz/mm ³
R	Ralo	Espacios libres amplios.	500-200spz/mm ³
O	Oligospermia	Spz separados por grandes espacios.	< 200spz/mm ³
A	Azoospermia	No se observan spz.	Ausencia

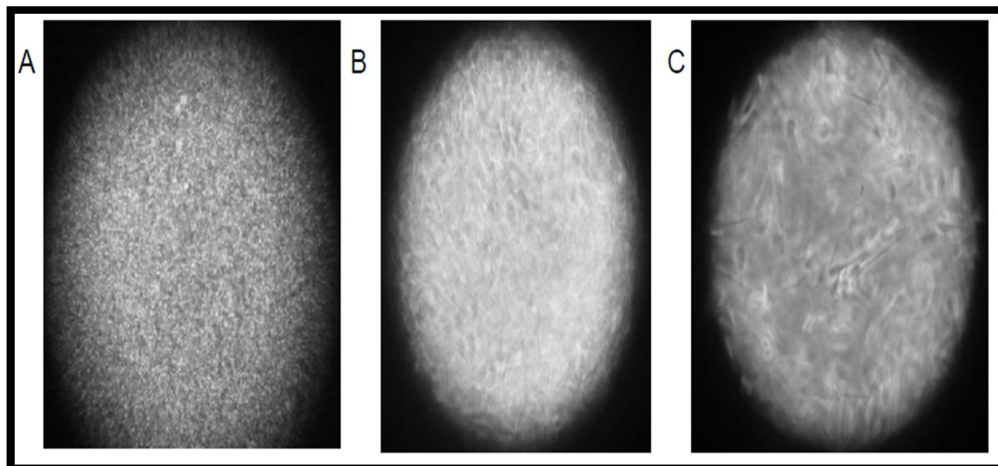
(ELHORDOY Y FARÍAS, 2003)

Cuadro 8. Valoración de la motilidad masal macroscópica

		Movimiento en ondas
+++	5/5 y 4/5	Movimientos masivos muy marcados y rápidos
++	3/5	Movimientos en masa aparentes, pero moderados
+	1/5 y 2/5	Ondas en movimientos apenas aceptables
-	0	No hay ondas, semen sin movimiento

(AX, 2000)

Grafico 4. Movimiento en masa de los espermatozoides



(ELHORDOY Y FARIÁS, 2003)

Por ejemplo, una muestra con un 80% de motilidad individual puede no tener prácticamente ondas por una baja concentración o por baja velocidad de

movimiento. O una muestra con una muy buena concentración y un alto porcentaje de movimiento progresivo individual puede producir poco o nada de movimiento de onda si la velocidad de los espermatozoides ha sido disminuida por temperaturas frías o por haber transcurrido un largo intervalo entre la colecta y la evaluación. Por lo tanto, la motilidad masal debe ser interpretada cuidadosamente. La determinación de la motilidad masal se hace utilizando una gota de semen puro de 5 a 10 mm de diámetro, colocada sobre un portaobjeto atemperado y sin cubreobjetos. (BARACALDO, 2007)

La observación se realiza bajo un campo luminoso con un aumento de 40X (lupa). Se evalúa la presencia de ondas cerca del borde de la gota. Y se clasifica basándonos en el porcentaje de células móviles según la siguiente escala:

Cuadro 9. Escala de la motilidad en masa microscópica

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

(ELHORDOY Y FARIAS, 2003)

El análisis microscópico que se realiza inmediatamente observando la motilidad masal, la cual se realiza tomando una gota de muestra de semen y se coloca sobre un porta objeto que esta sobre una placa térmica a 37°C, y se lleva al microscopio y se analiza de acuerdo a los remolinos que se observa.

1.5.4. Motilidad individual progresiva

Consiste en estimar el porcentaje (0-100%) de espermatozoides con movimiento progresivo lineal en una muestra de semen diluido en una solución isosmótica. Al mismo tiempo puede valorarse la calidad de ese movimiento en una escala de 0-4 o de 0-5 en orden a la progresión de ese movimiento puede la motilidad individual se evalúa de la siguiente manera. (ELHORDOY Y FARÍAS, 2003)

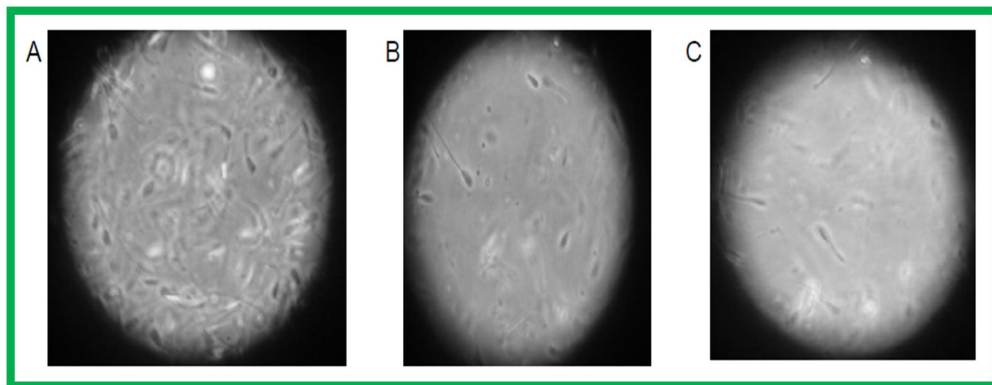
Muy Buena (MB): 80 - 100% con motilidad progresiva.

Buena (B): 60 - 79% con motilidad progresiva.

Regular (R): 40 - 59% con motilidad progresiva.

Pobre (P): < 40% con motilidad progresiva.

Grafico 5. Evaluación de la motilidad individual



(ELHORDOY Y FARÍAS, 2003).

El análisis visual microscópico de la motilidad individual progresiva tiene la tendencia a ser subjetivo, aunque sea efectuado por personal muy experimentado, y se toma tedioso cuando debe analizarse un gran número de muestras. Es por esta razón que la motilidad espermática no pronostica de una forma precisa la capacidad fecundante del espermatozoide.

1.5.5. Evaluación de la morfología espermática

Las células espermáticas son translúcidas y se ven transparentes al observarlas con microscopía de campo claro. Por lo tanto, es necesario usar la microscopía de contraste de fase o el uso de tinciones celulares para poder analizar la morfología de los espermatozoides. La tinción eosina-nigrosina es usada comúnmente como tinción de vitalidad celular para la determinación de espermatozoides "vivos y muertos" y también puede ser usada para evaluar la morfología espermática diferencial detallada. (AX, 2000)

El componente nigrosina proporciona un fondo de contraste a las células espermáticas, la eosina tiene la capacidad de penetrar o no los espermatozoides, lo cual es un indicador de la integridad de la membrana celular y en consecuencia, de la viabilidad o vitalidad celular. Una característica a tener en cuenta es que en semen de buena calidad, el porcentaje de espermatozoides con motilidad individual progresiva está directamente correlacionado con el porcentaje de espermatozoides vivos. (BARACALDO, 2007)

1.5.6. Concentración espermática

La determinación exacta del número de espermatozoides y el volumen del eyaculado define el número de hembras que pueden ser inseminadas. La concentración del eyaculado es de 2×10^8 espermatozoides/ml en toros jóvenes, a $1,8 \times 10^9$ espermatozoides/ml en los maduros. (AX, 2000)

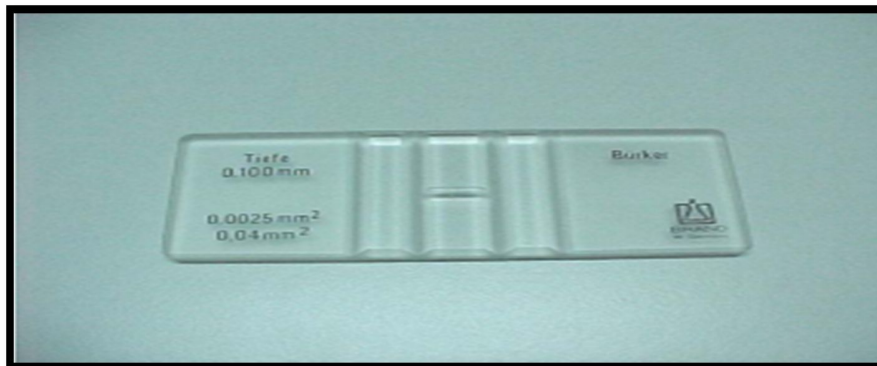
Este parámetro no solo está influido por la edad, sino por el método de colección, la condición corporal, desarrollo sexual, madurez del toro, régimen de alimentación, estado de salud reproductiva, tamaño de los testículos y la época del año. La concentración espermática se puede medir usando cámara de

Neubauer, turbimetría o espectrofotómetro. En el caso del hematocitómetro la cantidad de espermatozoides por cámara se cuenta manualmente, lo cual, pese a tomar mucho tiempo, es muy exacto. (BARACALDO, 2007)

1.5.7. Hemocitómetro o cámara de newbauer

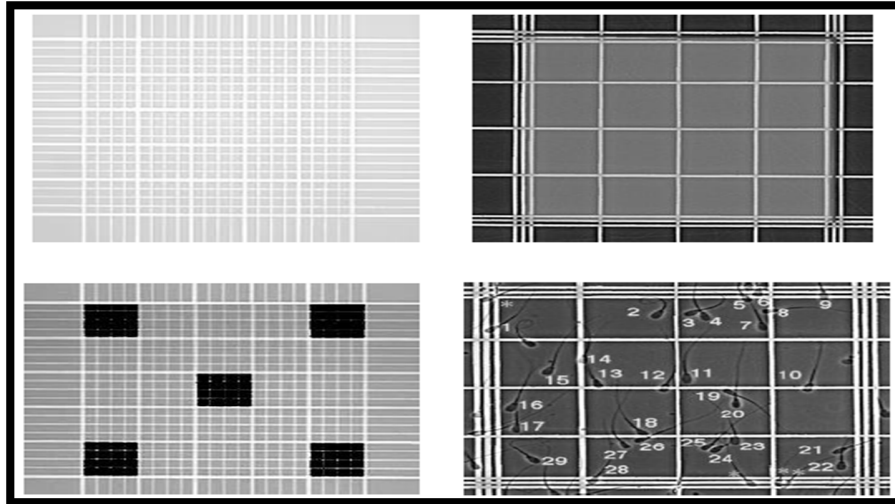
Los hemocitómetros son considerados el método estándar para determinar la concentración celular y para la calibración de sistemas electrónicos de recuento celular. El método es bastante confiable y económico, pero requiere alrededor de 10 minutos por muestra evaluada e implica el recuento visual de los espermatozoides, **Barato, lento y preciso.** (JANUSAKAUSKAS, 2002)

Grafico 6. Hemocitómetro o cámara de newbauer



(JANUSAKAUSKAS, 2002)

Grafico 7. Conteo de espermatozoides con la cámara de newbauer



(JANUSAKAUSKAS, 2002)

Morfología: se mezcla el semen con colorantes y se realiza un frotis.

Existiendo un gran número de tinciones como son: eosina-nigrosina, rojo de bengala Giemsa, Tinta china, Fuchina Fenicada.

1.5.8. Coloración post vital

Se ha reconocido durante las últimas décadas que una de las principales características que discriminan células muertas de las vivas es la pérdida de la función de transporte y la integridad física de la membrana plasmática. La combinación de colorantes para la tinción vital tales como azul de tripano-giemsa, eosina-nigrosina o eosina-azul de anilina (el más clásico) y algunos otros son ampliamente utilizados para diferenciar vivos de muertos.

(JANUSAKAUSKAS, 2002)

Usando eosina y azul de anilina provee un fondo oscuro (azul de anilina) tiñéndose las células de eosina. Esta última penetra la membrana de las células dañadas tiñendo las lesiones y los espermatozoides no viables de rosa (células muertas), en cambio las células viables repelen la eosina y aparecen blancas (células vivas).

1.5.9. Morfología y acrosomía

El estudio de la morfología espermática es muy importante a los fines de establecer porcentajes de espermatozoides normales y poder clasificar las anomalías. Nuestro interés sobre la morfología espermática radica en que ésta tiene gran impacto sobre la fertilidad del ganado. (TRIBULO, 2002)

El acrosoma es un lisosoma esencial para la función de la célula espermática, que cubre las dos terceras partes de la porción anterior de la cabeza espermática. La reacción acrosómica tiene lugar en el sitio de la fertilización y es activada por condiciones locales o por unión específica de enzimas contenidas en el lisosoma. O sea que las enzimas contenidas en el acrosoma permiten que el espermatozoide capacitado penetre el óvulo. Se estima como valor mínimo aceptable 75% de acrosomas normales y también 75% de espermatozoides normales (sin malformaciones). Pero este máximo de 25% de malformaciones espermáticas permitido, debe contemplar un límite máximo de defectos del núcleo (cabeza) del espermatozoide que se encuentre en el rango de 15-20%, mientras que defectos del acrosoma y la cola se pueden tolerar hasta 25%. (TRIBULO, 2002)

1.6. Malformaciones espermáticas

Primarias y secundarias:

Por definición se consideran anomalías “primarias”, aquellas que ocurren y/o tienen su origen durante la espermiogénesis dentro del testículo, mientras que las anomalías “secundarias”, se originan dentro del epidídimo o en el laboratorio. Sin embargo los defectos tanto primarios o secundarios son igualmente importantes como indicadores de un mal funcionamiento testicular. Por ende, esta clasificación evalúa origen, no severidad. Se consideran que la clasificación de las anomalías en primarias y secundarias además de obsoleta presenta algunas dificultades, tales como la gota proximal que se clasifica como secundario porque se creía originada en un disturbio de la función del epidídimo.

Lo mismo pasa con el defecto de cabezas sueltas, las que pueden darse por una alteración de la base que conecta la cabeza del espermatozoide con la porción media del capitulum (siendo por lo tanto un defecto primario), o se puede dar por una función anormal del epidídimo (siendo un defecto secundario). (JANUSAKAUSKAS, 2002)

1.6.1. Cabezas piriformes y angostas

Zona posacrosomal más angosta, los espermatozoides con formas piriformes obvias (de pera) son anormales. En la mayoría de los casos se encuentran estas anomalías junto con otras e indican un defecto de espermatogénesis.

1.6.2. Microcefalia y macrocefalia

Existe una gran variación de formas y tamaños, aunque ésta es bastante común, generalmente se encuentran en proporción muy pequeña. La mayoría de estas células mueren o son fagocitadas por las células de Sertoli antes del llegar al estadio de espermátide. Esta es la razón por la cual no se encuentran en altos porcentajes en el extendido de semen. (WARD, 2002)

1.6.3. Vacuolas nucleares

Las vacuolas nucleares se encuentran primariamente como una línea en la región ecuatorial de la cabeza del espermatozoide (defecto “diadema”).

1.6.4. Defectos de acrosoma

En este defecto nos encontramos con un acrosoma aumentado de tamaño (generalmente conteniendo un quiste y un cuerpo de inclusión) que se pliega en la región apical de la cabeza del espermatozoide. (WARD, 2002)

1.6.5. Cabezas sueltas

Se pueden encontrar espermatozoides decapitados en pequeño número en semen normal, este defecto puede ser producido por envejecimiento o por un defecto de implantación de la cola en la placa basal. Cuando se encuentra en mayor cantidad, están asociados con defectos en la termorregulación del testículo y en estos casos es producido, aparentemente, por un defecto en la espermiogénesis. En los casos de toros muy gordos el defecto se encuentra asociado con otros defectos espermáticos. Las cabezas sueltas y muchos espermatozoides muertos se encuentran en toros con una acumulación del semen en la cola del epidídimo. Normalmente los espermatozoides son eliminados de la cola del epidídimo a través de un movimiento peristáltico hacia la uretra. (WARD, 2002)

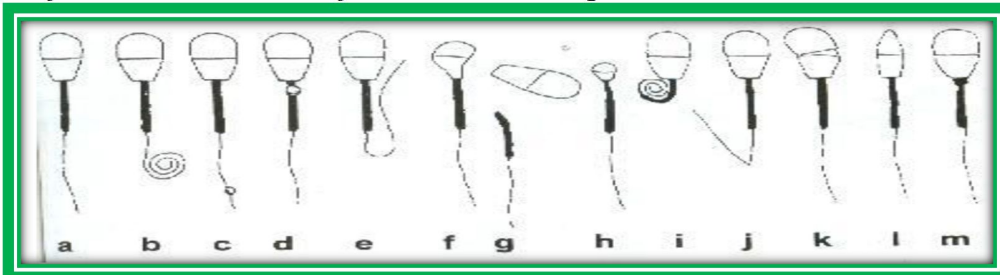
1.6.6. Aplasia segmentaria de la pieza intermedia

Estos pequeños defectos en las mitocondrias no afectan notablemente la motilidad espermática pero representan un lugar frágil que pueden terminar en fracturas de la pieza media. Raramente se encuentran en alta incidencia.

1.6.7. Colas abaxiales, accesorias y múltiples

Algunas anomalías de cola pueden tener su origen en los testículos de los toros con o sin fertilidad disminuida, pero una mayor prevalencia de anomalías de cola, es generalmente el resultado de disfunción epididimal. Estas anomalías están usualmente asociadas entre sí, sin embargo las colas abaxiales son las más comunes, no produciendo reducción de la fertilidad. El defecto de cola accesorio es poco común y aparentemente hereditario. Las colas accesorias están generalmente presentes junto con colas abaxiales y colas dobles. No se sabe si espermatozoides con colas accesorias tienen reducida su capacidad de fertilizar el óvulo. (WARD, 2002)

Grafico 8. Anormalidades frecuentes de los espermatozoides



a.- espermatozoide normal, b.- cola enrollada proximal, c.- gota citoplasmática distal, d.- gota citoplasmática proximal, e.- cola doblada, f.- cabeza anormal pequeña, g.- cabeza o cola suelta, h.- cabeza normal pequeña, i.- cola enrollada, j.- cola quebrada, k.- membrana acrosomal perdida, l.- contorno cefálico anormal, m.- cuello ancho. La morfología mínima recomendada es el 70% de células normales. (WARD, 2002)

Valores aceptables

Para que un semen pueda ser considerado como de “Calidad Aceptable” y poder ser congelado, debería cumplir con los siguientes requisitos especificados en la siguiente tabla.

Cuadro 10. Parámetros de aceptabilidad seminal

Pruebas macroscópicas	Valores de referencia
Volumen	>2 ml
Aspecto	Lechoso a cremoso
Color	Blanco cremoso
Motilidad en masa	> o = 3 (0-5)
Ph	6,5 – 6,9
Cuerpos extraños	Ausentes
Pruebas microscópicas	
Motilidad en masa	> o = 3 (0-5)
Motilidad individual	> 70%
Vigor	> o = 3 (0-5)
Concentración	>o= 750.000.000spz/cm3
Coloración vital	> 70%
Morfología y acrosomía:	
Defectos cabeza	< 15-20%
Defectos acrosoma y cola	< 25%
Anormalidades totales	< 25%

(AX ET AL., 2000; DPTO. TERIOGENOLOGÍA; ELHORDOY Y FARÍAS, 2003).

CAPÍTULO II

2. *MATERIALES Y MÉTODOS*

En este capítulo se presenta una breve descripción del lugar donde se ejecutó la presente investigación, materiales, métodos utilizados, condiciones geografías, climáticas y localización.

Ubicación de la toma de Muestras

País: Ecuador.

Provincia: Tungurahua.

Cantón: Ambato.

Sector: Parque Industrial

Nombre del camal: “Camal Frigorifico Ambato”

Coordenadas geográficas:

Altitud: 2.577 msnm.

Latitud: 1° 13' 28 S

Longitud: 78°; 37' 11; W

Fuente: Directa.

Elaborado por: Naranjo, P. 2015

2.1.1. Características del lugar de la investigación.

La presente investigación se ejecutó en el CEYPSA - Universidad Técnica de Cotopaxi.

2.1.2. Ubicación política del ensayo

- **Continente:** América (Sudamérica)
- **País:** Ecuador
- **Provincia:** Cotopaxi
- **Cantón:** Latacunga
- **Parroquia:** Eloy Alfaro
- **Barrio:** Salache Bajo, Universidad Técnica de Cotopaxi.

2.1.3. Situación geográfica

- **Latitud:** 00, 59'57" S
- **Longitud:** 78'37'14" W
- **Altitud:** 2.725 msnm
- **Temperatura:** 13.5 C
- **Superficie:** tiene una área de 1377 km²
- **Humedad:** 70%.

FUENTE:(INAMHI 2015)

2.1.4. Características Meteorológicas

Temperatura promedio: 10.7°C

Pluviosidad: 175 mm (anuales)

Horas luz/ día: 12 horas.

Viento: Sureste- Noreste.

Nubosidad anual: 4.7/8.

Humedad relativa: máxima 96% mínima 61% media 68%

Clima: Templado – frío, 13 a 20 grados y Fría a partir de los 3.000 metros de altura en el páramo.

FUENTE: INAMHI 2015.

2.1.5. Límites

Norte: Provincia de Pichincha.

Sur: Cantón Salcedo.

Este: Provincia del Napo.

Oeste: Cantones Sigchos, Saquisilí y Pujilí.

Fuente: *Registros administración CEYPSA 2015*

2.2. Recursos

2.2.1. Recursos humanos

- Tesista: Naranjo Avila Paúl Eduardo.
- Director de tesis. Dr. Edwin Pino.

2.2.2. De campo

- Testículos con su respectivo epidídimo.
- Mandil.
- Guantes de manejo.

2.2.3. De Laboratorio

- Microscópio óptico.
- Vasos de precipitación de 100 mL.
- Termómetro.
- Tubos de ensayo de 15 mL.
- Placas Petri.
- Cámara de Neubauer.

- Laminas porta objetos.
- Laminas cubre objetos.
- Equipo de disección.
- Hojas de bisturí N° 10, 11, 20, 21.
- Caja de tecnopor.
- Balanza gramera.
- Venier o pie de rey.
- Cinta métrica.

2.2.4. Material desechable

- Jeringas descartables de 5 y 10ml.
- Jeringas de tuberculina.
- Tips (puntas descartables para micropipetas).
- Bolsas hermeticas
- Guantes de exploracion.
- Reactivos
- Eosina (5%).
- Nigrosina (10%).
- Citrato de sodio bihidratado.
- Solucion salina normal al (0.89% NaCl).

2.2.5. Recursos Materiales Oficina

- Marcadores.
- Registros.
- Cámara de fotos
- CDs.
- Copias

- Anillados
- Impresiones.
- Impresora
- Internet
- Computadora

Material biológico.

Fluido epididimario de toros post-mortem provenientes del camal frigorífico de la Ciudad de Ambato.

2.3. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Para el desarrollo de la presente investigación se utilizó el tipo descriptivo.

2.3.1. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

2.3.1.1. Investigación Descriptiva.

Tipo de investigación que describe de modo sistemático las características de una población, situación o área de interés. En este método los investigadores recogen los datos sobre la base de una hipótesis o teoría, exponen y resumen la información de manera cuidadosa y luego analizan minuciosamente los resultados, a fin de extraer generalizaciones significativas que contribuyan al conocimiento científico que implica observar y describir el comportamiento de un sujeto sin influir sobre ninguna manera. (BARAY, 2006)

Este estudio trata sobre la evaluación de los parámetros de fluidos epididimarios post-mortem en la especie bovina, se miden y evalúan diversos aspectos macroscópicos y microscópicos del espermatozoides teniendo como referencia los parámetros de morfología testicular.

2.3.2. METODOLOGÍA

2.3.2.1. Investigación no experimental

La investigación no experimental es aquella que se realiza sin manipular deliberadamente variables. Es decir, es investigación donde no logra variar intencionalmente las variables independientes. Lo que hacemos en la investigación no experimental es observar fenómenos tal y como se dan en su contexto natural, para después analizarlos. Como señala “La investigación no experimental es un factor expuesto es cualquier investigación en la que resulta imposible manipular variables o asignar aleatoriamente a los sujetos o a las condiciones”. De hecho, no hay condiciones o estímulos a los cuales se expongan los sujetos del estudio. Son observados en su ambiente natural, en su realidad. (MUÑOS, 2004)

2.3.3. Métodos

Para la presente investigación se utilizó el método inductivo y deductivo.

2.3.3.1. Inductivo

Se utilizó el método inductivo o inductivismo porque se obtuvo conclusiones generales a partir de las premisas particulares. Se trata del método científico más usual, que se caracteriza por cuatro etapas básicas: la observación y el registro de todos los hechos; el análisis y la clasificación de los hechos; la derivación inductiva de una generalización a partir de los hechos; y la contrastación. (MUÑOS, 2004)

2.3.3.2. Deductivo

El método deductivo es un método científico que considera que la conclusión está implícita en las premisas; ósea, que la conclusión que deriva de acuerdo a los resultados de los parámetros seminales epididimarios encontrados está en

dependencia de éstos. Por lo tanto, supone que las conclusiones siguen necesariamente a las premisas: si el razonamiento deductivo es válido y las premisas son verdaderas, la conclusión sólo puede ser verdadera. (GONZALES, 2014)

2.3.3.3. Técnicas

Las técnicas son los procedimientos e instrumentos que utilizamos para acceder al conocimiento. En este caso se utilizó para el análisis de laboratorio el método descriptivo, para la evaluación macroscópica y microscópica a través de la observación de los espermatozoides epididímaros respecto a la morfometría testicular.

2.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

2.4.1. Estadística Descriptiva para cada variable.

La primera tarea es describir los datos, valores o puntuaciones obtenidas para cada variable, los resultados obtenidos se tabularon y están representados mediante cuadros y gráficos estadísticos. (MUÑOZ, 2004)

2.4.2. Unidad de estudio

Para la evaluación de los parámetros de fluido epididimario post-mortem en la especie bovina de la población bovina del Camal Frigorífico de la Ciudad de Ambato; en el presente estudio se emplearon 10 toros mestizos, en edad de 24 meses, se valoró mediante la observación clínica el estado de salud de los mismos. El peso de los individuos o semoviente marco un rango aproximado de 550 kg hasta los 600 kg.

2.5. MANEJO DEL ENSAYO

Este ensayo tuvo una duración de 60 días, arrancando desde el censo, muestreo, identificación de los animales, hasta el estudio de los parámetros morfométricos y morfológicos respecto a cada muestra epididimaria analizada.

Se realizó una inspección y palpación del escroto, y testículos post-mortem para descartar cualquier patología o anomalía que pudiera alterar los datos obtenidos en la investigación. Se inspeccionó y evaluó su forma, tamaño, integridad, grosor de la piel escrotal y simetría testicular.

Luego se transportó cada muestra en un recipiente estéril con suero fisiológico, sellado e identificado, en una caja térmica a temperatura ambiente (18 ° C) durante 1 hora hasta el laboratorio para ser analizada.

Posteriormente en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Técnica de Cotopaxi se midió la circunferencia escrotal, tomando con una mano firmemente a nivel del cuello del escroto, haciendo descender los testículos, midiéndola con cinta métrica y con el vainer o pie de rey el punto de mayor circunferencia testicular (largo, ancho y diámetro).

Después se colectó la muestra de fluido epididimario de los animales (por el método de desmenuzamiento), con el fin de realizar un examen macro y microscópico del mismo. El fluido epididimario extraído se almacenó en cajas petric, y se manejó en un ambiente a 25 – 35 °C hasta que se terminó el análisis a nivel de campo y se inició el procesamiento para su análisis en el laboratorio.

Se obtuvo las muestras espermáticas directamente de la cola del epidídimo utilizando la técnica de desmenuzamiento, para la evaluación microscópica y macroscópica, determinando valores de motilidad individual y masal espermática, concentración, vivos, muertos, olor, color, y ph de las muestras.

Los parámetros o variables que se utilizaron para este estudio son los siguientes:

2.5.1. Evaluación macroscópica del semen epididimario.

- a). Volumen.
- b). Color.
- c). Olor.
- d). pH.

2.5.2. Evaluación microscópica del semen epididimario.

- a). Concentración espermática.
- b). Motilidad masal.
- c). Motilidad individual.
- d). Morfología. (Vivos, Muertos).

2.5.3. Morfometría testicular post-mortem.

- a). Peso.
- b). Largo
- c). Ancho.
- d). Diámetro.

2.6. EVALUACIÓN ESPERMÁTICA

2.6.1. Examen macroscópico

El primer examen a realizarse para valoración del fluido epididimario es el examen macroscópico, el cual consiste:

a). **Volumen:** obtenido de 0.2 a 0.6 ml.

La cola del epidídimo asépticamente separada las tunicas serosas y vasos sanguíneos fue completamente desmenuzada (cortada finamente) en una placa Petri.

2.6.2. Recolección de espermatozoides epididimarios mediante desmenuzamiento

El método de recolección de espermatozoides empleado fue el desmenuzamiento de la cola del epidídimo, (cortada finamente) en una placa Petri.

El contenido de la placa Petri se vierte en una jeringa de 20 mL (usando un embudo de vidrio) para forzar el material desmenuzado por un filtro estéril de 0.4 –0.75 micrones, y ese filtrado se recogió en tubos de centrifuga (50mL), este proceso se repite con 10 -20 ml de cloruro de Na medio de lavado adicional.

La centrifugación se realizó a baja velocidad (300 x g) por 5min para concentrar la muestra y el sobrenadante se descartó. (BARRIOS, 2002)

a). **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.

b). **Olor:** Es parecido aun olor a dulzón o suigenéris de la especie.

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

2.6.2. Evaluación microscópica

a). **Concentración espermática:** La evaluación de la concentración se realizó mediante el método de Hemocitómetro.

Se cubrió la cámara de Neubauer con su lámina cubreobjetos y se colocó una gota en cada campo, se dejó en reposo unos 4 a 5 minutos antes de contar. Se localizó con menor aumento uno de los campos, y se realizó el conteo en un microscopio óptico a 400x, se contaron 5 cuadrados de los 25 existentes. Se contará sólo los espermatozoides comprendidos dentro de la doble línea izquierda y superior.

b). **Motilidad masal:** Para la valoración se utilizó la técnica de gota gruesa, la cual consistió en colocar una gota del tamaño grande de semen epididimario, 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%.

Los resultados se expresarán en porcentaje, según la siguiente ecuación:

$$\text{Motilidad Total} = \frac{\text{Número de espermatozoides móviles.}}{\text{Número Total de espermatozoides observados.}} \times 100$$

c). **Motilidad individual:** Se colocó el semen epididimario fresco diluido en un suplemento caliente, se colocó una lamina cubre objetos y se miró a 20X, evaluando el porcentaje de espermatozoides móviles, movimiento hacia el frente; el número de espermatozoides con movimiento al frente se dividió entre el número de células totales (móviles e inmóviles).

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, calificándolas de la siguiente manera:
- 20% Movilidad progresiva rápida.
- 30% Movilidad progresiva lenta.
- 10% Movilidad en un mismo lugar.
- 40% 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.

2.6.3. Morfología

(Vivos, Muertos): Se examino el semen epididimario, 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 colocó una gota de eosina-nigrosina sobre un extremo de la placa luego, se colocó 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 observó al microscopio (40X–100X). El contaje de 100 espermatozoides entre vivos y muertos nos dió 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.

Los resultados se expresarán en porcentaje, según la siguiente ecuación:

Para vitalidad:

$$\% \text{ vivos} = \frac{\text{Número de espermatozoides sin coloración.}}{\text{Número Total de espermatozoides observados.}} \times 100$$

2.6.4. Morfometría testicular post-mortem

- a). ***Peso***: Se lo realizó mediante una gramera digital para obtener datos exactos expresada en **gr.** para cada par de testículos.
- b). ***Largo y Ancho***: Se obtuvo mediante el Vainer o pie de rey, obteniendo medidas promedio de 11 a 12 cm de largo y el ancho entre 5 y 7 cm.
- c). ***Diámetro***: la toma se lo realizó con una cinta métrica alrededor del testículo en la porción media, determinando medidas promedio de 17 a 20 cm de diámetro.

CAPÍTULO III

3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente capítulo se analizan y comparan los resultados obtenidos respecto a los datos recolectados. Así como las conclusiones y recomendaciones.

3.1. Registro de la información morfológica del testículo

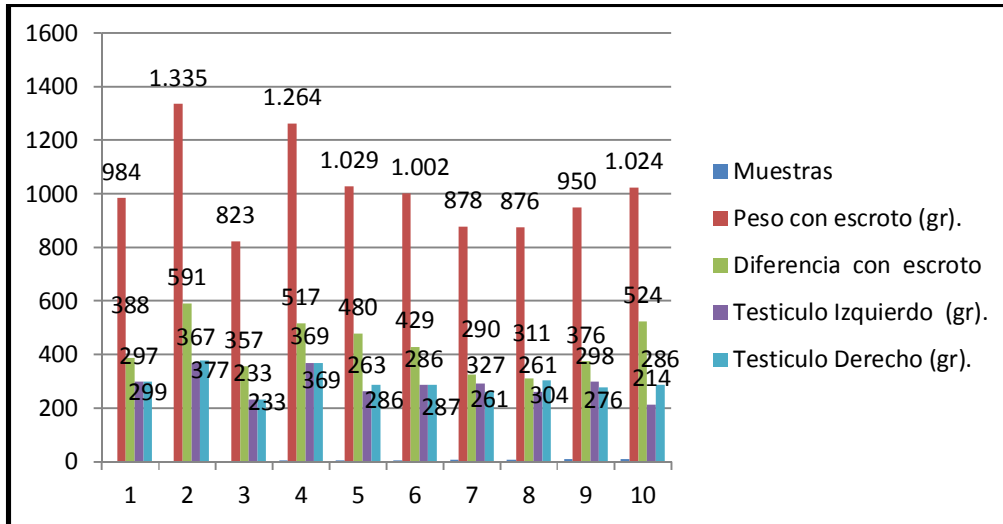
Tabla N° 1. Morfometría testicular

Muestra	Peso con escroto (g).	Peso del escroto (g).	Testicul o Izquierd o (g).	Testiculo Derecho (g).	Largo (cm).		Diámetro (cm).		Ancho (cm).	
					Vainer Izquierd o	Derecho	Izquierd o	Derecho	Izquierd o	Derecho
1	984	388	297	299	12.4	12.4	20	20	5.3	5.3
2	1.335	591	367	377	16	16	21	21	6.7	6.7
3	823	357	233	233	13	13	16	16	5	5
4	1.264	517	369	369	14.5	15	20	21	8	8
5	1.029	480	263	286	13.5	13	18	19	7	7
6	1.002	429	286	287	12.9	12.6	19	19	7.2	7.2
7	878	327	290	261	12.7	13.2	19	18	6.8	6.8
8	876	311	261	304	11.7	11.7	18	20	7	7
9	950	376	298	276	11.9	11.8	19	19	6.9	6.9
10	1.024	524	214	286	12.7	12.7	17	18	6.6	6.6
Total	10165	4300	2878	2978	129,8	131,4	187	191	62,1	65,2
Promedio	1016,5	430	287,8	297,8	12,98	13,14	18,7	19,1	6,21	6,52

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila.

GRAFICO N° 9. Morfometría Testicular



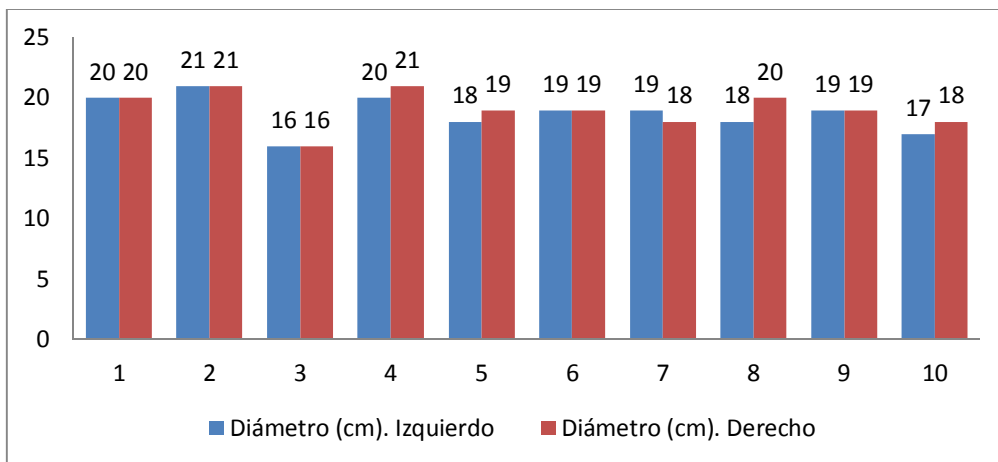
Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila.

De acuerdo a la Tabla N°1 y Grafico N°9, la morfometría testicular evidencia y relaciona las diferencias entre el testículo derecho (dr) respecto el testículo izquierdo (iz) de acuerdo a la medida de la tasa de crecimiento testicular. Se observa que la muestra 1 presenta un peso de 984g de testículos y escroto, sin embargo cada testículo presenta un peso de 297g el iz y 299g el dr. La muestra 2 presenta un peso máximo de 1.335g de testículo y escroto respecto al resto de muestras, con un peso de testículo de 367g el dr y 377g el iz. El peso de la muestra 3 fué de 823g de testículos y escroto considerado como mínimo respecto al resto de muestras, con un peso de 233g el dr y 233g el iz. La muestra 4 presenta un peso de 1.264g de testículos y escroto, con pesos de 369g el iz y 378g el dr y la diferencia del escroto es de 517g. La muestra 5 presenta un de peso 1029g de testículos y escroto, con un peso de 263g el iz y de 286g el dr, y de peso del escroto de 480g. La muestra 6 presnta un peso de 1.002g de testículos y escroto, con peso 286g el iz y 287g el dr, y con peso del escroto de 429g. La muestra 7 peso 878g de testículos y escroto, con peso de 290g el iz y 261g el dr y con peso del escroto de 327g. La muestra 8 tiene un peso de 876g

de testículos y escroto, con un peso de 261g el iz y 304g el dr, con un peso del escroto de 311g. La muestra 9 tiene un peso de 950g de testículos y escroto, con peso de 298g el iz y 276g el dr, y con un peso del escroto de 376g, y la muestra 10 tiene un peso de 1.024g de testículos y escroto, con un peso de 214g en el iz, y 286g en el dr, con un peso del escroto de 524g. En consecuencia, estos pesos están considerados dentro de los rangos establecidos y determinados por la edad y mestizaje en el que se determina que el testículo derecho es más pesado, de mayor largo, diámetro y ancho que el testículo izquierdo. Según Saavedra, (2013), en ganadería de lidia halla el peso del testículo derecho de $295,5 \pm 4,56$ g y el izquierdo es de $293,50 \pm 4,41$, así en otra ganadería el peso del testículo derecho de $323,17 \pm 14,93$ y el peso del testículo izquierdo $321,12 \pm 14,93$; Sudheer,(2000) y Chacón,(2002) obtuvieron un peso testicular promedio de 267,12g. Estos datos encontrados son similares a los obtenidos en nuestro trabajo de investigación.

Grafico N° 10. Medida del testículo



Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila.

De acuerdo a la Tabla N°1 y Gráfico N°10, la morfometría relaciona directamente el largo, ancho y diámetro total de los testículos , alcanzando en la muestra 1 (12.4cm de largo y de ancho 5.3cm), en la muestra 2 (16cm de largo y 6,7cm de ancho), en la muestra 3 (13cm de largo y 5cm de ancho), en la muestra 4 (15cm de largo y 8cm de ancho), en la muestra 5 (13cm de largo y 7cm de ancho), en la muestra 6 (12.9cm de largo y 7,2cm de ancho), en la muestra 7 (7cm de largo y 6,8cm de ancho), en la muestra 8 (11.7cm de largo y 7cm de ancho), en la muestra 9 (11.9cm de largo y 6,9cm de ancho), y la muestra 10 (12.7cm de largo y 6,6cm de ancho); que son muy similares a los resultados reportados por Sudheer, (2000); Chacón, (2002) en que determinan un promedio en el largo testicular de 11,36cm y de ancho de 5,56cm.

Cuadro N°11 Resultados macroscópicos de la motilidad espermática en masa del fluido epididimario post-mortem de la especie bovina.

Calificación	Movimiento en masa	MUESTRAS												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
Muy buena (75-100%)	Remolinos rápidos					1	2							
Buena (50-75%)	Remolinos lentos	3	4	5					8	9				
Regular (25-50%)	Oscilante						6						10	
Mala (0-25%)	Vibración										7			

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila.

En la Cuadro N° 11: Se muestran los porcentajes obtenidos respecto a la motilidad espermática epididimal masal post-mortem analizados a las 00:00 horas y posterior a las 12:00 horas y 24:00 horas; en él proporcionaron resultados variables, desde muy buenos a malos de acuerdo a la escala estimada de valoración. El análisis a las 00 horas de las muestras de fluido y su valoración, determinó que el fluido era de buena calidad, estimado por los remolinos rápidos observados (75-100% de motilidad masal); sin embargo las muestras de fluido analizadas posterior a las 12h presentaron una motilidad masal, estimada como remolinos lentos (25-50% motilidad masal). Así, el análisis de las muestras de fluido a las 24h presentaron motilidad masal mala o nula (0-25% en todas las muestras). Se considera que los resultados obtenidos son similares a los reportados por Col, (2007) en la que determina que la motilidad de los espermatozoides frescos colectados del epidídimo fue elevada, variando entre 70 a 80%, considerada dentro de los límites normales en la especie bovina. Además, Martins, (2007) indica y refiere que entre las características de valoración de la fertilidad está la motilidad espermática, que es fundamental para que los espermatozoides alcancen el ambiente uterino, y el sitio de la fertilización, considerándose uno de los criterios más importante en la evaluación de las células espermáticas antes y después de la valoración macroscópica.

3.2. Características microscópicas evaluadas.

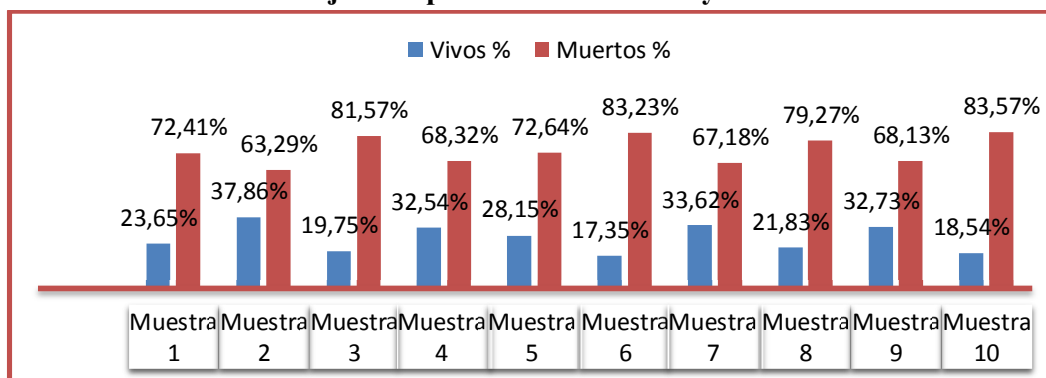
Tabla N° 2. Porcentaje de Espermatozoides vivos y muertos obtenidos del fluido epididimario post-mortem en la especie bovina.

Numero de muestra	Vivos %	Muertos %
Muestra 1	23,65%	72,41%
Muestra 2	37,86%	63,29%
Muestra 3	19,75%	81,57%
Muestra 4	32,54%	68,32%
Muestra 5	28,15%	72,64%
Muestra 6	17,35%	83,23%
Muestra 7	33,62%	67,18%
Muestra 8	21,83%	79,27%
Muestra 9	32,73%	68,13%
Muestra 10	18,54%	83,57%
Total:	265,02%	739,61
Promedio	26,5 %	73,9%

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila.

Gráfico N° 11. Porcentaje de espermatozoides vivos y muertos



Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila.

En el Tabla N°2, GRÁFICO N°11: Respecto a la valoración del fluido epididimario post-mortem se muestran los porcentajes obtenidos de espermatozoides vivos y muertos; la muestra 1 con un **23,65%** de vivos y **72,41%** de muertos, en la muestra 2 con el **37,86%** de vivos y **63,29%** de muertos, en la muestra 3 con **19,75%** de vivos y un **81,57%** de muertos, en la muestra 4 con **32,54%** de vivos y un **68,32%** de muertos, en la muestra 5 con **28,15%** de vivos y **72,64%** de muertos, la muestra 6 con **17,35%** de vivos y **83,23%** de muertos, en la muestra 7 con **24,62%** de vivos y **67,18%** de muertos, la muestra 8 se obtuvo con **21,83%** de vivos y **67,18%** de muertos, en la muestra 9 con **32,73%** de vivos y **68,13%** de muertos, y la muestra 10 con **18,54%** de vivos y de **83,57%**. Posiblemente la alta mortalidad evidenciada de espermatozoides se deba al stres térmico, y a la desvinculación total con los componentes del fluido epididimario o a la técnica empleada para su manejo y colecta. Según Saavedra,(2013) nos indica que el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos en ganaderías en las que se recolecto espermatozoides del epidídimo derecho hallando un **77,17 ± 6,05%** de vivos y en el epidídimo izquierdo **73,58 ± 6,25%** de vivos; comparando con la otra ganadería, esta presentó un **77,83 ± 3,87%** de espermatozoides vivos de epidídimo derecho a diferencia del izquierdo con un **77,00 ± 4,60%**, mientras Rutter, (2006), considera un porcentaje de espermatozoides de epidídimo como valor mínimo aceptable que sería del 70 % de espermatozoides vivos.

Cuadro N° 12 Volumen, color, olor y Ph del fluido epididimario post-mortem en la especie bovina.

	Volumen ml	Color	Olor	Ph
Muestra 1	0,8 ml	Blanco lechozo	Leche fresca	5,4
Muestra 2	1,2 ml	Blanco lechozo	Leche fresca	5,4
Muestra 3	0,7 ml	Blanco lechozo	Leche fresca	5,2
Muestra 4	1,1 ml	Blanco lechozo	Leche fresca	5,6
Muestra 5	0,5 ml	Blanco lechozo	Leche fresca	5,8
Muestra 6	1,3 ml	Blanco lechozo	Leche fresca	5,1
Muestra 7	0,5 ml	Blanco lechozo	Leche fresca	5,4
Muestra 8	0,8 ml	Blanco lechozo	Leche fresca	6,2
Muestra 9	1,0 ml	Blanco lechozo	Leche fresca	6,3
Muestra 10	0,6 ml	Blanco lechozo	Leche fresca	5,3
Total:	8,5 ml	Blanco lechozo	Leche fresca	5,8
Promedios	0,85 ml			5,5

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila.

En la Cuadro N° 12, se presentan los valores de volumen, color, olor y pH obtenidos del análisis del fluido epididimario post-mortem en cada una de las muestras, determinando un rango de volumen de 0,5 a 1,3 ml, así como el rango del pH que va desde 5,1 a 6,3 y el color blanco lechoso y olor a leche fresca. Según Baracaldo,(2007) la capacidad de producción de semen por gramo de tejido testicular, está directamente correlacionada con la circunferencia escrotal, volumen y la concentración espermática en toros jóvenes respecto al peso total del animal. Hozborf, (2011) menciona que el semen posee una coloración blanquecina o ligeramente amarillenta, y su opacidad se halla en función de la concentración espermática, un fluido epididimario lechoso con 400 a 750 millones de espermatozoides por ml es bueno, pero un fluido epididimario como leche aguada con 250 a 400 millones de espermatozoides por ml se lo califica como regular y un fluido epididimario translúcido acuoso con menos de 250 millones de espermatozoides por ml es malo. Así Gómez, (2011) señala que el olor típico a dulzón se relaciona con la base del producto de la espermia producida en el tracto reproductor del macho, mientras Bearden, (1980) manifiesta que el fluido epididimario es un poco ácido, su pH oscila entre 6,2 y 6,8 y que las muestras de mayor acidez son más fértiles; así los alcalinos se descubren en los casos de enfermedades inflamatorias de los testículos, vesículas seminales o conductos sexuales.

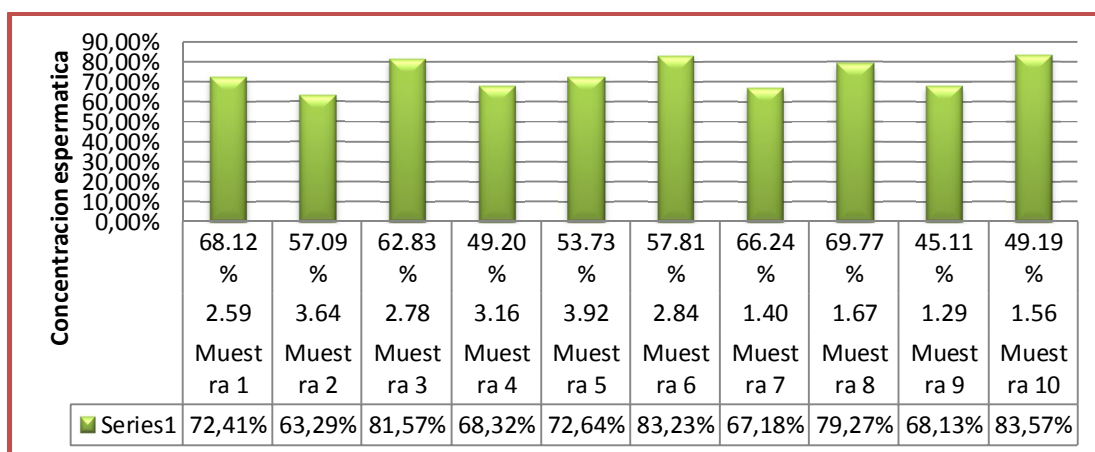
Tabla N° 3 Concentración espermática, motilidad individual y mortalidad espermática epididimaria

Numero de muestra	Concentración espermática x10 ⁶	Motilidad en Individual %	Mortalidad %
Muestra 1	2.59	68.12%	72,41%
Muestra 2	3.64	57.09%	63,29%
Muestra 3	2.78	62.83%	81,57%
Muestra 4	3.16	49.20%	68,32%
Muestra 5	3.92	53.78%	72,64%
Muestra 6	2.84	57.81%	83,23%
Muestra 7	1.40	66.24%	67,18%
Muestra 8	1.67	69.77%	79,27%
Muestra 9	1.29	45.11%	68,13%
Muestra 10	1.56	49.19%	83,57%
Total:	24.85 x10 ⁶	579.14%	739,61%
Promedios	2.48 x10 ⁶	57,91%	73,93%

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila.

Grafico N° 12. Motilidad y Mortalidad en masa de lo espermatozoides del Epidídimo



Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila.

En la Tabla N°3 Gráfico N°12, respecto al fluido epididimario post-mortem se muestran la concentración espermática, motilidad individual y mortalidad. Determinando el promedio de las muestras analizadas respecto a concentración espermática 24.85×10^6 , motilidad individual es **57,91%** y mortalidad **73,93%**. En la muestra 1 el porcentaje de concentración espermática es 2.59×10^6 con una motilidad individual es **68.12%** y mortalidad del **72,41%**, en la muestra 2 el porcentaje de la concentración espermática es 3.64×10^6 con una motilidad individual es **57.09%** y con una mortalidad del **63,29%**, en la muestra 3 el porcentaje de la concentración espermática es 2.78×10^6 con una motilidad individual es **62.83%** y con una mortalidad del **81,57%**, en la muestra 4 el porcentaje de la concentración espermática es 3.16×10^6 con una motilidad individual es **49.20%** y con una mortalidad del **68,32%**, en la muestra 5 el porcentaje de la concentración espermática es 3.92×10^6 con una motilidad individual es **53.78%** y con una mortalidad del **72,64%**, en la muestra 6 el porcentaje de la concentración espermática es 2.84×10^6 con una motilidad individual es **57.85%** y con una mortalidad del **83,23%**, en la muestra 7 el porcentaje de la concentración espermática es 1.40×10^6 con una motilidad individual es **66.24%** y con una mortalidad del **67,18%**, en la muestra 8 el porcentaje de la concentración espermática es 1.67×10^6 con una motilidad individual es **69.77%** y con una mortalidad del **79,27%**, en la muestra 9 el porcentaje de la concentración espermática es 1.29×10^6 con una motilidad individual es **45.11%** y con una mortalidad del **68,13%**, en la muestra 10 el porcentaje de la concentración espermática es 1.56×10^6 con una motilidad individual es **49.19%** y con una mortalidad del **83,57%**, comparado con los reportes de **Saavedra, (2013)** en el que reporta concentraciones promedio halladas en el epidídimo derecho de $412,5 \pm 33,40$ y el izquierdo $412,5 \pm 41,75$,

motilidad en masa del epidídimo derecho de **51,5 ± 2,50**, y el izquierdo con **50,70 ± 2,73**, con una tasa de mortalidad del epidídimo derecho del **77,17 ± 6,05%** y el izquierdo de **73,58 ± 6,25%**. Además Phillips, (2004) señala que la valoración visual de la motilidad espermática es el método más simple, rápido y barato existente; sin embargo, es altamente subjetivo, puesto que los resultados obtenidos dependen en gran parte de la habilidad y experiencia del técnico que evalúa las muestras.

DISCUSIÓN

La cola del epidídimo se considera como uno de los principales lugares para el almacenamiento de los espermatozoides, por lo tanto estas células pueden permanecer viables por varias semanas y con suficientes espermatozoides para varias eyaculaciones, considerándose una fuente importante de germoplasma de fácil acceso.

Es importante recordar que existen pocos estudios de colecta, criopreservación e inseminación con espermatozoides epididimarios (Barbosa y col, 2001). Por lo tanto no se debería descartar ésta como última posibilidad para su preservación o utilización en biotecnologías de la reproducción.

Mediante la utilización de la técnica de desmenuzamiento de la cola del epidídimo fueron recolectados, en promedio 2.48×10^6 espermatozoide/animal, correspondiente a la cantidad de células recolectadas en un eyaculado reportados por (Goncalves y col 2008). En tal sentido, se conoce que el epidídimo es capaz de almacenar algunos eyaculados, la cantidad obtenida podría haber sido superior a la presentada en este trabajo, sin embargo los toros utilizados provenían de un camal, donde la calidad y valoración reproductiva no es considerada. Por tal motivo, se utilizó el promedio/animal ya que de acuerdo a Goovaerts y col (2006) un epidídimo no puede ser control del otro, ya que hay diferencias significativas en la calidad y cantidad de células colectadas de los epidídimos del mismo animal.

Adicionalmente, respecto a algunos parámetros espermáticos evaluados, en el presente ensayo se podrían utilizar para predecir la fertilidad, tal como lo descrito por Correa y col (1977) que reportan una correlación de fertilidad *in vivo* con la motilidad espermática. Así, la motilidad espermática en masa de los colectados del epidídimo fue inferior, variando en un rango de entre 45,11% a

69,77%, considerados bajo los límites normales para la especie (CBRA 1998). La motilidad espermática es fundamental para que los espermatozoides alcancen el ambiente uterino, en tal sentido se considera uno de los parámetros más importantes en la evaluación de las células espermáticas (Siqueira y col 2007). Adicionalmente se podría describir que la reducción en la motilidad espermática puede estar asociada a la lesión mitocondrial en muestras seminales de eyaculado (Connell y col 2002). En trabajos *in vitro*, los espermatozoides adquieren movilidad cuando son mezclados con secreciones de las glándulas sexuales accesorias (Derr *et al.*, 2001), lo que se consiera como normal que los espermatozoides epididimarios sean inmóviles o poco móviles. Esto puede interpretarse como una necesidad de preservar las reservas energéticas espermáticas y para disminuir los riesgos de alteraciones de membrana, estructuras internas y composición bioquímica, por efecto de agentes oxidantes endógenos producidos por la actividad mitocondrial (Brooks, 1979, Voglmayr *et al.*, 1985; Robaire y Viger, 1995). Además, también se ha atribuido la pérdida de la movilidad a la disminución del intercambio de oxígeno durante la recolección de la muestra en trabajos *in vitro*, pero se restablece cuando esta se diluye en los medios de lavado (Brooks, 1979)

Los resultados respecto a la viabilidad espermática determinaron un promedio de 26,5% y un porcentaje de muertos del 73,9 %, considerándose que hubo interferencia posiblemente por el método de obtención y conservación de los testículos y muestras del fluido epididimario; sin embargo hay que considerar que existen espermatozoides que se encuentran inmóviles y que al someterlos a soluciones de mantención o enriquecidas estos se activan (Celeghini y col 2008).

En tal sentido a pesar de no haber sido experimentada la fertilidad *in vivo* en el presente ensayo, es evidente la posibilidad de utilizar los espermatozoides de

fluido epididimario, ya que Aman y Griel Jr (1974) encontraron una tasa de fertilización similar entre las muestras obtenidas de la cola del epidídimo 84% y de la eyaculación 94% .

Se concluye, que a pesar, que las técnicas de obtención de espermatozoides de la cola del epidídimo reducen significativamente todos los parámetros macroscópicos y microscópicos evaluados, los espermatozoides logran mantener la viabilidad; dándonos la posibilidad de utilizarlas en programas de reproducción asistida y de preservación de células espermáticas.

CONCLUSIONES

. Se concluye, que a la evaluación de los parámetros de los fluidos epididimarios de toros *post mortem*, estos evidencian diferencias respecto a los parámetros del semen bovino recolectado por métodos convencionales.

. Las muestras de fluidos epididimarios a la valoración macroscópica determinaron en promedio una concentración espermática de 2.48×10^6 , volumen de 0,85 ml, color blanco lechoso, olor a leche fresca y pH de 5,5, considerados inferiores a los parámetros seminales y fluidos epididimarios reportados por la literatura.

. Las muestras de fluidos epididimarios a la valoración microscópica determinaron que el promedio de la motilidad individual fue de 57,91%, la motilidad masal determinó una variación en rango de 25 a 75%, y el porcentaje de espermias vivos y muertos fue del 26,5% y 73,9% respectivamente.

RECOMENDACIONES

- ❖ Para el transporte de las muestras hacia el laboratorio, utilizar un cooler y mantener la temperatura constante, ya que el tiempo de sobrevivencia del esperma no supera las 24h, ya que podría existir influencia de temperatura en los parámetros macroscópicos y microscópicos del fluido epididimario.

- ❖ El método de recolección empleado necesita mayor investigación, para determinar la influencia que pudiera tener sobre las características macro y microscópicas del fluido epididimario recuperado, así como la necesidad de dilución del ambiente epididimario para poder alcanzar su plena movilidad en los espermias.

- ❖ Comprobar a través de la inseminación artificial la fertilidad del fluido epididimario post-mortem en la fecundación del óvulo, como pronóstico de la capacidad fertilizante de un macho.

- ❖ Someter al fluido epididimario a protocolos de congelamiento y de vitrificación para valor la supervivencia espermática, y su capacidad de fertilidad.

Bibliografía:

AX, R. 2000. Evaluación del semen.Reproducción e inseminación artificial en animales, 7ªed. Mexico, McGraw-Hill.

AMANN, R. 1993. Physiology of male reproduction. J. Anim.Sci. Endocrines changes associated with onset of spermatogenesis in Holstein.

ANEL, L. 2002. Effect of post-mortem interval in quality of epididymal spermatozoain Iberian Red Deer (*Cervuselaphushispanicus*).

BARACALDO, M. 2007. Pasos del semen bovino: desde la colección del semen hasta el almacenamiento en el tanque de nitrógeno líquido.

BARTH, AD.1999. Disponible en www.produccion-animal.com.ar Fecha de Consulta: 19/01/2013. Factores que afectan la pubertad de los toros. Taurus 1(3):4-17.

BARRIOS, D 2002. Evaluación de la calidad y capacidad fecundante de espermatozoides dela cola del epidídimo de toros post-mortem.

CHENOWETH, P. 1997. Clinical reproductive anatomy and physiology of the bull. En Youngquist R.S. (Ed.) Current Therapy in Large Animal Theriogenology. Saunders, pp. 217- 229.

CHACON, G 2002. Seasonal variations in testicular consistency, scrotal circumference and spermiogrammeparameters of extensively reared Brahman. Theriogenology, 58 (1):Pg. 41-50.

HAFEZ, E. 2000. Reproducción e inseminación Artificial en Animales. 7ed.Mexico.McGraw Hill.

HAFEZ, E. 2001. Evaluación de la calidad y capacidad fecundante de espermatozoides de la cola del epididimo post mortem.

http://www.avpa.ula.ve/congresos/cd_xi_congreso/pdf/diegobarrios.PDF

HOZBOR F., Seminario del curso de Graduación en Buiatría; 2011 Enero; Cuenca, Ecuador.

JANUSAKAUSKAS, R. 2002. Bull semen evaluation post-thaw and relation of semen characteristics to bulls fertility. Veterinarija ir Zootechnika.

KAABI, M. 2003. Effect of epididymis handling conditions on the quality of ram spermatozoa recovered post-mortem.

KNOBIL, E, NEIL, 2003. Male reproductive sistem, nonhuman mammals, pag, 49,59. Enciclopedia of reproductive. vol 3.

KONIG, H, H., LIEBICH. 2008. Anatomía de los Animales Domesticos; Organos, sistemacirculatorio y Sistema Nervioso, Tomo 2, 2da Edcicion, 12va Reimpresion, EditorialMedica Panamericana, Madrid.

GOMEZ M.2011, MIGLIORI L., Protocolo para evaluar semen. [Web en línea]. [con acceso el2011 enero 7]. Disponible en:

URL:http://produccionbovina.com/informacion_tecnica/cria_toros/49Protocolo EvalSemen.pdf

GARNER, D. 2000. Espermatozoides y plasma seminal. En: Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ed.

LIEBICH, H, KONIG.2008. Anatomía de los Animales Domesticos; Organos, sistemacirculatorio y Sistema Nervioso, Tomo 2, 2da Edcicion, 12va Reimpresion, EditorialMedica Panamericana, Madrid.

MORTIMER, ST. 1997. A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. Hum Reprod Update 3, 403-439.

NOAKES, D. 2001. Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics, 8va Edition, ELSEVIER, China: Pg. 671-694.

PHILLIPS, N. J.; Evans, G.; McGowan, M. R., 2004. Measures used to assess frozenthawed semen in Australian livestock semen processing centres. Aust Vet J. 82 (5), 309-310.

RUTTER, B. 2006. Examen andrologico bovino.

<http://www.fcv.unl.edu.ar/archivos/grado/catedras/teriogenologia/informacion/110411/PDFs%20word/TP3.pdf>

REYES, 2002. Characterization and identification of epididymal factors that protect ejaculated bovine sperm during in vitro storage. Biol. Reprod., 66(1): 159-166.

RODRIGUEZ, J. 2000. Seasonal variations in testicular consistency, scrotal circumference and spermogramme parameters of extensively reared Brahman (Bos indicus) bulls in the tropics. Theriogenology.

RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, H., 1999. Nuevas técnicas de evaluación de la fertilidad en el macho. II Congreso Ibérico de Reproducción Animal. pp: 302-316.

SENGER, PL. 2003. Pathways to Pregnancy and Parturition. 2ª ed. Washington. Current Conceptions, 373 p.

SISSON, S. 2001. Anatomia de los Animales Domesticos: Sisson y Grossman, Tomo I, Quinta Edición, 6ta reimpression, Editporial, Editorial Masson S.A., Barcelona.

TRIBULO, R. 2002. Actualización sobre fisiología reproductiva y evaluación de la capacidad reproductiva del toro. Cordoba, Mariana Caccia, 225 p.

UNGERFELD, R. 2002. Reproducción en los animales domésticos. Montevideo. Melibea. Tomo 1, 289 pg.

ANEXO 1

Se presentan los registros de las actividades del muestreo en los diferentes grupos en el siguiente Tabla:

# de muestras testículo derecho/Izquierdo	Temperatura Ambiente	Parámetros morfométricos Peso		Hora/fecha Recolección	#de espermatozoides Esperados	Espermatozoides vivos	Espermatozoides muertos
		Izquierdo	Derecho				
1	25 - 35°C	297	299	9:00 am	23,65%	23,65%	72,41%
2	25 - 35 °C	367	377	9:10 am	37,86%	37,86%	63,29%
3	25 - 35 °C	233	233	9:20 am	19,75%	19,75%	81,57%
4	25 - 35°C	369	369	9:30 am	32,54%	32,54%	68,32%
5	25 - 35°C	263	286	9:40 am	28,15%	28,15%	72,64%
6	25 - 35°C	286	287	9:50am	17,35%	17,35%	83,23%
7	25 -35 °C	290	261	10:00am	33,62%	33,62%	67,18%
8	25 -35 °C	261	304	10:10 am	21,83%	21,83%	79,27%
9	25 -35 °C	298	276	10:20 am	32,73%	32,73%	68,13%
10	25 -35 °C	214	286	10:30 am	18,54%	18,54%	83,57%


Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila.

ANEXO 2


Formulario de inspección antemortem en mataderos

FORMULARIO DE INSPECCIÓN ANTEMORTEM EN MATADEROS
A. IDENTIFICACION DEL MATADERO



Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca
1. Provincia: TUNGURAHUA 2. Nombre del Matadero: _____

Canal F.M.A. 3. Nombre del inspector sanitario: Dr. Virnicio López Dr. Luciano Par



AGROCALIDAD
AGENCIA ECUATORIANA DE ASESORAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AGRO

5. Fecha de inspección: Jueves 30 Julio 6. Hora de inspección: 07:00:00


B. ANIMALES INGRESADOS

Especie	Con CSMI	Sin CSMI	total	Observaciones
BOVINOS	todos	-	80 85	


C. INSPECCION ANTEMORTEM

Lots/corral	Total	Machos	Hembras	Edad promedio	Raza	Síndrome nervioso	Síndrome digestivo	Síndrome vesicular	secreciones	COJERA		Reactor positivo	Otras	DICTAMEN				Observaciones	
										Traumática	Otras			No ambulatorias (caldías)	Muertas	Aprobación al saneamiento	rechazo al saneamiento		Sacrificio
1 Y 2	11	1	10	2 años	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
3 Y 4	24	13	11	1 año	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
5 y 6	8	8	-	2 años	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
7 y 8	7	5	2	2 años	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
9 y 10	1	1	-	3 años	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
11 y 12	6	3	3	1 año	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
13 y 14	5	4	1	2 años	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
15 y 16	4	4	-	2 años	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
17 y 18	5	5	-	2 años	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
19 y 20	3	3	-	1 año	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
21 y 22	-	-	-	-	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
23 y 24	14	12	2	2 años	Holstein/Mezcla	-	-	-	-	-	-	-	-	✓	-	-	-	-	
Total	85	49	36																

D. OBSERVACIONES



F. FIRMA DE RESPONSABLE



INSPECTOR SANITARIO

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paul Eduardo Naranjo Avila.

ANEXO 3

Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.

Fecha de colecta: 23/ 07/2015.

Hora de colecta: 9:00 am.

Edad: 2 años.

Método de colecta: desmenuzamiento del epidídimo.

Raza: criollo-mestizo.

Características	
Concentración	2.59 x10 ⁶
Volumen	0,8 ml
Color	Blanco lechoso
pH	5,4
Olor	Leche fresca
Motilidad individual	68.12%
Porcentaje espermatozoides vivos	23,65%
Porcentaje espermatozoides muertos	72,41%
Peso (g)	984
Largo (cm)	12.4
Ancho (cm)	5.3
Diámetro (cm)	20

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila

ANEXO 4

Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.

Fecha de colecta: 23/ 07/2015.

Hora de colecta: 9:10 am.

Edad: 2 años.

Método de colecta: desmenuzamiento del epidídimo.

Raza: criollo-mestizo.

Características	
Concentración	3.64 x10 ⁶
Volumen	1,2 ml
Color	Blanco lechoso
pH	5,4
Olor	Leche fresca
Motilidad individual	57.09%
Porcentaje espermatozoides vivos	37,86%
Porcentaje espermatozoides muertos	63,29%
Peso (g)	1.335
Largo (cm)	16
Ancho (cm)	6.7
Diámetro (cm)	21

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila

ANEXO 5

Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.

Fecha de colecta: 23/ 07/2015.

Hora de colecta: 9:20 am.

Edad: 2 años.

Método de colecta: desmenuzamiento del epidídimo.

Raza: criollo-mestizo.

Características	
Concentración	2.78 x10 ⁶
Volumen	0,7 ml
Color	Blanco lechozo
pH	6,2
Olor	Leche fresca
Motilidad individual	62.83%
Porcentaje espermatozoides vivos	19,75%
Porcentaje espermatozoides muertos	81,57%
Peso (g)	823
Largo (cm)	13
Ancho (cm)	5
Diámetro (cm)	16

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila

ANEXO 6

Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.

Fecha de colecta: 23/ 07/2015.

Hora de colecta: 9:30 am.

Edad: 2 años.

Método de colecta: desmenuzamiento del epidídimo.

Raza: criollo-mestizo.

Características	
Concentración	3.16 x10 ⁶
Volumen	1,1 ml
Color	Blanco lechozo
pH	5,6
Olor	Leche fresca
Motilidad individual	49.20%
Porcentaje espermatozoides vivos	32,54%
Porcentaje espermatozoides muertos	68,32%
Peso (g)	1.264
Largo (cm)	14.5
Ancho (cm)	8
Diámetro (cm)	20

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila

ANEXO 7

Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.

Fecha de colecta: 23/ 07/2015.

Hora de colecta: 9:40 am.

Edad: 2 años.

Método de colecta: desmenuzamiento del epidídimo.

Raza: criollo-mestizo.

Características	
Concentración	3.92 x10 ⁶
Volumen	0,5 ml
Color	Blanco lechozo
pH	5,8
Olor	Leche fresca
Motilidad individual	53.78%
Porcentaje espermatozoides vivos	28,15%
Porcentaje espermatozoides muertos	72,64%
Peso (g)	1.029
Largo (cm)	13.5
Ancho (cm)	7
Diámetro (cm)	18

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila

ANEXO 8

Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.

Fecha de colecta: 23/ 07/2015.

Hora de colecta: 9:50 am.

Edad: 2 años.

Método de colecta: desmenuzamiento del epidídimo.

Raza: criollo-mestizo.

Características	
Concentración	2.84 x10 ⁶
Volumen	1,3 ml
Color	Blanco lechoso
pH	5,1
Olor	Leche fresca
Motilidad individual	57.81%
Porcentaje espermatozoides vivos	17,35%
Porcentaje espermatozoides muertos	83,23%
Peso (g)	1.002
Largo (cm)	12.9
Ancho (cm)	7.2
Diámetro (cm)	19

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila

ANEXO 9

Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.

Fecha de colecta: 23/ 07/2015.

Hora de colecta: 10:00 am.

Edad: 2 años.

Método de colecta: desmenuzamiento del epidídimo.

Raza: criollo-mestizo.

Características	
Concentración	1.40 x10 ⁶
Volumen	0,5 ml
Color	Blanco lechoso
pH	5,4
Olor	Leche fresca
Motilidad individual	66.24%
Porcentaje espermatozoides vivos	33,62%
Porcentaje espermatozoides muertos	67,18%
Peso (g)	878
Largo (cm)	12.7
Ancho (cm)	6.8
Diámetro (cm)	19

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila

ANEXO 10

Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.

Fecha de colecta: 23/ 07/2015.

Hora de colecta: 10:10 am.

Edad: 2 años.

Método de colecta: desmenuzamiento del epidídimo.

Raza: criollo-mestizo.

Características	
Concentración	1.67 x10 ⁶
Volumen	0,8 ml
Color	Blanco lechozo
pH	6,2
Olor	Leche fresca
Motilidad individual	69.77%
Porcentaje espermatozoides vivos	21,83%
Porcentaje espermatozoides muertos	79,27%
Peso (g)	876
Largo (cm)	11.9
Ancho (cm)	6.9
Diámetro (cm)	19

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila

ANEXO 11

Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.

Fecha de colecta: 23/ 07/2015.

Hora de colecta: 10:20 am.

Edad: 2 años.

Método de colecta: desmenuzamiento del epidídimo.

Raza: criollo-mestizo.

Características	
Concentración	1.29 x10 ⁶
Volumen	1,0 ml
Color	Blanco lechoso
pH	6,3
Olor	Leche fresca
Motilidad individual	45.11%
Porcentaje espermatozoides vivos	32,73%
Porcentaje espermatozoides muertos	68,13%
Peso (g)	950
Largo (cm)	12.7
Ancho (cm)	6.9
Diámetro (cm)	17

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila

ANEXO 12

Ficha individual de datos obtenidos en el laboratorio post-mortem.

Fecha de colecta: 23/ 07/2015.

Hora de colecta: 10:30 am.

Edad: 2 años.

Método de colecta: desmenuzamiento del epidídimo.

Raza: criollo-mestizo.

Características	
Concentración	1.56 x10 ⁶
Volumen	0,6 ml
Color	Blanco lechoso
pH	5,3
Olor	Leche fresca
Motilidad individual	49.19%
Porcentaje espermatozoides vivos	18,54%
Porcentaje espermatozoides muertos	83,57%
Peso (g)	1.024
Largo (cm)	12.7
Ancho (cm)	6.6
Diámetro (cm)	17

Fuente: Directa.

Elaborado por: Paúl Eduardo Naranjo Avila

Fotos

FOTO N° 1.- Instalaciones del camal de Frigorico de la Ciudad de Ambato



FOTO N° 2.- Animales ingresando al matadero



FOTO N° 3.- Animal macho en el proceso de faenamiento



FOTO N°4 .- Animal en el proceso de faenamiento



FOTO °N 5.- Testículos listos para ser transportados al laboratorio.



FOTO °N 6.- Materiales para realizar la investigación.



FOTO °N 7.- El peso exacto del par de testículos antes de abrir la túnicas internas.



FOTO °N 8.- Retirada de la piel o escroto.



FOTO °N 9.- Pesaje del testículo izquierdo sin escroto.



FOTO °N 10.- Peso del testículo derecho – valoración en gramos.

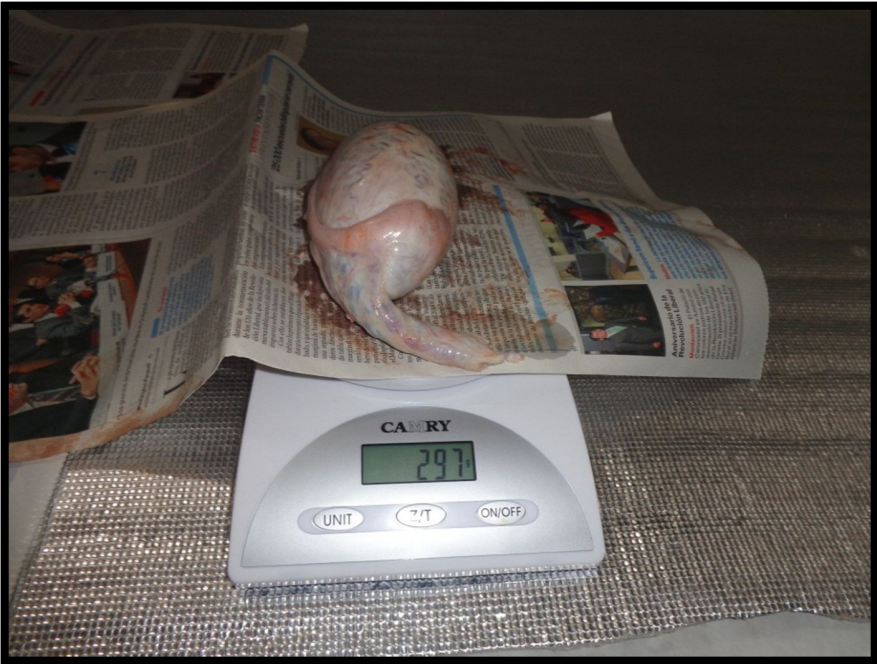


FOTO °N 11.- Medida del largo del testículo sin escroto con el vainer o pie de ray.



FOTO °N 12.- Medida de la circunferencia del testículo con una cinta métrica.



FOTO °N 13.- Medición del escroto con piel o mediante el vainer.

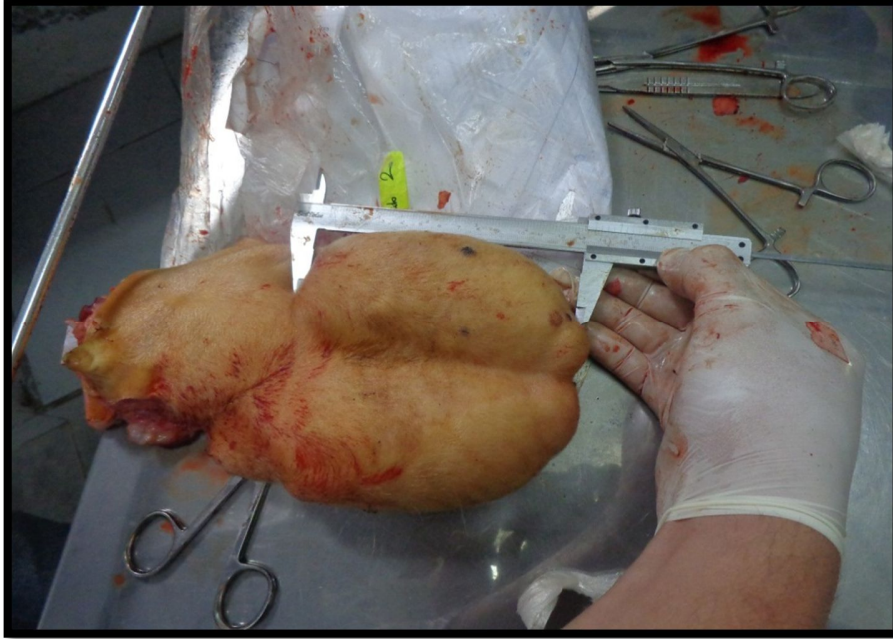


FOTO °N 14.- Separación de la piel para extraer el testículo.



FOTO °N 15.- Retiro de las túnica albugínea y músculo cremaster de cada testículo.



FOTO °N 16.- Separación del cuerpo cola y cabeza del epidídimo del testículo.



FOTO °N 17.- Medida del Epidídimo con el vainer y su peso en gramos.



FOTO °N 18.- Medida con la cinta métrica al epidídimo.



FOTO °N 19.- Extracción del semen del epidídimo para su análisis mediante desmenuzamiento.



FOTO °N 20.- Extracción del semen procedente de la cola y cabeza del epidídimo.



FOTO °N 21.- Volumen de fluido epididimario obtenido para observacion macroscópica y microscópica.

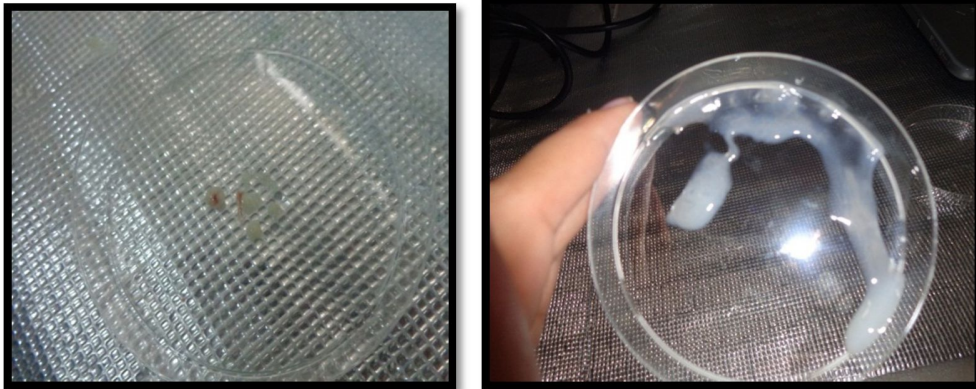


FOTO °N 22.- Preparacion y aplicación de la técnica tincion de Eosina.



FOTO °N 23.- Muestra calentada y lista para ser observada en el microscópio.



FOTO °N 24.- Observación en el microscópio del fluido epidídimo bovino.



FOTO °N 25.- Observación microscópica del fluido epididimario.



FOTO °N 26.- Observación microscópica con el lente de 400x.



FOTO N 27.- Identificación de espermatozoides



FOTO °N 28.- Identificación espermática epidídima.

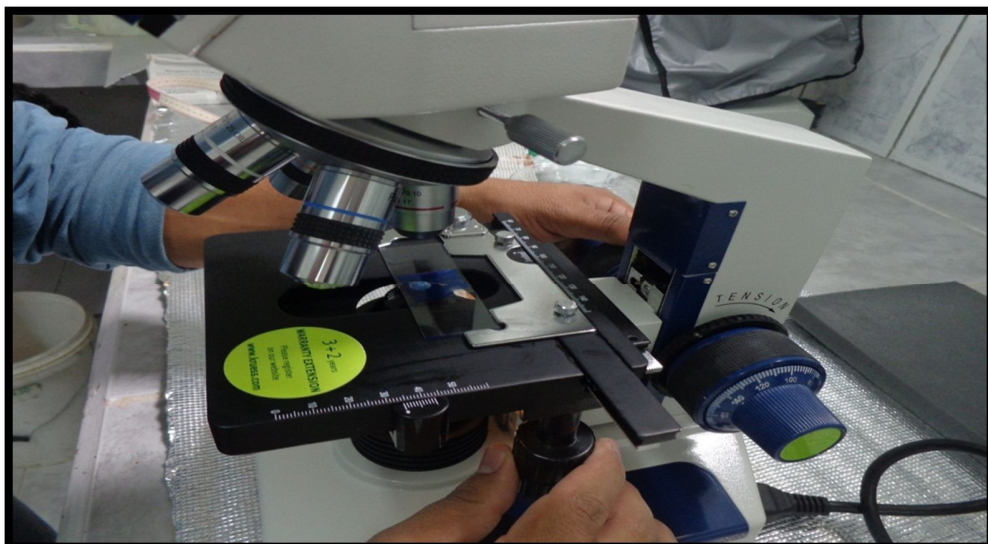


FOTO °N 29.- Cálculo espermático mediante la cámara de Neuwaver.

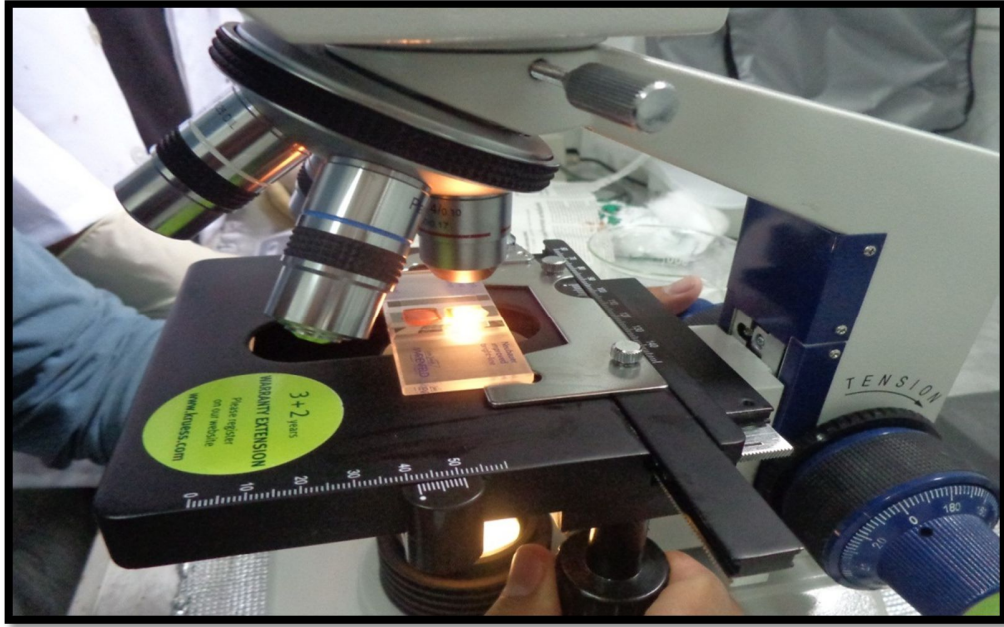


FOTO °N 30.- Observación del semen Epididimario.



FOTO °N 31.- Observación microscopica del semen Epidídimario.



FOTO °N 32.- Evaluación y resultados microscópicos del fluido Epidídimario post-mortem.

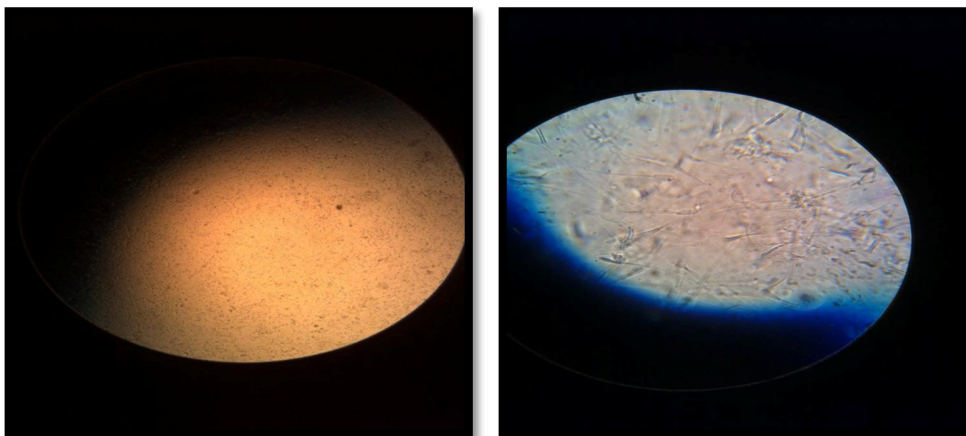


FOTO °N 33.- Observación microscópicas del fluido Epidídimario post-morten.



FOTO °N 34.- Evaluación y Resultados microscópicos del fluido Epidídimario post-morten.

