	<b>UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER OCAÑA</b>			
	Documento	Código	Fecha	Revisión
	<b>FORMATO HOJA DE RESUMEN PARA TRABAJO DE GRADO</b>	<b>F-AC-DBL-007</b>	<b>18-08-2021</b>	<b>B</b>
Dependencia	Aprobado		Pág.	
<b>DIVISIÓN DE BIBLIOTECA</b>	<b>SUBDIRECTOR ACADEMICO</b>		<b>i(54)</b>	

### RESUMEN – TRABAJO DE GRADO

<b>AUTORES</b>	<b>Janet Eduardo Coronado Gutiérrez</b>		
<b>FACULTAD</b>	<b>Faculta de ciencias agrarias y del ambiente</b>		
<b>PLAN DE ESTUDIOS</b>	<b>Zootecnia</b>		
<b>DIRECTOR</b>	<b>Esp. Carlos Andrés Sepúlveda Pallares</b>		
<b>TÍTULO DE LA TESIS</b>	<b>Criopreservación de semen caprino evaluando tres curvas de congelamiento utilizando andromed como medio diluyente en el laboratorio de reproducción de la granja experimental de la universidad Francisco de Paula Santander Ocaña</b>		
<b>TITULO EN INGLES</b>	<b>Cryopreservation of goat semen evaluating three freezing curves using andromed as a thinner in the reproduction laboratory of the experimental farm of the University Francisco de Paula Santander Ocaña</b>		
<b>RESUMEN (70 palabras)</b>			
<p>El presente trabajo de pasantías trata sobre los avances de investigación de la criptopreservacion de semen caprino en el laboratorio de reproducción de la universidad Francisco de Paula Santander Ocaña, muy pocos o cada vez son menos las personas o estudiantes que se atreven a investigar sobre el tema, sin embargo se consiguen en el mercado muy fácilmente diluyentes especiales para semen caprino, por lo que los resultados pos descongelación son controversiales.</p>			
<b>RESUMEN EN INGLES</b>			
<p>The present internship work deals with the advances in research in the crypto-preservation of goat semen in the reproduction laboratory of the Francisco de Paula Santander Ocaña University, very few or less and less people or students who dare to investigate on the subject However, special diluents for goat semen are very easily available on the market, so the post-thaw results are controversial.</p>			
<b>PALABRAS CLAVES</b>	Criopreservacion, semen, Testículos, Pajillas, Técnica de electro eyaculador.		
<b>PALABRAS CLAVES EN INGLES</b>	Cryptopreservation, semen, Testicles, Straws, Electro eyaculator technique.		
<b>CARACTERÍSTICAS</b>			
<b>PÁGINAS:</b> 53	<b>PLANOS:</b>	<b>ILUSTRACIONES:</b>	<b>CD-ROM:</b>



Vía Acolsure, Sede el Algodonal, Ocaña, Colombia - Código postal: 546552  
Línea gratuita nacional: 01 8000 121 022 - PBX: (+57) (7) 569 00 88  
atencionalciudadano@ufpso.edu.co - www.ufpso.edu.co

Criopreservación de semen caprino evaluando tres curvas de congelamiento utilizando andromed  
como medio diluyente en el laboratorio de reproducción de la granja experimental de la  
universidad Francisco de Paula Santander Ocaña

Janet Eduardo Coronado Gutiérrez

Facultad de Ciencias Agrarias y del Ambiente, Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña

Zootecnia

Esp. Carlos Andrés Sepúlveda Pallares

03 de noviembre de 2021

## Índice

Introducción .....	7
Capítulo 1. Título. Criopreservación de Semen Caprino Evaluando Tres Curvas de Congelamiento Utilizando Andromed Como Medio Diluyente .....	8
1.1. Descripción breve de la empresa .....	8
1.1.1. Misión. ....	9
1.1.2. Visión.....	9
1.1.3 Objetivos de la dependencia. ....	9
1.1.4. Estructura organizacional de la dependencia. ....	10
1.1.5. Descripción de la estructura organizacional. ....	11
1.2. Diagnóstico inicial de la dependencia.....	11
1.2.1. Planteamiento del problema.....	12
1.3. Objetivos de la pasantía .....	14
1.3.1. Objetivo general. ....	14
1.3.2 Objetivos específicos. Evaluar la motilidad espermática del semen descongelado.....	14
1.4 Actividades a desarrollar.....	15
1.5. Cronograma de Actividades.....	16
Capítulo 2. Enfoque referencial .....	17
2.1 Enfoque conceptual.....	17
2.1.1 Bienestar animal en Colombia.....	17
2.1.2 Reproducción en el Macho Cabrío. ....	17
2.1.2.1 Elección de Sementales. ....	18

2.1.3. Aparato Reproductor del Macho Cabrío (Examen Físico) .....	18
2.1.3.1 Escroto. ....	19
2.1.3.2 Testículos. ....	19
2.1.4 La Libido.....	19
2.1.5 Circunferencia Escrotal.....	20
2.1.6 Secreción de Hormonas. ....	20
2.1.7 Colección de Semen Caprino.....	21
2.1.7.1 Técnica de la Vagina Artificial. ....	22
2.1.7.2 Técnica del Electro eyaculador.....	22
2.1.8 Criopreservación de Semen. ....	22
2.1.8.1 Nitrógeno Líquido.....	23
2.1.8.2 Tanques de Almacenamiento.....	23
2.1.8.3 Pajillas.....	24
2.1.8.4 Diluyentes .....	24
2.1.8.5 AndroMed®.....	25
2.1.8.6 Crioprotectores.....	26
2.1.9 Congelador Programable (Frezze Control CL8800 Systems). ....	26
2.1.9.1 Mace Sperm Tracker.....	27
2.2 Enfoque Legal.....	28
2.2.1 Resolución 02820 11/10/2001.. ....	28
Capítulo 3. Informe de Cumplimiento de Trabajo.....	29
3.1 Descripción del Ensayo.....	29
3.2 Manipulación y Evaluación del Semen.....	30

3.2.1 Preparación del Diluyente.....	30
3.2.2 Preparación de la Vagina Artificial.....	31
3.2.3 Colecta de Semen.....	32
3.2.4 Estabilización de muestras.....	33
3.2.5 Análisis Macroscópico.....	34
3.2.6 Análisis Microscópico. ....	35
3.2.7 Empaquetado de Semen.....	36
3.2.8 Estabilización y Refrigeración de muestras. ....	37
3.2.9 Congelación de Semen.....	38
3.2.10 Descongelación de las Pajillas.. ....	39
3.3 Resultados y Discusión.....	40
3.3.1 Primera Curva de Congelación. ....	40
3.3.2 Segunda Curva de Congelación.....	41
3.3.3 Tercera Curva de Congelación.....	41
3.3.4 Curvas de Congelamiento.....	42
3.4 Actividades Realizadas Durante el Periodo de la Pasantía.....	44
Capítulo 4. Diagnostico Final .....	46
Conclusiones.....	47
Recomendaciones .....	48
Referencias.....	49

## Lista de tablas

Tabla 1. Análisis DOFA .....	12
Tabla 2. Actividades a Desarrollar.....	15
Tabla 3. Cronograma de Actividades.....	16
Tabla 4. Curva de congelamiento .....	41

## Lista de Figuras

Figura 1. Estructura orgánica de la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña. ....	10
Figura 2 . Presentación del producto.....	25
Figura 3. Freeze Control CL8800 Systems.....	27
Figura 4. Mace Sperm Tracker .....	28
Figura 5. (a) Agua destilada + AndroMed (b) diluyentes protegidos contra la luz. ....	31
Figura 6. Vagina Artificial.....	32
Figura 7. Colecta de semen al reproductor toggenburg con vagina artificial. ....	33
Figura 8. (a) Incubación de muestras en baño maría (b) Plancha Calentadora.....	34
Figura 9. Sistema Mace Sperm Tracker.....	35
Figura 10. (a) Empajillado del semen. (b) Sellado de pajuelas. ....	37
Figura 11. (a) Estabilización de las pajillas durante 3 horas (b) Reducción de la temperatura de las pajillas.....	38
Figura 12. Congeladora Programable Freeze Control CL-8800 Systems. ....	39
Figura 13. (a) Criocámara (b) control programador. ....	40
Figura 14. Movimiento de las Curvas.....	42
Figura 15. Actividades realizadas durante el proceso de pasantía.....	45

## Introducción

El alcance económico derivado de la extracción de ciertas especies ganaderas ha llevado que aquellas de mayor ganancia, principalmente la bovina y la porcina, sean las más estudiadas en el ámbito de la fisiología reproductiva y la biología del espermatozoide, incentivando su clasificación y crecimiento. Por otra parte, especies como la caprina han sido relegadas hasta la época de los años 80 por su carácter contiguo, no encontrando muchas investigaciones sobre el acto espermático de esta especie (Cortes Gallego, 2003).

Una manera de aportar a la conservación de la riqueza y pureza genética de las especies, incrementar su alternativa de procreación por fuera del ciclo reproductivo, facilitar el movimiento del material genético y contribuir al encogimiento sobre las especies silvestres, se da por el ámbito de la combinación de métodos y protocolos encaminados a la Criopreservación de sus gametos. De la misma manera, para producir especies de ámbito comercial, es de gran importancia tener una recolección constante de gametos viables y funcionales (Rmirez Merlano, Medina Robles, & Cruz Casallas, 2010).

Es por ello, que para desarrollar los objetivos establecidos en el trabajo se debe congelar el semen colectado, tener especial atención con el medio diluyente donde se van a diluir las muestras. Ya que, según (Carpio Chuchuca, 2015), el medio es la pieza fundamental para extraer un semen de muy buena calidad y aumentar el volumen total del eyaculado. Gracias a esto el espermatozoide puede vivir y permanecer viable durante muchos años.



## **Capítulo 1. Título. Criopreservación de Semen Caprino Evaluando Tres Curvas de Congelamiento Utilizando Andromed Como Medio Diluyente**

### **1.1. Descripción breve de la empresa**

Según Acuerdo No. 003 del 18 de Julio de 1974, por parte del Consejo Superior de la Universidad Francisco de Paula Santander Cúcuta, se crea la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña, como máxima expresión cultural y patrimonio de la región; como una entidad de carácter oficial seccional, con autonomía administrativa y patrimonio independiente, adscrito al Ministerio de Educación Nacional.

Según la Universidad Francisco de Paula Santander (1994) en el Acuerdo N° 029 expone:

La Universidad Francisco de Paula Santander Seccional Ocaña, es una dependencia Académico Administrativa adscrita a la Rectoría y enmarcada en los mismos principios objetivos y campos de acción de la Universidad, con patrimonio independiente, rentas propias, autonomía administrativa y financiera pudiendo elaborar y ejecutar su presupuesto. Sus fines, principios y objetivos son los que la universidad cumple según lo establece la Ley 30 del 28 de diciembre de 1992 y el Estatuto General de la Universidad, establecido por el Acuerdo No.091 de diciembre de 1993 emanado del Consejo Superior Universitario. (Art. 1)

### ***1.1.1. Misión***

La Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña, institución pública de educación superior, es una comunidad de aprendizaje y autoevaluación en mejoramiento continuo, comprometida con la formación de profesionales idóneos en las áreas del conocimiento, a través de estrategias pedagógicas innovadoras y el uso de las tecnologías; contribuyendo al desarrollo nacional e internacional con pertinencia y responsabilidad social.

### ***1.1.2. Visión***

La Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña para el 2019, será reconocida por su excelencia académica, cobertura y calidad, a través de la investigación como eje transversal de la formación y el uso permanente de plataformas de aprendizaje; soportada mediante su capacidad de gestión, la sostenibilidad institucional, el bienestar de su comunidad académica, el desarrollo físico y tecnológico, la innovación y la generación de conocimiento, bajo un marco de responsabilidad social y ambiental hacia la proyección nacional e internacional.

### ***1.1.3 Objetivos de la dependencia***

Apoyar las actividades reproductivas de los proyectos pecuarios de la UFPSO.

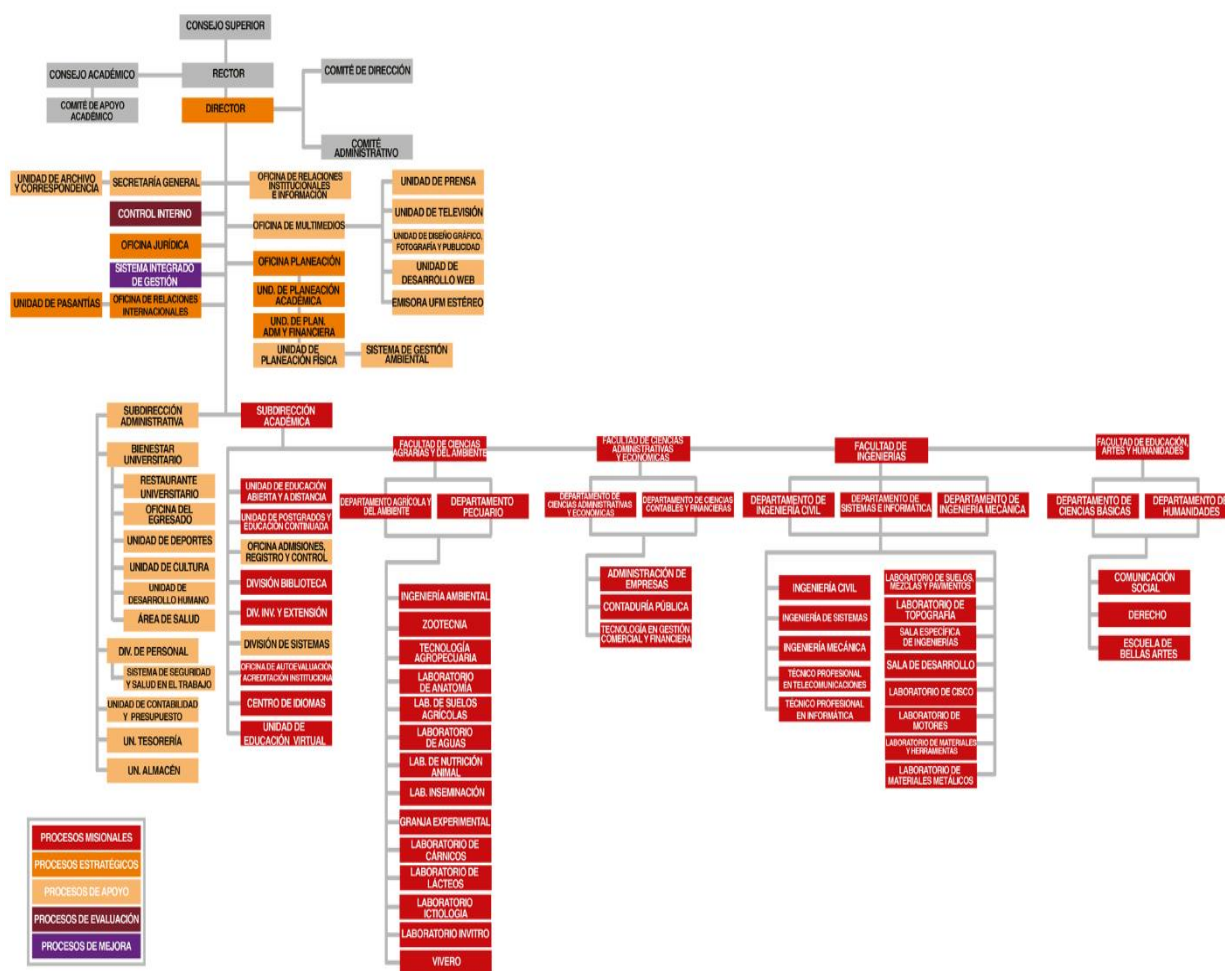
Extensión rural en el área de influencia de la UFPSO.

### 1.1.4. Estructura organizacional de la dependencia

La Universidad Francisco de Paula Santander Seccional Ocaña actualmente tiene la siguiente estructura orgánica.

Figura 1.

Estructura orgánica de la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña



Nota: Fuente: <https://ufpso.edu.co/Estructura>

### ***1.1.5. Descripción de la estructura organizacional***

La Granja Experimental UFPSO se ubica a la margen derecha del río Algodonal, dentro del campus universitario, a una altura de 1150 msnm, con una temperatura promedio de 23 °C, una humedad relativa del 70% y una extensión de 135 ha; también cuenta con el Centro de Investigación La Troya, que se encuentra ubicado en el corregimiento de Los Ángeles (Río de Oro – Cesar), dedicada al estudio de ganado de las razas Romosinuano y Costeño con Cuernos. Dentro de la granja experimental se encuentra el Laboratorio de Reproducción Animal bajo la coordinación Carlos Andrés Sepúlveda Pallares. El laboratorio tiene por objeto brindar todos los elementos para el correcto desarrollo de las asignaturas y prácticas de reproducción animal y evaluación reproductiva que cursan los alumnos para cumplir el ciclo profesional de la carrera de Zootecnia.

### **1.2. Diagnóstico inicial de la dependencia**

El laboratorio de reproducción animal de la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña, cuenta con instalaciones de excelente calidad, también goza de equipos como son: Electro-eyaculador, ecógrafo portátil, microscopios, centrifugadora, vaginas artificiales, con que debe contar dicho laboratorio para realizar las prácticas y la observación constante del estado reproductivo de los animales de la granja experimental y parcela la Troya, También, cuenta con personal capacitado que es el encargado de llevar acabo y supervisar todo tipo de proceso relacionado con la reproducción animal de la UFPSO.

Por otro lado, el laboratorio está a disposición permanente para el desarrollo de actividades académicas, principalmente de materias relacionadas a la carrera de Zootecnia, y se permite participar en la extensión rural en la zona de influencia de la Universidad.

### **Análisis DOFA.**

**Tabla 1.**  
*Análisis DOFA*

<b>DIAGNOSTICO INICIAL DE LA DEPENDENCIA</b>		
D	DEBILIDADES	D1. Falta de métodos para la crío-preservación de semen caprino D2. Demoras para la obtención de materiales
O	OPORTUNIDADES	O1. Extensión rural en zonas de influencia de la UFPSO O2. Vías de acceso en buen estado O3. Reconocimiento a nivel regional O4. Apoyo permanente por parte del estado O5. Mejoramiento genético de los animales de la granja
F	FORTALEZAS	F1. Personal capacitado para dirigir y ejecutar cualquier tipo de procedimiento reproductivo F2. Equipos de excelente calidad para el desarrollo de actividades reproductivas F3. Control de registros reproductivos
A	AMENAZAS	A1. El rápido avance tecnológico de los equipos y técnicas utilizados para la reproducción animal A2. Falta de información sobre técnicas reproductivas
<b>ESTRATEGIA FO</b>		<b>ESTRATEGIAS DO</b>
FO1. Aprovechamiento del recurso humano con que cuenta la universidad para brindar información y asesorías a diferentes asociaciones campesinas		DO1. Aprovecha el apoyo permanente por parte del estado para lograr obtener los materiales en el tiempo adecuado facilitando así el desarrollo de todo tipo de actividades reproductivas. DO2. Demora en los medicamentos que se usan en los procesos reproductivos
<b>ESTRATEGIAS FA</b>		<b>ESTRATEGIAS DA</b>
FA1. Para brindar los adecuados conocimientos a estudiantes de la universidad se debe ir al par de los avances tecnológicos con relación a la reproducción animal		DA1. Al implementar métodos para la conservación del semen caprino será más eficiente la práctica de la inseminación artificial

*Nota:* En el cuadro anterior se evidencia la matriz DOFA, donde se presentan las oportunidades y las amenazas durante la trayectoria de las pasantías.

#### **1.2.1. Planteamiento del problema**

Una de las líneas que se ha venido investigando más rigurosamente y con mucho cuidado es la técnica de la Criopreservación de semen, estudios han demostrado que la fertilidad obtenida

mediante la inseminación artificial con semen congelado es inferior a las obtenidas con semen fresco (Medeiros, 2001).

Existe un gran número de diluyentes y distintas formas empleadas para la Criopreservación del semen caprino, cuyo objetivo primordial es prolongar la vida útil de los espermatozoides en un tiempo indefinido de congelación (Niño Gonzales, 2013).

La Criopreservación amplía la disponibilidad del espermatozoide para la fertilización, sin embargo, el potencial de espermatozoide congelado-descongelado se ve comprometido debido a alteraciones en la estructura y fisiología del espermatozoide; Estas alteraciones están presentes en la población móvil disminuyendo su vida útil, la capacidad de interactuar en el tracto de la hembra y la capacidad fertilizante. (Medeiros, 2001).

Los avances de investigación sobre esta línea en el laboratorio de reproducción de la universidad Francisco de Paula Santander Ocaña en la granja experimental son muy pocos o cada vez son menos las personas o estudiantes que se atreven a investigar sobre el tema, sin embargo se consiguen en el mercado muy fácilmente diluyentes especiales para semen caprino, por lo que los resultados pos descongelación son controversiales y esto amerita seguir investigando sobre el tema de la congelación de semen caprino.

### **1.3. Objetivos de la pasantía**

#### ***1.3.1. Objetivo general***

Evaluar tres curvas de congelamiento de semen caprino usando Andromed en el laboratorio de reproducción de la granja experimental de la universidad francisco de paula Santander Ocaña.

#### ***1.3.2 Objetivos específicos***

Evaluar la motilidad espermática del semen descongelado.

Estimar la integridad de la membrana espermática del semen criopreservado.

Determinar la sobrevivencia espermática del semen criopreservado.

## 1.4 Actividades a desarrollar

**Tabla 2.**  
*Actividades a Desarrollar*

Objetivo General	Objetivos Específicos	Actividades a desarrollar en la empresa para hacer posible el cumplimiento de los objetivos
Crio preservar semen caprino evaluando tres curvas de congelamiento en el laboratorio de reproducción de la Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña.	Evaluar la motilidad espermática del semen descongelado.	Intervenir los machos cabríos con la ayuda del médico veterinario encargado de la granja experimental de la UFPSO, al momento de la colecta y utilización de fármacos. Preparar el medio diluyente adicionando Andromed. Realizar las colectas de semen a los machos caprinos. Evaluar macroscópica y microscópicamente las muestras de semen colectadas antes de diluir (en fresco) en el microscopio de contraste de fase adaptado a un programa de evaluación seminal (Mace Sperm Tracker).
	Estimar la integridad de la membrana espermática del semen criopreservado.	Diluir el semen con el medio diluyente, empajillar y estabilizar las muestras a 5°C en refrigeración. Congelar las muestras con nitrógeno líquido en una congeladora programable (frezze Control CL8800 Systems).
	Determinar la sobrevivencia espermática del semen criopreservado.  Apoyar las actividades reproductivas en la granja experimental.	Realizar evaluación de motilidad espermática a las muestras de semen descongeladas en el microscopio de contraste de fase adaptado a un programa de evaluación seminal (Mace Sperm Tracker).  Acompañamiento al coordinador y estudiantes a la hora de ejecutar actividades reproductivas.

*Nota:* En el cuadro anterior se muestran las actividades realizadas en el transcurso de las pasantías.



## 1.5. Cronograma de Actividades

**Tabla 3.**  
*Cronograma de Actividades.*

		CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES											
ENTIDAD		Universidad Francisco de Paula Santander Ocaña											
DEPENDENCIA		Granja Experimental											
JEFE INMEDIATO		Carlos Andrés Sepúlveda Pallares											
DURACION		16 semanas											
		Semanas											
Actividades	Periodo												
Enriquecer con artículos científicos el tema a llevar a cabo.		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Verificar que los animales con los que se va a trabajar se encuentren en buenas condiciones reproductivas.				X				X				X	
Preparar el medio diluyente adicionando Andromed y Realizar las colectas de semen caprino.				X				X				X	
Evaluar macroscópica y microscópicamente las muestras de semen colectadas antes de diluir.				X				X				X	
Diluir las muestras de semen en cada uno de los tratamientos y empajillar.				X				X				X	
Congelar las muestras con nitrógeno líquido.				X				X				X	
Realizar evaluación de motilidad individual, tinción y prueba de host a las muestras de semen descongeladas.				X				X				X	
Acompañamiento al coordinador y estudiantes a la hora de ejecutar actividades reproductivas,		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Acompañamiento del médico veterinario al momento de la colecta y aplicación de fármacos.				X				X				X	

*Nota:* las actividades estipuladas en el cronograma fueron desarrolladas en el transcurso de la pasantía con la compañía del director de trabajo de grado.

## **Capítulo 2. Enfoque referencial**

### **2.1 Enfoque conceptual**

#### ***2.1.1 Bienestar animal en Colombia***

Los sistemas de producción caprina en nuestro país están caracterizados por distintas razas introducidas, cruzamientos criollos y alternos con el fin de fortalecer la intensidad de la especie, para carnes, líneas maternas para la producción de leche de cabra para la elaboración de subproductos derivados. Estos sistemas productivos son extensivos o semi-intensivos con tecnología baja a promedio.

La línea de producción caprina en Colombia está caracterizada por dos elementos: producción de cárnicos y productos artesanales, y la línea de producción de leche y derivados; también se pueden encontrar distintos lugares con los dos sistemas. Para el caso de la carne, se manejan levantes y vientres para seguir la línea genética y sustentar las granjas que necesiten machos y hembras. Igualmente, gran cantidad de los animales se destina para el engorde y al posterior sacrificio. De esta manera, se extraen las canales y subproductos como pieles, vísceras y contenido ruminal, productos que son usados para la agroindustria. (Acero Plazas, 2014).

#### ***2.1.2 Reproducción en el Macho Cabrío***

La eficacia reproductiva de un aprisco depende principalmente de la fertilidad de sus elementos principales como lo son los machos y las hembras. Es decir, la capacidad que tienen ambos para producir gametos viables y siendo el caso del macho tener una buena capacidad

fecundante. Por lo que debe presentar un desarrollo normal en su comportamiento sexual (Perez Llanos & Mateos Rex, 1993).

**2.1.2.1 Elección de Sementales.** En un aprisco determinado, el macho tiene una mayor relevancia con respecto a la hembra Debido que ya sea, natural o artificialmente un macho puede cubrir un elevado número determinado de hembras. Por consiguiente, una disminución en la fertilidad del macho del aprisco repercute directamente en el nivel de fertilidad y eficacia reproductiva del mismo. Por eso, en la elección de los sementales no solo se debe tener en cuenta su capacidad de mejora genética sino también los índices que califiquen aquellas características de los machos correlacionados con la fertilidad (Mateos Rex, 1990). Según el autor, todo macho cabrío debe tener una buena capacidad de producir espermatozoides viables y también el deseo de detectar y montar a las hembras en celo que se encuentren en el aprisco.

### ***2.1.3. Aparato Reproductor del Macho Cabrío (Examen Físico)***

Se debe palpar el escroto para asegurarse de que ambos testículos se encuentren presente, aproximadamente del mismo tamaño y de consistencia firme; cualquier hinchazón o área localizada de maduración se debe tener en cuenta. La cabeza y la cola del epidídimo se palpan también para detectar hinchazón|, dolor o signos de inflamación. Cualquier reproductor con este tipo de signos se debe considerar infectado hasta que se demuestre lo contrario (Edmondson, Roberts, Baird, Bychawsky, & Pugh, 2012).

**2.1.3.1 Escroto.** Es una bolsa fina y suave al tacto que contiene y recubre los testículos para su protección, no debe presentar ninguna alteración en su forma, ya que, ocasionaría cambios en la temperatura de termorregulación de los testículos alterando la fertilidad del macho y su potencial reproductivo. En esta estructura se puede observar la extensión del epidídimo (Pabón Quevedo & Pulido Medellín, 2021).

**2.1.3.2 Testículos.** Los testículos están suspendidos lejos del cuerpo dentro del escroto pendular. Una capa de musculo liso está conectado a las tunicas vaginales del testículo por la fascia escrotal; esta es el tejido conectivo que típicamente se descompone en la separación de la piel del testículo durante la castración. El dartos, es una capa de musculo liso que está conectado a las tunicas vaginales del testículo por la fascia escrotal. Las tunicas vaginales son afloramientos del peritoneo y forman una túnica protectora sobre ellos. El espacio entre las dos capas de tunicas vaginal (parietal y visceral) como se refleja alrededor del testículo normalmente tiene una pequeña cantidad de líquido peritoneal. El tabique escrotal compuesto principalmente por el musculo dartos divide el escroto en dos mitades. Y la otra capa que contiene y protege el testículo es la túnica albugínea, está formado por una capa gruesa de tejido conectivo fibroso (Edmondson, Roberts, Baird, Bychawsky, & Pugh, 2012).

#### **2.1.4 La Libido**

Es la capacidad de servicio o comportamiento sexual que presenta el macho al desear la hembra. Esta actividad sexual ocurre en machos maduros sexualmente, y es limitada intensamente durante el estro cuando se presenta en la hembra inquietante (Alhamada , Debus , & Bocquier, 2017).

### ***2.1.5 Circunferencia Escrotal***

Para determinarla se debe tirar ventralmente de ambos testículos del reproductor, usando una cinta métrica (marcando centímetros), se asegura en la circunferencia más grande de los testículos. Se debe tener en cuenta la raza, debido que algunas poseen pelos o lana en los miembros y esto puede aumentar la circunferencia escrotal medida falsamente. La cinta debe estar ajustada al escroto sin lastimar al animal, pero que tampoco se deslice en los testículos. La circunferencia escrotal en reproductores es altamente heredable y está relacionada con la producción de esperma y la edad en la pubertad. Para la selección cabros con respecto a la circunferencia escrotal se tienen los siguientes criterios: se ha sugerido mínimos aceptados de 30 cm para animales que pesen más 150 libras, 33 cm para animales de 12 a 18 meses y 36 cm para animales que pesen más 250 libras. Estrictamente sobre la base de la edad, los animales de 8 a 14 meses deben tener una circunferencia escrotal de 28 a 36 cm para ser clasificados como satisfactorios y más de 36 cm para ser clasificados como excepcionales. Los animales mayores de 14 meses deben tener una circunferencia escrotal de 32 a 40 cm para ser clasificados como satisfactorios y más de 40 cm para ser clasificados como excepcionales (Edmondson, Roberts, Baird, Bychawsky, & Pugh, 2012).

### ***2.1.6 Secreción de Hormonas***

En el macho cabrío la totalidad de los procesos que conducen a la fabricación de los espermatozoides es llamada actividad espermatogénica. Esta depende de la LH y la FSH, estas hormonas inducen la diferencia y la multiplicación de las células germinales, de igual modo la síntesis y la producción de testosterona por las células de Leydig que se encuentran en el

testículo. La testosterona ayuda en el comportamiento del espermatogénesis y también produce las características sexuales y aplica una retroacción para la secreción de las gonadotropinas.

La hormona luteinizante no es desarrollada de manera continua por la hipófisis. Esta hormona es liberada de manera pulsátil, es decir, en periodos cortos de producción. Provocados por la actividad de las neuronas del hipotálamo y luego es liberada en la sangre de manera progresiva. Estos procesos bruscos de la concentración plasmática de la hormona luteinizante provocan una producción rápida de las células de Leydig del testículo, estas reaccionan liberando testosterona en la sangre. Así cada pulso de LH es acompañado de un pulso de testosterona. La hormona folículo estimulante es secretada de manera más compleja que la LH. Aunque sea posible identificar algunos pulsos en una serie cronológica, la hormona folículo estimulante es secretada de manera más continua que pulsátil (Chemineau & Delgadillo, 1993).

### ***2.1.7 Colección de Semen Caprino***

El proceso de recolección de semen se realiza mediante dos formas como lo es técnica de la vagina artificial o por medio de la técnica del electroeyaculador.

La forma más utilizada y la recomendada para para la recolección de semen es la técnica de la vagina artificial ya que esta permite obtener eyaculados con alto porcentaje de motilidad y concentración espermática. Este es el método más usado para el congelamiento seminal de alta frecuencia de colectas, debido a que genera poco stress en el macho cabrío.

**2.1.7.1 Técnica de la Vagina Artificial.** Consiste en un tubo térmico de forma cilíndrica con medidas (17 cm x 5.5 cm) y una funda interna de látex que se asegura a los extremos con la misma, formando entre el tubo y la funda un espacio hermético para el almacenamiento del agua caliente. En uno de los lados de la vagina se adapta un tubo colector. Se carga con agua caliente a unos 50°C con la intención de evitar la pérdida de calor que puede bajar de 40°C al momento de la eyaculación (Cueto, Gibbons, Bruno Galarraga, & Fernandez, 2016).

**2.1.7.2 Técnica del Electro eyaculador.** Una manera más avanzada y aplicada en la colecta de semen en los pequeños y grandes rumiantes, principalmente en (bovinos, ovinos y caprinos) es la técnica del electroeyaculador. Para esto se usa un dispositivo electrónico que consiste en una fuente generadora de energía eléctrica que transmite impulsos eléctricos en una determinada frecuencia, voltaje y corriente que son conducidos a través de un transductor, que consiste en un dispositivo de forma anular de proporciones requeridas según la especie. Contiene electrodos que permiten el paso de la energía eléctrica que provocan las descargas que ocasionan la eyaculación del animal (Yamasaki Maza, y otros, 2005).

### ***2.1.8 Criopreservación de Semen***

La Criopreservación es una técnica mediante el cual el material biológico puede ser mantenido viable por tiempo indefinido y el primer informe sobre la criopreservación de semen y la inseminación artificial se remonta al sacerdote y fisiólogo italiano Lázaro Spallanzani 1777, que intento preservar los espermatozoides enfriándolos en la nieve.

La Criopreservación de semen es la técnica bioreproductiva que busca promover la criopreservación del germoplasma por tiempo indefinido. Esta técnica proporciona una reducción en la economía para el productor al reducir los costos de alimentación y transporte de los sementales, así como prevenir los riesgos de transmisión de enfermedades sexuales transmisibles (Castelo, Rodrigues Frota, & Rodrigues Silva, 2008).

En algunos casos la congelación de semen causa una disminución en la viabilidad de los espermatozoides, además los caprinos tienen en el plasma seminal enzimas que reaccionan con componentes de la leche y el huevo (productos principalmente usados para la protección de espermatozoides durante la preservación), interacción que origina daños adicionales a las células durante el procesamiento del semen cuando se utilizan estas sustancias en los diluyentes (Cortes Lopez, s.f.).

**2.1.8.1 Nitrógeno Líquido.** El nitrógeno líquido es un elemento que se usa en el ámbito de la Criopreservación, con fines terapéuticos, bancos de tejidos y centros de transfusiones sanguíneas. La temperatura del nitrógeno líquido a presión atmosférica es de (-196°C), lo que ayuda a mantener a muy baja temperatura los tejidos o las células germinales (Gonzales Alvarez & Gomez Gomez , 2007).

**2.1.8.2 Tanques de Almacenamiento.** El semen congelado debe almacenarse en tanques que almacenen nitrógeno líquido y pajillas. Dentro del tanque se encuentran las canastillas que contienen los globets donde se encuentran las pajillas con el semen. Las canastillas tienen unos agujeros en su base por donde entra y sale el nitrógeno líquido. Los globets sostenidos en las canastillas pueden almacenar decenas de pajillas dependiendo de la dimensión de estas. El cuello



del tanque posee un tapón para evitar las fugas del nitrógeno y el tanque tiene una tapa que debe mantenerse cerrada y el nivel del nitrógeno líquido debe controlarse y mantenerse a un nivel adecuado. Debe establecerse un programa de mantenimiento del tanque y debe mantenerse en una habitación fresca y bien ventilada (Edmondson, Roberts, Baird, Bychawsky, & Pugh, 2012).

**2.1.8.3 Pajillas.** Para congelar el semen, se han desarrollado varios sistemas de embazado para la Criopreservación de los espermatozoides. Por ejemplo: en pajillas, gránulos o ampollas. En la actualidad la forma más adecuada para congelar semen es utilizando pajillas de plástico de (0.25 o 0.5 ml), y congelarse en nitrógeno líquido (Edmondson, Roberts, Baird, Bychawsky, & Pugh, 2012).

**2.1.8.4 Diluyentes.** Son sustancias que tienen como finalidad proteger la integridad del espermatozoide ante la acción de la toxicidad de los productos generados de su propio metabolismo durante el proceso de criopreservación, así como los cambios abruptos de la temperatura y el aumento en el volumen seminal.

La finalidad de los diluyentes es incrementar el volumen de los eyaculados y facilitar la preservación viable del espermatozoide por un tiempo mayor. Un diluyente mantiene eficiente o mejora el medio que rodea al espermatozoide suministrándole energía y protección contra productos del metabolismo y variaciones de temperatura (Gordon, 1997).

Para evitar pérdidas durante el proceso de criopreservación, se han desarrollado una gran cantidad de diluyentes en base a amortiguadores de pH (Tris, ácido cítrico), azúcares de bajo

peso molecular (fructosa, glucosa), que pasa por la membrana celular sirviendo como fuente de energía para el esperma, agentes protectores de membrana (yema de huevo, leche descremada), que contienen macromoléculas que proveen protección contra el shock por frío, y crioprotectores (glicerol y otros polialcohol, aminoácidos) que reducen la formación intracelular de cristales de hielo durante el proceso de congelado-descongelado (Molina , Evans , Quintana Casares, & Maxwell, 1994).

**2.1.8.5 AndroMed®.** Es un concentrado estéril que se usa para la preparación de un diluyente libre de yema de huevo para eyaculados. Apropiado para la congelación de semen bovino, ovino y caprino, y para la conservación de semen en fresco. Contiene fosfolípidos, TRIS, ácido cítrico, azúcares, antioxidantes, tampones, glicerina, agua de altísima pureza y antibióticos (Minitube, 2021).

#### Figura 2 .

*Presentación del producto*



*Nota:* Fuente. (Minitube, 2021).

**2.1.8.6 Crioprotectores.** Son sustancias hidrosolubles y de baja toxicidad que disminuyen el punto eutéctico de una solución dada, (punto en el cual una composición dada de A y de B solidifica como un elemento puro), el descenso del punto eutéctico implica que se alcanzara una concentración de solutos a una temperatura menor, de forma que la célula estará más deshidratada y el gradiente osmótico al que estará sometido será menor. Bioquímicamente es posible distinguir tres tipos de crioprotectores, los alcoholes (metanol, etanol, propanol, 1,2-propanediol y glicerol), azúcares (lactosa, glucosa, sucrosa, sacarosa) y el dimetil sulfoxido, los crioprotectores también pueden clasificarse en agentes penetrantes y no penetrantes de acuerdo a la permeabilidad celular. El crioprotector penetrante más comúnmente usado en procesos de congelamiento es el glicerol, por su bajo peso molecular y permeabilidad a través de la membrana celular (Avila Portillo, y otros, 2006).

### ***2.1.9 Congelador Programable (Frezze Control CL8800 Systems)***

En países como Estados Unidos y Australia, producen congeladoras portátiles modelos CL2200, CL3300, CL5500 y CL8800 de Labbiogenics, Napa, California, USA y Cryologic, Mulgrave, Australia. Son congeladores de nitrógeno líquido de velocidad controlada, diseñados con precisión para la criopreservación de muestras biológicas. Los sistemas son modulares. Cada uno consta de un controlador de temperatura, una cámara criogénica y un baño criogénico. La cámara se encuentra directamente en nitrógeno líquido en el criobaño y está conectada al controlador que regula la temperatura de las muestras. Este sistema proporciona un método patentado y confiable para la transferencia de calor y la regulación de la temperatura en la congelación del material biológico para la conservación a largo plazo y la recuperación viable (Cryologic, 2021)

**Figura 3.***Freeze Control CL8800 Systems**Nota:* Fuente. (Cryologic, 2021)

**2.1.9.1 Mace Sperm Tracker.** Es un sistema de análisis espermático que se usa para calcular la calidad seminal. Este programa fue creado para hacer fácil y simple la toma de muestra de semen de especies como la bovina, equina, porcina, ovino y caprina a través de una metodología de videograbación utilizando tecnología computarizada de bajo costo.

Permitiéndole al usuario procesar más rápidamente las muestras de los animales (ANTURIUS, 2021).

**Figura 4.**  
*Mace Sperm Tracker*



*Nota:* Fuente. (ANTURIUS, 2021).

## **2.2 Enfoque Legal**

### ***2.2.1 Resolución 02820 11/10/2001***

Por la cual se dictan disposiciones para el control técnico de la producción, importación y comercialización del material seminal y embriones.

El gerente general del instituto colombiano agrícola, ICA, en uso de sus facultades legales y en especial de las que confieren los decretos números 2141 de 1992, 2645 de 1993, 1840 de 1994, 1454 de 2001, y Considerando: que corresponde al instituto colombiano agrícola, ICA, ejercer el control técnico de los insumos agropecuarios; que el material seminal y los embriones son insumos pecuarios de origen biológico, utilizados para promover la producción pecuaria; que toda persona natural o jurídica que se dedique a la producción, importación, control de calidad y comercialización de material seminal y embriones, deberá registrarse en el ICA y cumplir las normas contenidas en la legislación vigente; que es necesario establecer las normas a las cuales se debe sujetar toda persona natural o jurídica que se dedique a las actividades mencionadas en el considerado anterior (ICA, 2001).

## Capítulo 3. Informe de Cumplimiento de Trabajo

### 3.1 Descripción del Ensayo

El presente trabajo de investigación se realizó en el proyecto caprino de la granja experimental de la universidad francisco de paula Santander seccional Ocaña (UFPSO), ubicada en el municipio de Ocaña en el departamento del norte de Santander. Esta granja se encuentra a una altitud de 1202 m.n.s.m y el clima está caracterizado por una temperatura media durante el año de 22°C. Esta investigación se ejecutó durante el segundo semestre académico en el mes de septiembre del año 2021.

Para la elaboración de este trabajo fueron seleccionados como donantes de las muestras de semen los reproductores del proyecto caprino sexualmente maduros de las razas toggenburg, alpinos, canario y criollo santandereano. Al momento de la toma de muestras estos animales registraban una edad entre 12 y 36 meses, con un peso promedio de 30 a 45 kg. Cabe resaltar que los animales están en confinamiento y son sometidos a pastoreo rotacional, concentrado y sal mineralizada, igualmente son usados con fines académicos por lo que ya están acostumbrados a los distintos métodos de toma de muestras de semen como lo es el electroeyaculador y la vagina artificial.

El proceso de congelación se realizó por medio un sistema de congelador programable (Freeze Control CL8800 Systems), en dicho sistema se realizaron las tres curvas de congelamiento mencionadas en el objetivo general. Posteriormente se evaluaron primero las

muestras de semen colectadas en fresco y luego las muestras descongeladas, por medio de un sistema de análisis espermico (Mace Sperm Tracker).

## **3.2 Manipulación y Evaluación del Semen**

### ***3.2.1 Preparación del Diluyente***

Para el proceso de Criopreservación se utilizó un diluyente comercial llamado AndroMed, en su base de presentación indica que para la preparación del diluyente se requiere añadir 800 ml de agua destilada al contenido de 200 ml del frasco de Andromed (Minitube, 2021). En este caso se hicieron las diluciones en tubos de ensayos de 10 ml. por lo que se añadieron 8 ml de agua destilada y 2 ml de Andromed. Luego se calentó el diluyente a una temperatura de 35°C en baño de maría con el fin de mantener la temperatura de los eyaculados (Fig. 8a). Según los autores (Gonzales-Murcia & Martinez, 2016), este producto facilita una microscopia más eficiente, ya que, es un medio transparente que entrega imágenes de semen extremadamente claras bajo el microscopio. Asegurando que la eficiencia es superior dentro de las concentraciones estipuladas por la casa comercial manteniendo resultados sobresalientes.

**Figura 5.**

(a) Agua destilada + AndroMed (b) diluyentes protegidos contra la luz



(a)



(b)

Nota: Fuente. Autor de la pasantía, 2021

### 3.2.2 Preparación de la Vagina Artificial

Para la obtención de las muestras seminales se cargó la vagina artificial con la suficiente agua caliente a una temperatura de más de 50°C, se adecuaron las respectivas fundas para recibir y proteger el semen (Fig. 6). Luego se insufló con el fin de simular las condiciones del tracto reproductivo de la cabra (la vagina cuenta con una válvula en un costado para facilitar esta operación), para que la temperatura al momento del servicio este entre 40 y 45°C debido a pérdida de calor por las diferentes colectas. Con el objetivo de verificar la presión de la vagina artificial se introduce el dedo índice (Evans & Maxwell, 1990).



**Figura 6.**  
*Vagina Artificial.*



*Nota:* Fuente: Autor de la pasantía, 2021

### ***3.2.3 Colecta de Semen***

Posteriormente se seleccionaron los machos a colectar, se pasearon por el aprisco para que estos detectaran a las hembras que estuvieran en celo; con el fin de estimular su reflejo del comportamiento sexual (cortejo, monta, erección y eyaculación). Luego se procedió a la inmovilización de la hembra para que el macho la montara, cuando la hembra estuvo asegurada el macho realizo el salto. Cuando el macho penetro la vagina artificial ejecuto el llamado golpe riñón y eyaculo dentro de la funda estéril, entonces se tuvo cuidado protegiendo el semen de los rayos solares (Fig. 7). Cabe resaltar que los tubos usados en todas las colectas fueron sellados con papel aluminio, con el fin de evitar la penetración de los rayos de luz (Fig.5b).

**Figura 7.**  
*Colecta de semen al reproductor toggenburg con vagina artificial*



*Nota:* Fuente. Autor de la pasantía, 2021.

### **3.2.4 Estabilización de muestras**

Seguidamente de las colectas, las muestras fueron colocadas en un termo con agua a temperatura de 35°C para evitar el choque térmico y luego fueron llevadas al laboratorio de reproducción de la granja experimental, donde fueron incubadas en baño maría a la misma temperatura (Fig. 8a).

La frecuencia de este proceso fue repetida día por medio durante el mes de septiembre del presente año por lo que se ejecutaron 45 colectas en total, con una duración promedio de 10 minutos por proceso.

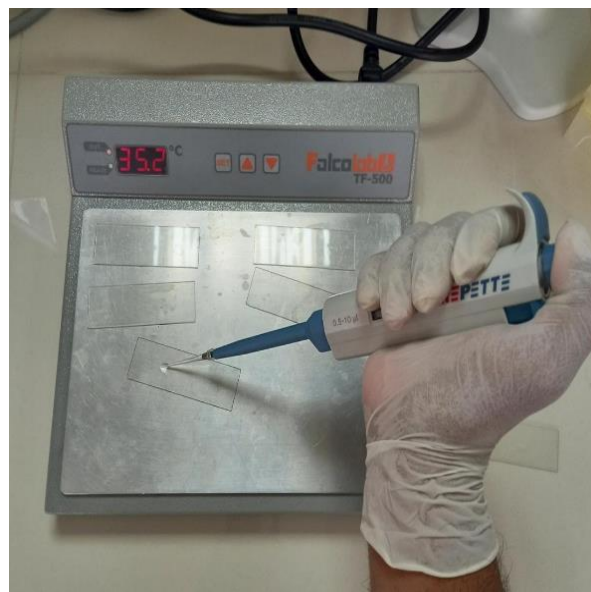
El orden de colecta de los machos reproductores fue determinado aleatoriamente durante los días de las colectas.

**Figura 8.**

(a) Incubación de muestras en baño maría (b) Plancha Calentadora



(a)



(b)

Nota: Fuente. Autor de la pasantía, 2021.

### 3.2.5 Análisis Macroscópico

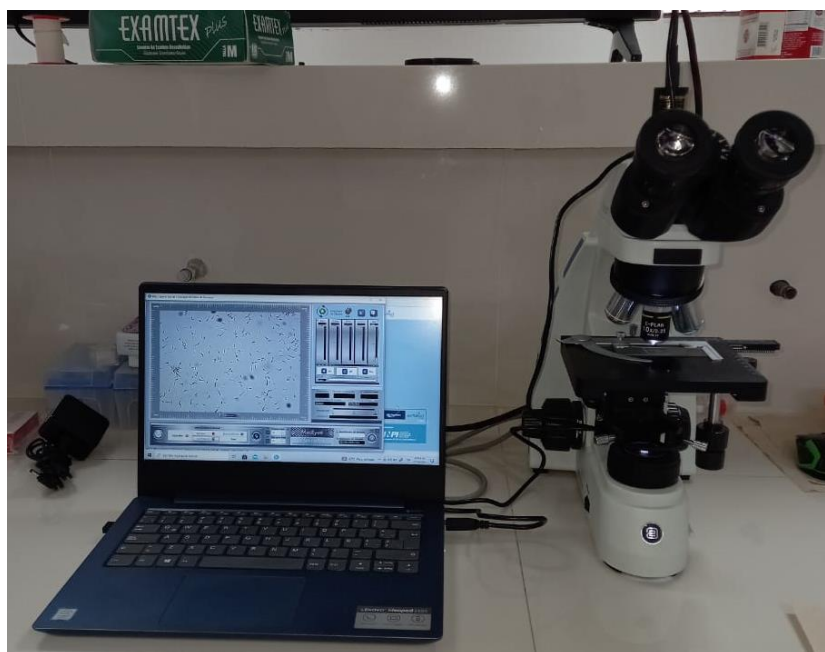
Después de tener las muestras en baño María, se evaluó macroscópicamente en fresco el color de las muestras de semen, tornando siempre en los eyaculados un color característico blanco-lechoso normal o cremoso-pálido y en muchas ocasiones blanco-amarillento (resaltando que se trabajaron distintas razas). El olor característico de leche fresca y al mismo animal muchas veces (Veloz-Veloz, 2017), de igual manera, se evaluó el volumen de los eyaculados que vario de 0.5 a 1 ml cuando fueron obtenidas de las fundas desechables en cada colecta.

### 3.2.6 Análisis Microscópico

Se realizó mediante un sistema computarizado microscópicamente. Se analizó por medio del sistema Mace Sperm Tracker conectado a un microscopio óptico (Oxion Euromex) (Fig.9), donde primero se tomó una muestra de los eyaculados incubados en el baño maría utilizando una micro pipeta graduada de 5 $\mu$ l, dejando la gota de semen puro en una laminilla de vidrio y luego se cubrió con el cubreobjetos, después se colocaron en una plancha calentadora a 35°C (Fig.8b), para su observación microscópica a 10x en el microscopio óptico, así como lo describe (Evans & Maxwell, 1990).

#### Figura 9.

*Sistema Mace Sperm Tracker.*



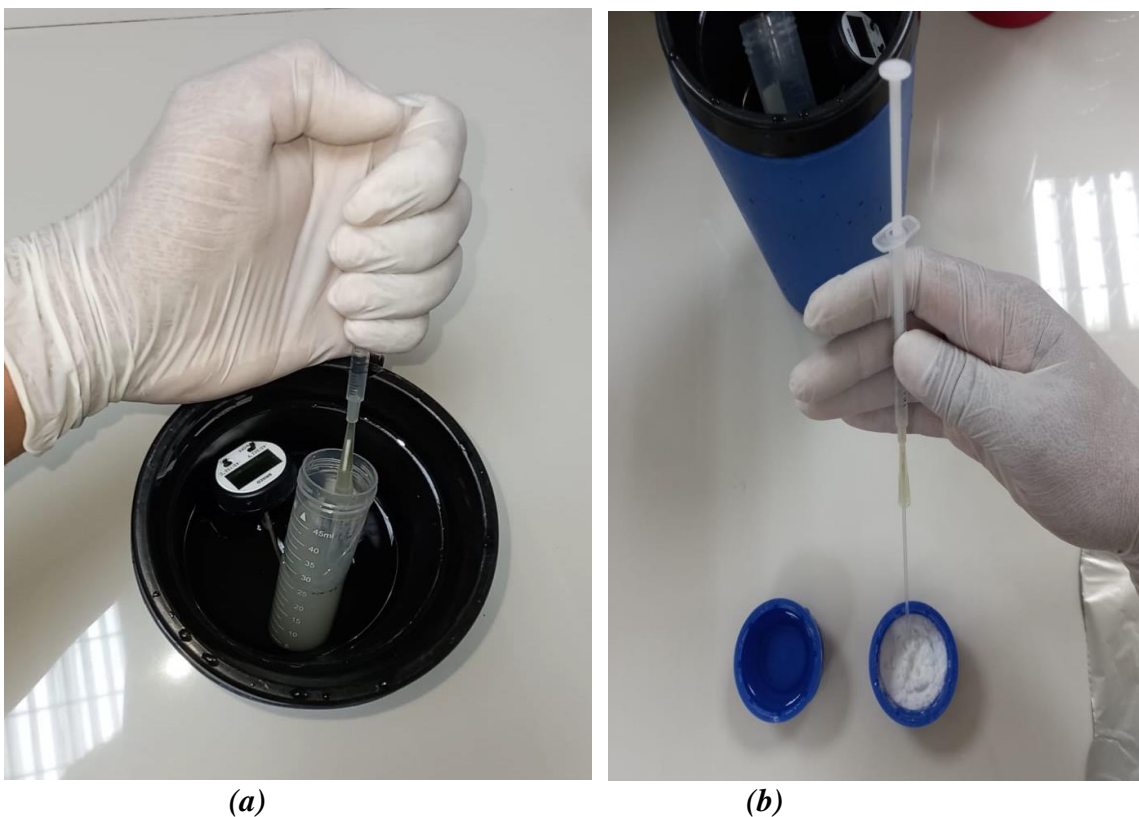
*Nota:* Fuente. Autor de la pasantía, 2021.

El análisis microscópico se realizó inmediatamente después de la colecta en el Programa Mace Sperm Tracker (Fig.9), arrojando una concentración espermática de  $2.000 \times 10^6$  espermatozoides/ml. Los factores a evaluar fueron la motilidad, viabilidad y la integridad de la membrana. La motilidad espermática fue superior a 70% en la mayoría de los eyaculados. Por lo que se procedió a la respectiva homogenización de los eyaculados con el diluyente, este proceso se realizó deslizando el semen por las paredes de cada tubo mezclándolo suavemente.

### ***3.2.7 Empaquetado de Semen***

Después de haber realizado las diluciones finales con el medio diluyente, se empaquetaron en pajuelas de 0,25 ml con una carga espermática de 150 millones de espermatozoides.

Las pajillas se envasaron con una jeringa de insulina y una punta de micro pipeta. Se pipeteo hasta que el contenido llene y toque el (algodón-alcohol polivinílico-algodón) de la pajuela (Fig.10a). Posteriormente se toma el otro extremo de la pajuela, tocando la parte del algodón para evitar la transmisión de calor al semen. Luego fueron selladas con golpes suaves en un recipiente que contenía alcohol polivinílico y en el otro agua; este proceso se realizó en repetidas ocasiones hasta que gelifico (Fig.10b), después se secaron con papel adsorbente como lo describe (Cueto, Gibbons, Bruno Galarraga, & Fernandez, 2016). Las pajuelas se colocaron en un termo con agua a menos grados en que salieron del baño maría, acompañadas de un termómetro digital; para hacerle seguimiento a la temperatura. Con el fin de empezar la fase de descenso (Fig.11b).

**Figura 10.***(a) Empajillado del semen. (b) Sellado de pajuelas*

*(a)*  
 Nota: Fuente. Autor de la pasantía, 2021.

*(b)*

### **3.2.8 Estabilización y Refrigeración de muestras**

Las pajillas fueron envueltas en papel aluminio con el fin de protegerlas de los rayos de luz, igualmente este papel aluminio funciona como transportador de energía (Fig.11a).

El descenso de temperatura empezó después de 35°C hasta llevarlas a 5°C. Este descenso se logró gracias a que se mantuvieron en una nevera en refrigeración manipulada (Fig. 11a).

Desde entonces se mantuvieron refrigeradas las muestras a 5°C y se dejaron reposar por 3 horas hasta el momento de la congelación (Fig. 11a).

El tiempo comprendido desde la colecta de semen, las diluciones, la estabilización y refrigeración, no fue mayor de 30 minutos. Y tanto el semen como el diluyente se mantuvieron en baño maría a 35°C antes de la dilución (Guerrero, Huanca, Raymundo , Huerta, & Ramos, 2009).

**Figura 11.**

(a) Estabilización de las pajillas durante 3 horas (b) Reducción de la temperatura de las pajillas



(a)

(b)

Nota: Fuente. Autor de la pasantía, 2021.

### 3.2.9 Congelación de Semen

Después de haber reposado durante 3 horas, las muestras fueron secadas con papel absorbente y dispuestas en la Criocámara del congelador programable CL-8800 (Cryologic, 2021). Se llenó previamente con nitrógeno líquido y justado a una temperatura de inicio de 5°C para continuar con el descenso de la misma e inicio del proceso de las curvas de congelación y su posterior Criopreservación (Fig.13a).

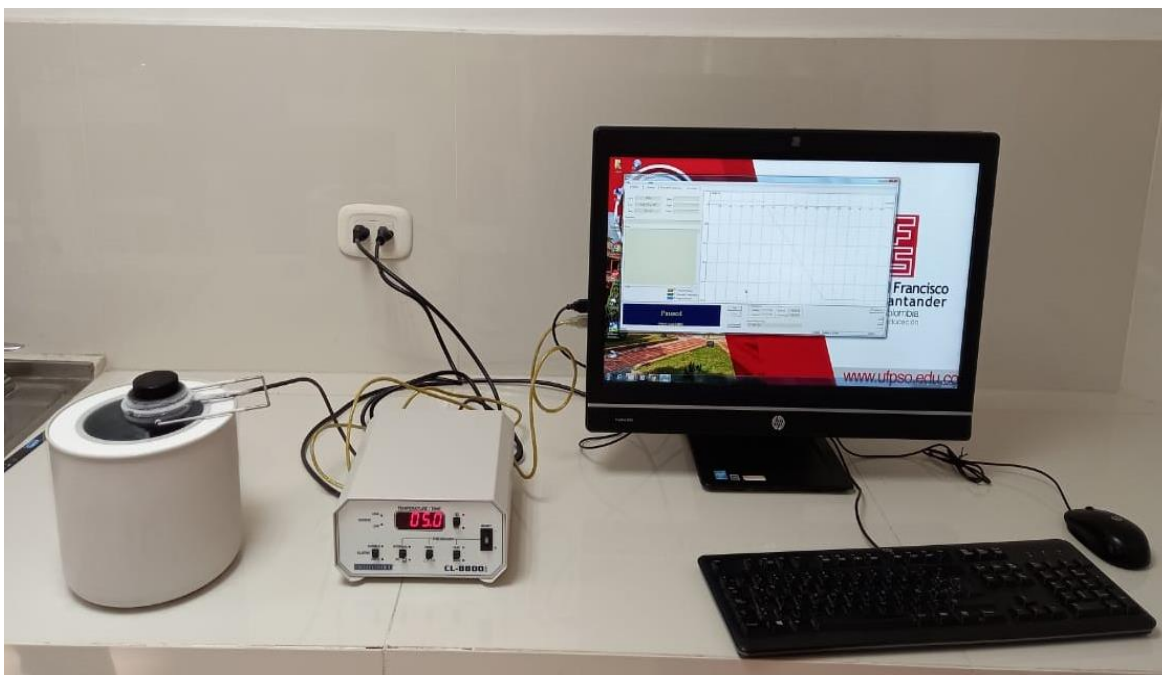
Al culminar el proceso de congelación las pajillas fueron ubicadas dentro un termo de almacenamiento que contiene nitrógeno líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$  para su Criopreservación.

### ***3.2.10 Descongelación de las Pajillas***

Las pajillas fueron descongeladas en baño maría a  $35^{\circ}\text{C}$  durante 60 segundos, después se secaron las pajillas con papel adsorbente y se cortaron los extremos sellados con el alcohol-polivinílico-alcohol. Luego se pipetearon las muestras y se colocaron en una plancha calentadora (Fig. 8b). Para posteriormente observar el semen en 10x en el microscopio óptico para su respectivo análisis, donde fueron evaluados los parámetros de motilidad, viabilidad e integridad de la membrana del espermatozoide en el programa computarizado Mace Sperm Tracker (Fig.9).

#### **Figura 12.**

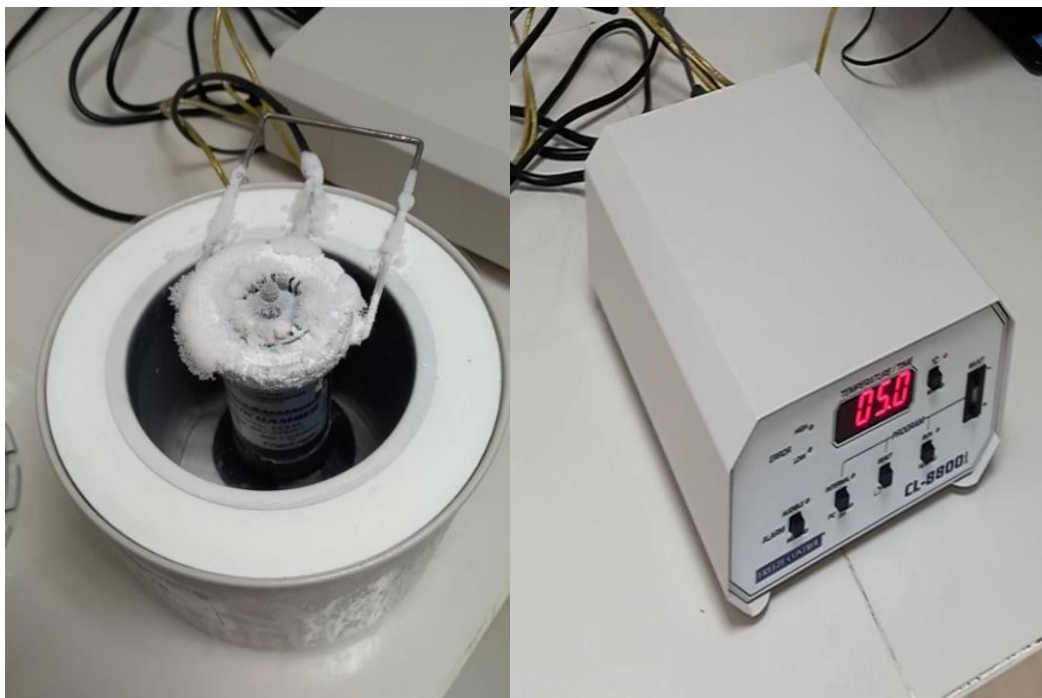
*Congeladora Programable Freeze Control CL-8800 Systems*



*Nota:* Fuente. Autor de la pasantía, 2021.



**Figura 13.**  
(a) Criocámara (b) control programador



(a)

(b)

*Nota:* Fuente: Autor de la pasantía, 2021

### 3.3 Resultados y Discusión

#### 3.3.1 Primera Curva de Congelación

La primera curva llevo el semen a una temperatura de 5°C y durante 5 minutos se mantuvo estabilizada. Luego empezó el descenso de la temperatura a -45°C con una velocidad de 10°/min y posteriormente fueron sumergidas en nitrógeno líquido a -196°C hasta su próxima evaluación en el sistema computarizado Mace Sperm Tracker.

### 3.3.2 Segunda Curva de Congelación

La segunda curva llevo el semen a una temperatura de 5°C y durante 5 minutos se mantuvo estabilizada. Luego empezó el descenso de la temperatura a -45°C con una velocidad de 8°C/min y posteriormente fueron sumergidas en nitrógeno líquido a -196°C hasta su próxima evaluación en el sistema computarizado Mace Sperm Tracker.

### 3.3.3 Tercera Curva de Congelación

La tercera curva llevo el semen a una temperatura de 5°C y durante 5 minutos se mantuvo estabilizada, luego empezó el descenso de la temperatura a -45°C con una velocidad de -3°C/min. Posteriormente fueron sumergidas en nitrógeno líquido a -196°C hasta su próxima evaluación en el sistema computarizado Mace Sperm Tracker.

**Tabla 4.**  
*Curva de congelamiento*

Curvas	Semen fresco			Semen Congelado		
	M%	V%	IM%	M%	V%	IM%
<b>C1</b>	81.9	80.4	80.0	58.3	67.1	70.0
<b>C2</b>	81.5	75.5	76.0	37.9	67.1	72.0
<b>C3</b>	90.9	79.0	80.0	0.0	0.0	0.0

*Nota:* en la tabla anterior se muestran los promedios de cada curva de congelamiento Fuente: Autor de la pasantía, 2021.

En la tabla expuesta anteriormente podemos observar los datos promedios de los parámetros tomados en cuenta con respecto al análisis de semen fresco y semen congelado que nos arrojó el sistema computarizado Mace Sperm Tracker. Datos tenidos en cuenta como la motilidad, viabilidad e integridad de la membrana del espermatozoide, fueron insertados en un

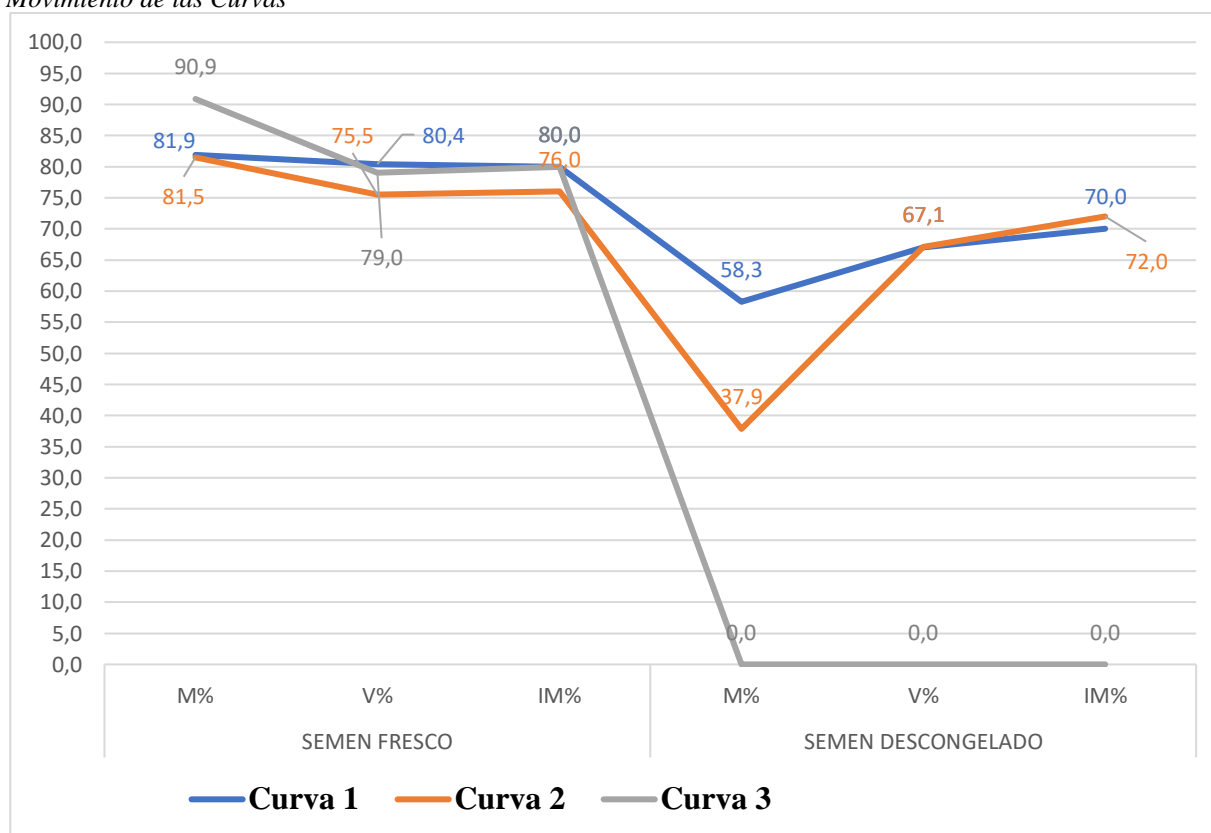
libro del programa Excel para su respectivo análisis estadístico. De este modo se evaluaron las curvas de congelamiento en la congeladora programable.

De igual manera cada curva expresa sus respectivos valores demostrando así los objetivos específicos propuestos en la investigación.

### 3.3.4 Curvas de Congelamiento

**Figura 14.**

*Movimiento de las Curvas*



Nota: Fuente. Autor de la pasantía, 2021

De acuerdo a la (fig. 14), la motilidad espermática del semen en fresco está bajo los estándares estipulados por (Carpio Chuchuca, 2015), ya que están por encima del 80% en las

curvas 1,2 y 3. Aunque al momento de Criopreservar el semen bajaron estos valores, el comportamiento de la curva 1 fue ascendente pero aun así cumple con el porcentaje de fertilidad. Cabe resaltar que la velocidad en la curva 1 se destaca debido a que es mucho más lenta que las curvas 2 y 3. En otros estudios realizados por (Guerrero, Huanca, Raymundo , Huerta, & Ramos, 2009), estos autores asemejan la motilidad con los Crioprotectores teniendo como ensayo diluyentes a base de Tris-Glucosa-Yema de huevo-Glicerina en semen de carnero. Hallaron una motilidad de pos descongelamiento del 38,7% partiendo de una motilidad base del 90%. De esta manera se cumple con el primer objetivo específico de la investigación.

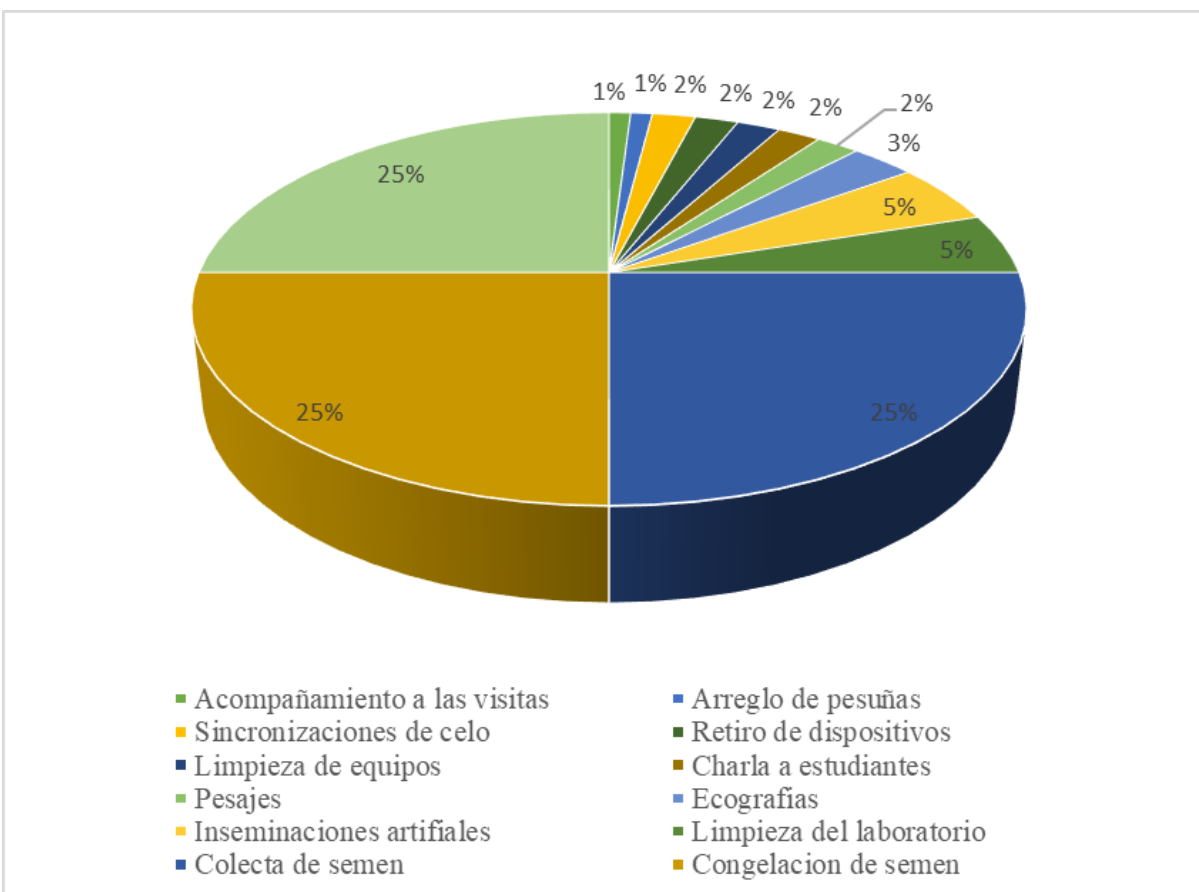
En la curva 1 y 2 el porcentaje de la integridad de la membrana espermática disminuyo progresivamente al momento de la Criopreservación, ya que en fresco tuvo buenos resultados, pero en estas curvas 1 y 2 hay que tener en cuenta que la velocidad en la que baja la temperatura es mucho más lenta que la curva 3 debido a su programación, para los autores (Fiser & Fairfull, 1984), el diluyente juega un papel muy importante debido a sus agentes Crioprotectores que protegen la membrana del espermatozoide. De igual manera hablan en su experimento que a concentraciones ideales del diluyente obtienen una buena protección de la membrana plasmática al momento de la post descongelación y a velocidades de 5 a 10°/min se tienen resultados significativamente mayores.

Se midió el porcentaje de viabilidad presentado en la (fig. 14), lo cual las curvas 1 y 2 son prácticamente compatibles debido a que se encuentran muy cerca del rango de supervivencia, aunque la velocidad de congelamiento no fue la misma se mantienen en efecto.

De acuerdo a los valores establecidos en la curva 3 solo fue posible analizar la motilidad, viabilidad e integridad de la membrana plasmática del semen en fresco, debido a que la curva 3 fue una curva muy rápida por lo que asemeja al ensayo realizado por (Fiser & Fairfull, 1984), cuando dicen que se tienen resultados más efectivos en una curva que baje la velocidad de la temperatura a más de 10°C/min.

### **3.4 Actividades Realizadas Durante el Periodo de la Pasantía**

El desarrollo de la pasantía se realizó en compañía del especialista Carlos Andrés Sepúlveda Pallares, quien es el director del laboratorio de reproducción y director del trabajo de grado respectivamente. En conjunto con los pasantes del laboratorio realizábamos las actividades reproductivas de todas las explotaciones de la granja experimental y granja la Troya. Igualmente se participó en las actividades de prácticas de los estudiantes con fines académicos, se les acompañaba en los distintos procesos dentro y fuera de la institución brindándoles el apoyo pertinente, enfocados y transmitiendo las habilidades adquiridas dentro del laboratorio de reproducción animal.

**Figura 15.***Actividades realizadas durante el proceso de pasantía*

*Nota:* Fuente: Autor de la pasantía, 2021.

## Capítulo 4. Diagnostico Final

El periodo comprendido entre el 12 de febrero y el 24 de diciembre del año 2020 se llevó a cabo la realización de las pasantías profesionales en el laboratorio de reproducción de la granja experimental de la universidad francisco de paula Santander seccional Ocaña, ubicada en el municipio de Ocaña, norte de Santander. Las prácticas profesionales se suspendieron en un corto periodo por el tema pandémico del Covid-19 en cuanto se retomaron, se realizaron todas las actividades establecidas en el cronograma que se encuentran en la tabla 3 y en la (figura 15), hasta el día de la finalización de las pasantías.

Los resultados de las curvas de congelación fueron favorables en todas las muestras frescas de semen diluido con AndroMed, pero cuando fueron sometidos a las temperaturas del nitrógeno líquido en la Criocámara solo funciono una sola curva de congelamiento.

## Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo de investigación y al analizar la calidad seminal de los reproductores del proyecto caprino se concluye que todos los valores arrojados por el programa Mace Sperm Tracker como lo es la motilidad, viabilidad e integridad de la membrana se encuentran dentro de los rangos establecidos por los autores citados.

Se concluyó que la primera curva de congelamiento utilizando AndroMed como medio diluyente es la más óptima para el proceso de Criopreservación de semen de cabro, ya que el descenso de la temperatura se da cuando esta llega a  $-45^{\circ}\text{C}$  con una velocidad de  $10^{\circ}/\text{min}$  para ser sumergidas en nitrógeno líquido a  $-196^{\circ}\text{C}$ , lo que favorece la Criopreservación del material seminal y evita el choque térmico al descender a menor tiempo en comparación con las otras curvas de congelamiento.



## **Recomendaciones**

Se recomienda incorporar en el proyecto caprino materiales de laboratorio para que las colectas sean más rápidas y fáciles. Así reducimos el tiempo del proceso de estabilización de las muestras.

Seria de mucha ayuda y precisión en investigaciones futuras el uso del sistema computarizado Mace Sperm Tracker, por lo que se recomienda instalárselos a distintos computadores del laboratorio de reproducción.

## Referencias

- Acero Plazas, V. M. (2014). *El bienestar animal en sistemas productivos de ovinos-caprinos en Colombia*. Obtenido de file:///C:/Users/ufpso/Downloads/918-Texto%20del%20art%C3%ADculo-2239-1-10-20150713.pdf
- Alhamada , M., Debus , N., & Bocquier, F. (3 de Abril de 2017). *An automated method for the evaluation of ram libido in real mating conditions*. Obtenido de <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/article/abs/an-automated-method-for-the-evaluation-of-ram-libido-in-real-mating-conditions/E0FC3332CA580431EB32912EDF39E17F>
- ANTURIUS. (16 de septiembre de 2021). Obtenido de <https://anturiusbrasil.com.br/site/>
- Avila Portillo, L. M., Madero, J. I., Lopez , C., Leon , M. F., Acosta, L., Gomez, C., . . . Reguero, M. T. (19 de octubre de 2006). *Fundamentos de criopreservación*. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-74342006000400008](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74342006000400008)
- Blockey, M. A. (2004). *university of melbourne library*. Obtenido de <https://minerva-access.unimelb.edu.au/handle/11343/39540>
- Carpio Chuchuca, S. (2015). Evaluacion de Dos Diluyentes Para la Crioconservacion de Semen Bovino: Yema de Huevo vs Leche Descremada. *Universidad Politecnica Salesiana Sede Cuenca Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia*.
- Castelo, T. d., Rodrigues Frota, T., & Rodrigues Silva, A. (2008). *CONSIDERAÇÕES SOBRE A CRIOPRESERVAÇÃO*. Obtenido de <https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/acta/article/view/885>
- Chemineau, P., & Delgadillo, J. A. (1993). Neuroendocrinologia de la Reproduccion en el Caprino. *HAL Archives Ouvertes.fr*.

Chenoweth, P. J. (1981). Libido and Mating Behavior in bulls.

Cortes Gallego, S. (2003). Efecto de la conservación sobre la fisiología espermática de semen caprino. 2.

Cortes Lopez, H. A. (s.f.). *Comparacion de Tres Diluyentes (Triladyl, Andromed y Leche Descremada) en la Motilidad Progresiva Post-Descongelacion de Semen de Macho Caprino*. Obtenido de [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/51364058/Articulo\\_bcag\\_hector.pdf?1484501458=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DComparacion\\_de\\_Tres\\_Diluyentes\\_Triladyl.pdf&Expires=1631313348&Signature=Z6LudxRF~8XJLiQ7NKN4CfNLsUSfvQuEP2k3iGzK00nJRG7Z](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/51364058/Articulo_bcag_hector.pdf?1484501458=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DComparacion_de_Tres_Diluyentes_Triladyl.pdf&Expires=1631313348&Signature=Z6LudxRF~8XJLiQ7NKN4CfNLsUSfvQuEP2k3iGzK00nJRG7Z)

Cryologic. (14 de septiembre de 2021). Obtenido de <https://www.cryologic.com/freeze.htm>

Cueto, M. I., Gibbons, A. E., Bruno Galarraga, M. M., & Fernandez, J. (2016). *Manual de Obtencion, Procesamiento y Conservacion de Semen Ovino*. Obtenido de INTA DIGITAL: <https://repositorio.inta.gob.ar/handle/20.500.12123/4715>

Edmondson, M. A., Roberts, J. F., Baird, A. N., Bychawsky, S., & Pugh, D. G. (2012). *Therigenology of Sheeo of Goats Chapter 8*. Obtenido de <https://www-sciencedirect-com.sibdigital.ufpso.edu.co/science/article/pii/B9781437723533100083>

Evans, G., & Maxwell, W. M. (1990). *ACRIBIA Editorial Acribia, S.A*. Obtenido de [https://www.editorialacribia.com/libro/inseminacion-artificial-de-ovejas-y-cabras\\_54341/](https://www.editorialacribia.com/libro/inseminacion-artificial-de-ovejas-y-cabras_54341/)

Fiser, P. S., & Fairfull, R. W. (1984). *The Effect of Glycerol Concentration and Cooling Velocity on cryosurvival of ram spermatozoa frozen in straws*. Obtenido de [https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Fiser+PS&cauthor\\_id=6499501](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Fiser+PS&cauthor_id=6499501)

- Gonzales Alvarez, S., & Gomez Gomez , F. J. (2007). Riesgos de los Liquidos Criogenicos. *Tecnica Industrial* 268, 32-37.
- Gonzales-Murcia, P., & Martinez, J. A. (2016). *Universidad de La Salle Facultad de Ciencias Agropecuarias Programa de Ciencias Veterinarias Bogota D.C.* Obtenido de [https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1177&context=medicina\\_veterinaria](https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1177&context=medicina_veterinaria)
- Gordon, I. (1997). *Controlled reproduction in farm animal's series. In: Sheep and goats.* Obtenido de <https://www-sciencedirect-com.sibdigital.ufpso.edu.co/science/article/abs/pii/S1090023398800300?via%3Dihub>
- Guerrero, H., Huanca, W., Raymundo , F., Huerta, S., & Ramos, D. (27 de septiembre de 2009). *Revistas de Investiogaciones Veterinarias del Peru.* Obtenido de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172009000100007](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172009000100007)
- Hernandez , D., & Carrilo-Gonzales, D. (2015). *APLICACIÓN DEL TEST HIPOOSMÓTICO (HOST) EN LA EVALUACIÓN DE CALIDAD SEMINAL EN OVINOS CRIOLLOS DE PELO COLOMBIANO.* Obtenido de [https://documen.site/download/aplicacion-del-test-hipoosmotico-host\\_pdf](https://documen.site/download/aplicacion-del-test-hipoosmotico-host_pdf)
- ICA. (11 de Octubre de 2001). Obtenido de <file:///C:/Users/ufpso/Downloads/RES%202820%20DE%202001.pdf>
- Mateos Rex, E. (1990). Avances en Reproduccion Caprina. *Mundo Ganadero* , 41.
- Medeiros, C. (2001). *current status of sperma cryopreservation: why isn't it better?* Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11775978/>
- Minitube. (13 de septiembre de 2021). *Minitube.* Obtenido de <https://www.minitube.com/catalog/es/andromed-p4722/>

- Molina , F. C., Evans , G., Quintana Casares, P. I., & Maxwell, W. C. (17 de noviembre de 1994). *Effect of monosaccharides and disaccharides in Tris-based diluents on motility, acrosome integrity and fertility of pellet frozen ram spermatozoa*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0378432094900582#!>
- Niño Gonzales, T. (2013). *Aportaciones Tecnologicas en la preservacion de semen en la Raza Caprina Mejoreea*. Obtenido de [https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/10743/4/0686754\\_00000\\_0000.pdf](https://accedacris.ulpgc.es/bitstream/10553/10743/4/0686754_00000_0000.pdf)
- Pabón Quevedo, H. Y., & Pulido Medellín, M. O. (2021). Circunferencia escrotal como criterio de selección para carneros de reemplazo. *Pensamiento y Accion* . Obtenido de [https://revistas.uptc.edu.co/index.php/pensamiento\\_accion/article/view/12583/10455](https://revistas.uptc.edu.co/index.php/pensamiento_accion/article/view/12583/10455)
- Perez Llanos , B., & Mateos Rex, E. (1993). Evaluacion del Comportamiento en Machos Cabrios. *Revista MG Mundo Ganadero*.
- Rmirez Merlano, J., Medina Robles, V., & Cruz Casallas, P. (2010). Crioconservación espermiática en peces, un acercamiento en Siluriformes. 60.
- Veloz-Veloz, D. M. (septiembre de 2017). “*Evaluación de la calidad espermiática de reproductores bovinos mediante el uso de sistemas de evaluación seminal convencional y sistema CASA (análisis seminal por computadora) y su respuesta con la fertilidad por inseminación artificial*”. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28466/1/Trabajo%20de%20titulaci%203%b3n.%20pdf.pdf>
- Vera Garza , T. (1993). *Reproduccion de Ganado Caprino* . Nuevo Leo, Mexico.

Yamasaki Maza, A., Pedraza Villagomez, P., Peralta Lailson, M., Yong Angel , G., Roths Schuh

Villanueva, J. E., & Yamasaki Maza, L. (2005). Diseño y Construcción de

Electroeyaculador Ovino y Caprino. *REDVET Revista Electronica de Veterinaria*.

Zamora Piñango, N. D. (Octubre de 2009). *universidad de los andes nucleo universitario "Rafael*

*Rangel"* departamento de ciencias agrarias trujillo estado trujillo. Obtenido de

[http://bdigital.ula.ve/storage/pdftesis/pregrado/tde\\_arquivos/34/TDE-2010-05-](http://bdigital.ula.ve/storage/pdftesis/pregrado/tde_arquivos/34/TDE-2010-05-)

[20T04:33:39Z-1013/Publico/ZamoraNeida.pdf](http://bdigital.ula.ve/storage/pdftesis/pregrado/tde_arquivos/34/TDE-2010-05-20T04:33:39Z-1013/Publico/ZamoraNeida.pdf)