UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

FACULTAD CIENCIAS DE LA VIDA

CARRERA DE BIOLOGIA

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

TEMA:

EVALUACIÓN ESPERMÁTICA Y MORFOPATOLÓGICA DE CARNERO BLACKBELLY Y PELIBUEY PARA CRIOPRESERVACIÓN EN CONDICIONES DE LA AMAZONIA.

AUTOR(ES):

Noella Sharlyn Silva Villamarin

Cristina Lilibeth Zambrano Porras

DOCENTE - TUTOR:

Msc. Ricardo Ernesto Burgos Moran

Puyo - Pastaza - Ecuador

2022

FORMATO 4
APROBACIÓN DE LOS TRABAJOS DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
(Uno por cada evaluador)

En el siguiente cuadro se detalla un conjunto de criterios a evaluar con un total de cien (100) puntos.		
Criterios	**Puntaje**	**Argumentos de la calificación**
1. TÍTULO		
El título es conciso e informativo de la idea principal del escrito. Genera expectativas de lectura que se cumplen.	5/5	CUMPLE
2. RESUMEN		
Entrega información necesaria que oriente al lector a identificar de qué se trata la investigación y su relevancia. Incorpora los objetivos, metodología, principales hallazgos y conclusiones.	5/5	CUMPLE
3. INTRODUCCION		
Entrega información sobre la temática a tratar. Describe la relevancia del tema dentro de las temáticas de investigación, vinculación y docencia. Presentación del problema y objetivos del problema del artículo de manera clara y concisa.	20/20	CUMPLE
4. MARCO TEÓRICO		
Marco teórico coherente y articulado con los objetivos. Entrega conceptos de términos que son empleados en el estudio. Sustenta el referente conceptual con adecuadas fuentes de autoridad.	15/15	CUMPLE
5. METODOLOGIA		
Describe el tipo de investigación a desarrollar. Expone con claridad el procesamiento de la información y obtención de los datos. Plantea los criterios de análisis con que se abordó la información.	15/15	CUMPLE

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS		
Entrega los resultados de manera organizada a partir del problema planteado, objetivos específicos, etc. Los cuadros y figuras son pertinentes y están claramente representados. El texto no repite información entregada en los cuadros y figuras.	15/25	CUMPLE
7. CONCLUSIONES		
Las conclusiones deben ser claras y precisas, acorde a los objetivos trazados. Discute, reflexiona sobre los resultados obtenidos.	10/10	CUMPLE
8. REFERENCIAS		
Atiende las normas APA en las citas, fuentes y referencias. Las referencias bibliográficas tienen la fuente en el texto y viceversa.	5/5	CUMPLE
VALORACIÓN TOTAL	100	

DICTAMEN

Marque la casilla correspondiente a su criterio de evaluación respecto al documento revisado.

Recomendación	**Marque con X**
Aprobar	**X**
No Aprobar	
CALIFICACIÓN	**100/100**

Atentamente,

JUNIOR STALIN VARGAS HIDALGO

Firmado digitalmente porJUNIOR STALIN VARGAS HIDALGO
DN: cn=JUNIOR STALIN VARGAS HIDALGO gn=JUNIOR STALIN c=EC l=PUYO ou=Certificado de Clase 2 de Persona Fisica EC (FIRMA) e=jrgianco@yahoo.com
Motivo:Soy el autor de este documento
Ubicaci· n:
Fecha:2022-08-09 22:22-05:00

Junior Stalin Vargas Hidalgo
Docente PAR CIEGO

Dado en la ciudad de Puyo, a los 09 días del mes de agosto de 2022

FORMATO 4
APROBACIÓN DE LOS TRABAJOS DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
(Uno por cada evaluador)

En el siguiente cuadro se detalla un conjunto de criterios a evaluar con un total de cien (100) puntos.		
Criterios	**Puntaje**	**Argumentos de la calificación**
1. TÍTULO		
El título es conciso e informativo de la idea principal del escrito. Genera expectativas de lectura que se cumplen.	5/5	Cumple
2. RESUMEN		
Entrega información necesaria que oriente al lector a identificar de qué se trata la investigación y su relevancia. Incorpora los objetivos, metodología, principales hallazgos y conclusiones.	5/5	Cumple
3. INTRODUCCION		
Entrega información sobre la temática a tratar. Describe la relevancia del tema dentro de las temáticas de investigación, vinculación y docencia. Presentación del problema y objetivos del problema del artículo de manera clara y concisa.	14/20	Algunos temas pudieron abordarse con mayor profundidad. Se recalca que el documento incluido la bibliografía tiene 12 páginas, pues los anexos (marco teórico) son considerados adicionales a las 15 páginas mínimas que pide la plantilla de la UEA. Esto incumple lo estipulado por la UEA.
4. MARCO TEÓRICO		
Marco teórico coherente y articulado con los objetivos. Entrega conceptos de términos que son empleados en el estudio. Sustenta el referente conceptual con adecuadas fuentes de autoridad.	12/15	La segunda revisión ya tiene marco teórico, sin embargo, algunos temas son abordados superficialmente.
5. METODOLOGIA		
Describe el tipo de investigación a desarrollar. Expone con claridad el procesamiento de la información y obtención de los datos. Plantea los criterios de análisis con que se abordó la información.	15/15	Cumple.

6. ANÁLISIS DE RESULTADOS		
Entrega los resultados de manera organizada a partir del problema planteado, objetivos específicos, etc. Los cuadros y figuras son pertinentes y están claramente representados. El texto no repite información entregada en los cuadros y figuras.	16/25	En la primera revisión se pidió que se fortalezca la discusión, pues solamente se limitan a mostrar los resultados. Sin embargo, no se ha considerado esto.
7. CONCLUSIONES		
Las conclusiones deben ser claras y precisas, acorde a los objetivos trazados. Discute, reflexiona sobre los resultados obtenidos.	10/10	
8. REFERENCIAS		
Atiende las normas APA en las citas, fuentes y referencias. Las referencias bibliográficas tienen la fuente en el texto y viceversa.	5/5	
VALORACIÓN TOTAL	82/100	

DICTAMEN

Marque la casilla correspondiente a su criterio de evaluación respecto al documento revisado.

Recomendación	**Marque con X**
Aprobar	X
No Aprobar	
CALIFICACIÓN	82/100

Atentamente,

MARIO ANDRES AVILA ANDRADE

Firmado digitalmente por MARIO ANDRES AVILA ANDRADE
Fecha: 2022.08.10 16:21:51 -05'00'

Blg. Andrés Ávila M. Sc.

Dado en la ciudad de El Pangui, a los 10 días del mes de agosto de 2022.

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA
CARRERA DE BIOLOGÍA

Puyo, 7 de agosto de 2022

Por medio del presente CERTIFICO que:

El Trabajo de Integración Curricular correspondiente al estudiante **Noella Sharlyn Silva Villamarin,** con C.I. **172072347-5,** con el tema: **"Evaluación espermática y morfopatológica de carnero blackbelly y pelibuey para su criopreservación en condiciones de la Amazonía"**.; de la carrera de **Biología.**

Docente-Tutor del Trabajo de Integración Curricular, **Ricardo Ernesto Burgos Moran**, ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 0%, informe generado con fecha 07-08-2022 por parte del director conforme al archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes
Atentamente,

Firmado electrónicamente por:
RICARDO ERNESTO BURGOS MORAN

M.Sc. Ricardo Ernesto Burgos Moran
Docente -Tutor del Trabajo de Integración Curricular
C.I. 0102431335

Ouriginal by Turnitin

Document Information

Analyzed document	Evaluacion espermatica ovinos_rv_RB_original.doc (D142719877)
Submitted	2022-08-07 20:20:00
Submitted by	RICARDO BURGOS
Submitter email	rburgos@uea.edu.ec
Similarity	0%
Analysis address	rburgos.uea@analysis.urkund.com

Sources included in the report

Entire Document

Evaluación espermática y morfopatológica de carnero blackbelly y pelibuey para criopreservación en condiciones de la Amazonia

Autor 11 autor1@uea.edu.ec Autor 21 autor2@uea.edu.ec Autor 3, M.Sc2
autor3@uea.edu.ec
Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Vida, Carrera de Biología.

Resumen
El análisis de la calidad y criopreservación de esperma ovino representa un factor importante para el productor rural amazónico, debido a que se amplía un número de crías con relación a las de monta natural. En este estudio se evaluó la calidad seminal de 11 machos de dos razas ovinas, Blackbelly y Pelibuey mediante factores de calidad básicos. Se realizaron análisis macroscópicos del volumen de semen, color y pH; y microscópicos de aglutinamiento, motilidad espermática masal e individual y morfopatologías mediante índices de valoración de criterios pre-establecidos. Se empleó técnicas de tinción con eosina-nigrosina para observación de patologías en muestras frescas y para la evaluación de la viabilidad post descongelamiento. La producción de pajuelas de 0,25ml fue realizada con el diluyente Triladyl® en proporción 1:3:1, congeladas en una cámara de nitrógeno líquido bajando la temperatura gradualmente para que el número de espermatozoides viables no disminuya, el protocolo de descongelamiento también fue progresivo. Todas las muestras fueron óptimas para criopreservación; con una mayoría de color amarillo cremoso; sin embargo, se observó que la desviación estándar de Pelibuey fue mayor, manifestando la variabilidad genética de los padrotes seleccionados. Las pruebas post descongelamiento presentaron características de calidad necesarias para su uso en programas de reproducción asistida con un <62% de viabilidad en ambas razas, sin diferencia significativa según el análisis el varianza realizado (p<0,05). El volumen y viabilidad de los espermatozoides post congelamiento orienta a que se deben manejar buenas prácticas de selección de padrotes y procesamiento de pajuelas en laboratorio para crear un plan de inseminación artificial enfocados a programas de reproducción asistida y mejora genética.
Palabras Clave: Morfopatologías espermática, viabilidad seminal, criopreservación.
Abstract

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICAFACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA CARRERA DE BIOLOGÍA

Puyo, 7 de agosto de 2022

Por medio del presente CERTIFICO que:

El Trabajo de Integración Curricular correspondiente al estudiante **Cristina Lilibeth Zambrano Porras,** con C.I. **160041593-7,** con el tema: **"Evaluación espermática y morfopatológica de carnero blackbelly y pelibuey para su criopreservación en condiciones de la Amazonía"**.; de la carrera de **Biología.**

Docente-Tutor del Trabajo de Integración Curricular, **Ricardo Ernesto Burgos Moran**, ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 0%, informe generado con fecha 07-08-2022 por parte del director conforme al archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes
Atentamente,

Firmado electrónicamente por:
RICARDO ERNESTO BURGOS MORAN

M.Sc. RICARDO ERNESTO BURGOS MORAN
Docente -Tutor del Trabajo de Integración Curricular
C.I. 0102431335

Ouriginal by Turnitin

Document Information

Analyzed document	Evaluacion espermatica ovinos_rv_RB_original.doc (D142719877)
Submitted	2022-08-07 20:20:00
Submitted by	RICARDO BURGOS
Submitter email	rburgos@uea.edu.ec
Similarity	0%
Analysis address	rburgos.uea@analysis.urkund.com

Sources included in the report

Entire Document

Evaluación espermática y morfopatológica de carnero blackbelly y pelibuey para criopreservación en condiciones de la Amazonia

Autor 11 autor1@uea.edu.ec Autor 21 autor2@uea.edu.ec Autor 3, M.Sc2
autor3@uea.edu.ec
Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Vida, Carrera de Biología.

Resumen
El análisis de la calidad y criopreservación de esperma ovino representa un factor importante para el productor rural amazónico, debido a que se amplía un número de crías con relación a las de monta natural. En este estudio se evaluó la calidad seminal de 11 machos de dos razas ovinas, Blackbelly y Pelibuey mediante factores de calidad básicos. Se realizaron análisis macroscópicos del volumen de semen, color y pH; y microscópicos de aglutinamiento, motilidad espermática masal e individual y morfopatologías mediante índices de valoración de criterios pre-establecidos. Se empleó técnicas de tinción con eosina-nigrosina para observación de patologías en muestras frescas y para la evaluación de la viabilidad post descongelamiento. La producción de pajuelas de 0,25ml fue realizada con el diluyente Triladyl® en proporción 1:3:1, congeladas en una cámara de nitrógeno líquido bajando la temperatura gradualmente para que el número de espermatozoides viables no disminuya, el protocolo de descongelamiento también fue progresivo. Todas las muestras fueron óptimas para criopreservación; con una mayoría de color amarillo cremoso; sin embargo, se observó que la desviación estándar de Pelibuey fue mayor, manifestando la variabilidad genética de los padrotes seleccionados. Las pruebas post descongelamiento presentaron características de calidad necesarias para su uso en programas de reproducción asistida con un <62% de viabilidad en ambas razas, sin diferencia significativa según el análisis el varianza realizado (p<0,05). El volumen y viabilidad de los espermatozoides post congelamiento orienta a que se deben manejar buenas prácticas de selección de padrotes y procesamiento de pajuelas en laboratorio para crear un plan de inseminación artificial enfocados a programas de reproducción asistida y mejora genética.
Palabras Clave: Morfopatologías espermática, viabilidad seminal, criopreservación.
Abstract

Evaluación espermática y morfopatológica de carnero blackbelly y pelibuey para criopreservación en condiciones de la Amazonia

Noella Sharlyn Silva Villamarin[1]
blg2017123@uea.edu.ec

Cristina Lilibeth Zambrano Porras[1]
blg2017105@uea.edu.ec

Ricardo Ernesto Burgos Moran, MSc[2]
rburgos@uea.edu.ec

Universidad Estatal Amazónica, Facultad de Ciencias de la Vida, Carrera de Biología.

Resumen

El análisis de la calidad y criopreservación de esperma ovino representa un factor importante para el productor rural amazónico, debido a que se amplía un número de crías con relación a las de monta natural. En este estudio se evaluó la calidad seminal de 11 machos de dos razas ovinas, Blackbelly y Pelibuey mediante factores de calidad básicos. Se realizaron análisis macroscópicos del volumen de semen, color y pH; y microscópicos de aglutinamiento, motilidad espermática masal e individual y morfopatologías mediante índices de valoración de criterios pre-establecidos. Se empleó técnicas de tinción con eosina-nigrosina para observación de patologías en muestras frescas y para la evaluación de la viabilidad post descongelamiento. La producción de pajuelas de 0,25ml fue realizada con el diluyente Triladyl® en proporción 1:3:1, congeladas en una cámara de nitrógeno líquido bajando la temperatura gradualmente para que el número de espermatozoides viables no disminuya, el protocolo de descongelamiento también fue progresivo. Todas las muestras fueron óptimas para criopreservación; con una mayoría de color amarillo cremoso; sin embargo, se observó que la desviación estándar de Pelibuey fue mayor, manifestando la variabilidad genética de los padrotes seleccionados. Las pruebas post descongelamiento presentaron características de calidad necesarias para su uso en programas de reproducción asistida con un >62% de viabilidad en ambas razas, sin diferencia significativa según el análisis de varianza realizada (p>0,05). El volumen y viabilidad de los espermatozoides post congelamiento orienta a que se deben manejar buenas prácticas de selección de padrotes y procesamiento de pajuelas en laboratorio para crear un plan de inseminación artificial enfocados a programas de reproducción asistida y mejora genética.

Palabras Clave*:* Morfopatologías espermática, viabilidad seminal, criopreservación.

Abstract

The analysis of the quality and cryopreservation of sheep sperm represents an important factor for the Amazonian rural producer, because a number of offspring is increased in relation to those of natural mating. In this study, the seminal quality of 11 males of two sheep breeds, Blackbelly and Pelibuey, was evaluated using basic quality factors. Macroscopic analyzes of semen volume, color and pH were performed; and microscopic studies of agglutination, mass and individual sperm motility and morphopathology by means of assessment indices of pre-established criteria. Eosin-nigrosin staining techniques were used to observe pathologies in fresh samples and to evaluate post-thaw viability. The production of 0.25ml straws was carried out with the Triladyl® diluent in a 1:3:1 ratio, frozen in a liquid nitrogen chamber, gradually lowering the temperature so that the number of viable spermatozoa does not decrease, and the thawing protocol was progressive. All samples were optimal for cryopreservation; with a majority of creamy yellow color; however, it was observed that the Pelibuey standard deviation was higher, showing the genetic variability of the selected pimps. The post-thaw tests presented quality characteristics necessary for their use in assisted reproduction programs with >62% viability in both breeds, with no significant difference according to the analysis of variance performed (p>0.05). The volume and viability of post-freezing spermatozoa guides that good practices of selection of pimps and processing of straws in the laboratory should be managed to create an artificial insemination plan focused on assisted reproduction programs and genetic improvement.

Keywords*:* Sperm morphopathologies, seminal viability, cryopreservation.

1. INTRODUCCIÓN

Blackbelly y pelibuey son razas ovinas que tienen gran importancia en la producción cárnica en la Amazonia ecuatoriana (Moyano, Caicedo, Riofrio, & Lopez, 2017). Blackbelly oriunda de la isla de Barbados, Antillas, son animales de alta rusticidad, con talla mediana, pelo corto de hasta dos centímetros, entre 34-60 kg no son estacionales, tienen alta resistencia a parásitos y enfermedades, además de una buena prolificidad y precocidad reproductiva; además de su característico color negro desde la quijada hasta la parte interior de las piernas, a lo que debe su nombre (Gonzalez, 2017). Los ovinos Pelibuey, también exhiben una muy extensa adaptabilidad, lo que ha favorecido que actualmente se los encuentre en la Amazonia ecuatoriana; son animales de tamaño pequeño a mediano entre 35 y 80 kg, presentan pelo en lugar de lana, con tres coloraciones básicas: café, blanca y pinta; y, en algunas ocasiones llegan a presentar zonas de pelaje negro (Martínez, Berruecos, & Espinoza, 2017).

El ciclo reproductivo de los ovinos es poliéstrico temporal, diferenciada por una época del año en que la gran mayoría de las hembras presenta cíclicamente el celo o estación sexual, y otro período del año en que una proporción varia y según la raza, muestra inactividad sexual. (Arroyo, 2011). Así, la criopreservación, como técnica que conserva gametos, especialmente esperma, con fines de selección y propagación genética para recursos alimenticios. Esto, permite el almacenamiento de células reproductivas viables que serán utilizadas para procesos de fecundación asistida mediante pajuelas o *in vitro*, por tanto se vuelve trascendente conocer las características de los espermatozoides con el fin de optimizar la adecuada selección de machos donantes, y su viabilidad post proceso de congelamiento, ya que la adecuada detección diagnóstica y evaluación posterior podrá mejorar la cadena de producción del semen congelado (Portilla, Madero, & lopez, 2006).

En consecuencia, a lo mencionado, el objetivo que se estableció en esta investigación es evaluar la calidad espermática y morfopatológica de carneros blackbelly y pelibuey para su criopreservación en condiciones de la Amazonia ecuatoriana. Así, se espera aportar con conocimientos del uso y ventaja de machos residentes en condiciones locales de trópico húmedo con el fin de maximizar su uso reproductor, dentro de un programa de reproducción asistida.

2. MATERIALES Y MÉTODOS/METODOLOGÍA

2.1 Área de experimentación

Este trabajo se realizó en la Estación Experimental de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en la provincia de Pastaza en el periodo entre mayo-julio de 2022. Se encuentra ubicada en la vía Puyo Macas km 32, parroquia Simón Bolívar, cantón Pastaza, en las coordenadas 01° 41’S 77°56’W, a una altitud de 1040 m.s.n.m. Posee una temperatura media mensual de 20,62°C, precipitación de 3433 mm anuales y una humedad relativa del 87,54%.

2.2 Enfoque, Alcance y Tipo de Investigación

El enfoque de esta investigación es mixto ya que se basa en estudio que recolecta, analiza y vierte datos cuantitativos y cualitativos, como lo define Barrantes (2014). Se realizó la investigación sacando muestras y evaluándolas según criterios establecidos previamente y posterior, haciendo un analisis estadístico

Referente al tipo de investigación, es descriptiva debido a que a través es del tipo de investigación que utiliza métodos analíticos, también, es posible indicar las características del objeto de investigación o una situación específica, y señalar las características y propiedades del objeto de investigación. En combinación con ciertos criterios de clasificación, es posible ordenar, agrupar o sistematizar los objetos de interés de la investigación. Al igual que la investigación que describimos anteriormente, puede ser la base para investigaciones que requieren un nivel de profundidad mayor, teniendo en cuenta esto se analizaron las muestras obtenidas en los diferentes periodos de tiempo.

2.3 Animales de estudio

Se utilizaron 11 machos, cinco de raza Blackbelly y seis Pelibuey con una edad entre 4 a 6 años, pertenecientes a la Estación Experimental de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo en Pastaza. Estos ovinos se seleccionaron por su ascendencia genética, además poseen el entrenamiento necesario para la extracción del material seminal de manera eficiente. Se mantuvieron en un plan de alimentación, manejo y cuidado sanitario adecuado para cubrir los requerimientos nutricionales y fisiológicos.

2.4 Colecta de muestra

La colecta se realizó previa la valoración de la conducta reproductiva de los ovinos por medio de una prueba de capacidad de servicio a corral, ubicando a los machos junto con la presencia de hembras que se encuentren en celo.

La extracción fue realizada con la utilización de una vagina artificial de marca IMV Espagne. Según Gibbons (2011), esta técnica es la que mejor favorece la colecta de semen, porque proporciona estimulación térmica y mecánica la cual brindará presión para obtener la eyaculación. Así, los carneros fueron asegurados; y, se procedió colocar la vagina frente al prepucio con el extremo abierto con un ángulo de 45° tomando como referencia el piso, manipulando al animal desde el lado derecho, con el fin de prepararlo para la monta ya que la eyaculación es muy rápida y debe ser de manera eficaz. Para evitar la contaminación del semen colectado se escogió un lugar limpio libre de polvo y de cualquier sustancia que altere su calidad.

Posterior a la recolección de semen, fue necesario brindarle protección de cambios violentos de temperatura, impurezas ambientales, contacto con agua y metales y la radiación solar, así todo el equipo se encontró esterilizado y seco.

2.5 Análisis macroscópico de la muestra

La cantidad de semen eyaculado fue medido de manera exacta con un tubo de recolección graduado tipo Falcon®, el cual va acoplado a la vagina artificial, con este mecanismo. Así, se logró aprovechar al máximo alrededor de los 2 ml extraídos, mismos que varían según la edad, tamaño, condición física del animal, frecuencia de recolección y la habilidad del operador (Cueto, Macarena, Bruno, & Fernández, 2011).

Se realizaron observaciones del color seminal inmediatamente posterior a la colecta, sobre la base de una paleta de colores en los tonos: blanco, blanco lechoso y marfil, de tonalidad estándar, además de amarrillo cremoso y crema; que se deben a varios factores como presencia de orina o la dieta del animal. Cuando el semen es transparente, quiere decir que el número de espermatozoides es reducido; y, en caso de presentar otras coloraciones con matices rojos, se indica la presencia de sangre; así como apariciones grises o marrones que indican infección o contaminación. Con estos criterios se pueden descartar la muestra y examinar al macho para descubrir el origen de estas anomalías

(Buffoni, 2013).

El pH de cada muestra fue medido con tiras indicadoras de pH. La interpretación general de este criterio es que, en ovinos se tiende a la acidosis, así cuando el semen es alcalino, la tasa de fertilidad es escasa y alerta del acompañamiento de patologías como necrospermia ocasionando que la concentración espermática y motilidad disminuyan (Evans & Maxwell, 2009).

2.6 Análisis microscópico de la muestra

El aglutinamiento de los espermatozoides se observó colocando 0,3ml de esperma en un porta objetos con observación al microscopio previo una tinción. Esta característica es la acumulación de espermatozoides en el eyaculado; y, se presenta la unión de cabeza con cabeza o cola con cabeza. La aglutinación se genera por infecciones o cambios en el pH del semen así indica que la calidad seminal es menor (Ramos, Rojas, & Martínez, 2017). La evaluación es estandarizada según la tabla 1.

Tabla 1. Criterios de valoración del aglutinamiento de esperma.

Valor	Simbología	Características
0	-	Sin aglutinamiento
0,5	+-	Aglutinamiento adecuado
1	+	Poco aglutinado
2	++	Aglutinamiento moderado
3	+++	Aglutinamiento severo

La motilidad espermática masal e individual, fue evaluada con una muestra de semen tomada con micropipeta y montada en un portaobjetos de vidrio. La observación fue realizada en un microscopio con lente 100X. Así, la movilidad de la masa se estima por la intensidad del movimiento de las olas en una escala subjetiva entre 0 y 5 (0, mínimo; 5, máximo); para la criopreservación de semen se recomienda una motilidad de masa igual o mayor a 3.

La movilidad espermática fue evaluada con 10µl de muestra en un portaobjetos, el desplazamiento correcto de los espermatozoides deberá tener un movimiento progresivo del 32% al 40% por lo tanto un macho debe presentar estos valores para que sea posible la fecundación.

Para determinar si existen morfopatologías en los espermatozoides, se hicieron dos frotis delgados para colorear la cabeza, según el método de Hanncock. Por tanto, se utilizó semen ya diluido 1:1, con dos frotis gruesos, escalonados para colorear otras células que no sean espermatozoides, como leucocitos, células epiteliales, células espermatogénicas, etc. Todos los frotis se secan al aire para su posterior análisis microscópico (Hancock, 1952). Así, se determinaron mediante tres conteos por muestra y cada uno de un total de 200

espermatozoides, se estimó su valor porcentual y evaluó con una escala de 0 a 5, lo cual indica que 0 es ausencia total de espermatozoides anómalos y 5 representa 90% o más de espermatozoides con malformaciones, en la siguiente matriz se detalla cada valor, según lo expuesto en la Tabla 2.

Tabla 2, Criterios de valoración del morfopatologías de esperma.

Valor	Características
0	Ausencia total de patologías morfológicas.
1	Pocos espermatozoides presentan alguna anomalía.
2	Presencia de algunos espermatozoides con malformaciones.
3	Se observa morfopatologías entre el 50-60% de espermatozoides
4	Espermatozoides anómalos entre un 70-90%
5	Los espermatozoides con patologías se presentan en un porcentaje de 90% en adelante

2.7 Congelamiento del semen

Posterior a evaluar el semen a nivel macroscópico y microscópico, se preparó la disolución para congelar en pajuelas. Se utilizó el diluyente Triladyl® en una proporción de 1:3:1; es decir una de concentrado de Triladyl®, tres partes de agua destilada y una de yema de huevo (Delgado, 2013). Las muestras de semen fueron diluidas en una proporción 1:1, en el laboratorio con control de temperatura, para prevenir alteraciones en la muestra. Las pajuelas fueron de 0,25ml de disolución y almacenadas en refrigeración previo el descenso gradual de temperatura hasta los 5°C, antes de la inmersión en nitrógeno líquido donde se mantienen a esa temperatura hasta su descongelamiento.

2.8 Viabilidad post descongelamiento

La viabilidad espermática fue evaluada posterior al descongelamiento gradual, con el fin de evitar daños en la muestra. Una vez re-disponible el semen, se colocó una gota para observación al microscopio de la motilidad individual progresiva. El porcentaje de espermatozoides vivos se determinó mediante la observación de la muestra previamente teñida con eosina y nigrosina. Así, las cabezas teñidas indican espermatozoides muertos, y mediante, valores superiores al 60% indica buena viabilidad para su uso (Carpio, 2008).

2.9 Procesamiento analítico y estadístico de los datos

Los datos obtenidos fueron organizados en forma de base de datos a través de Excel®, analizada preliminarmente con tablas dinámicas y procesados estadística y gráficamente con el programa SPSS, con un test de análisis de varianza debido al comportamiento de los datos y su distribución de frecuencias.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los datos obtenidos se comparó las diferentes muestras de eyaculados entre las dos razas ovinas de tipo carnicero, en condiciones de la Amazonia ecuatoriana, en distintos periodos de colecta con un intervalo de abstinencia de 2 a 6 días.

Los resultados organizados en la Tabla 3, demuestra que todas las muestras son óptimas para su posterior criopreservación; sin embargo, se observa que la desviación estándar presente en la raza Pelibuey es mayor, manifestando la variabilidad genética de los padrotes seleccionados.

Tabla 3, Características de semen obtenido de dos razas ovinas

Criterio	Blackbelly n=5	Pelibuey n=6	*p* valor
Volumen (ml)	1,39±0,7	1,19±0,57	0,467
pH	6,7	5,9	-
Índice de Motilidad masal	3,42±1,39	3,74±1,25	0,885
Índice de Motilidad individual	3,03±1,05	2,95±1,20	0,991
Índice de Movilidad progresiva	3,7±1,03	2,97±1,12	0,870
Índice de Morfopatologías	2	2	-
Aglutinamiento	1,08±0,69	0,95±0,71	0,521
Viabilidad post descongelamiento (%)	62,26±6,35	62,57±6,93	0,729
Pajuelas	271,92±79,57	262,69±77,5	0,801

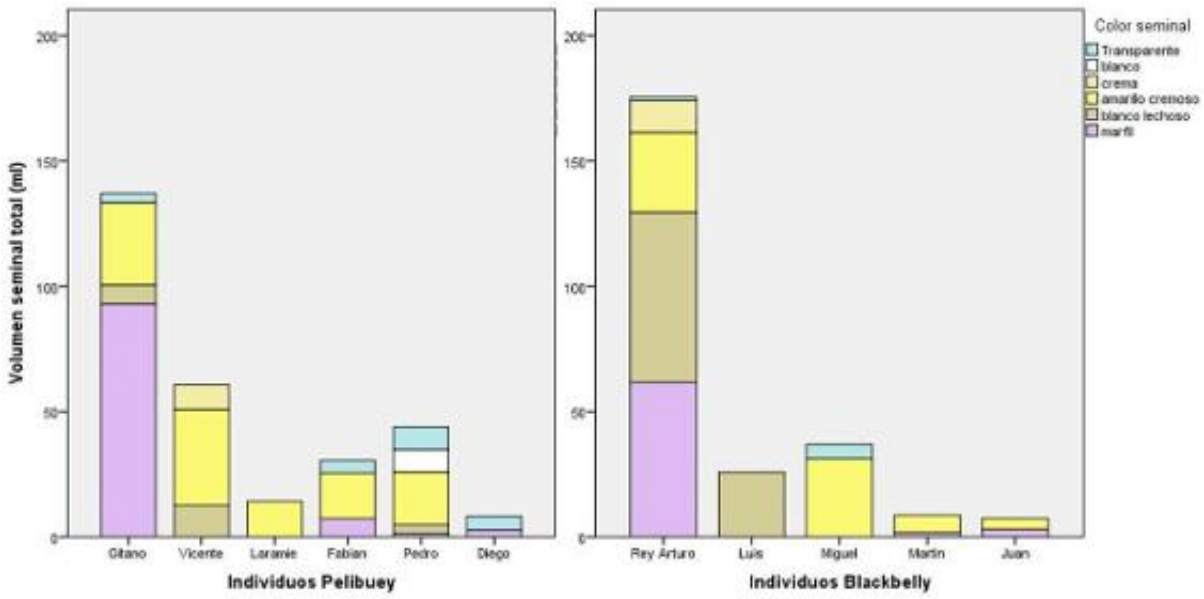
La variación del volumen seminal entre razas no es significativa (p=467); en concordancia a lo observado anteriormente por Hidalgo (2009), quien reporta que el volumen de semen ovino presenta valores entre 0,5-2ml, indicador de una buena calidad seminal. Similares datos son registrados por (Hafez, 2004) quien menciona valores diferenciados por grupo etario, con adultos entre 0,5-2ml, y juveniles de 0,5-0,7ml. Así, las muestras obtenidas en términos de cantidad serían óptimas para su procesamiento en pajuelas.

El pH registrado de las muestras tiende a la acidez, según Guillen (2021) estos valores indican una buena capacidad fecundante, dato concordante con Trejo (2001), quien manifiesta que las muestras que presentan un pH alcalino son de baja fecundidad o muestra un individuo estéril.

Al evaluar el de color, se determinó que el color amarillo cremoso es el valor que aparece con mayor frecuencia, seguido de marfil y blanco lechoso, demostrando que la

calidad seminal en referencia al color es idónea como se aprecia en la figura 1.

Figura 1, Distribución del color seminal por individuos y razas ovinas evaluadas



(Lozano, 2009) menciona que si la motilidad progresiva presente en las muestras es mucho menor a 2,4 se la descarta, siendo improcedente para congelamiento. Así, la motilidad en las muestras procesadas es superior a este valor referencial y por tanto es procedente su criopreservación. En cuanto al aglutinamiento los índices estimados en las dos razas fueron adecuado y sin diferencia significativa, en relación con otros estudios consultados (Ramos, Rojas, & Martínez, 2017).

Al evaluar post descongelamiento, se observa que las muestras espermáticas obtenidas presenten las características de calidad necesarias para su uso en programas de reproducción asistida, con pajuelas de calidad aceptable (Saoirse, Matzke, & Tuni, 2021). Estos resultados se atribuyen al adecuado control de la temperatura en cada uno de los procesos de manipulación de laboratorio, ya que se tuvo la prevención de cambios bruscos ambientales sin la necesidad de descartar muestras (Brinsko, Rowan, Varner, & Blanchard, 2007), criterio que coincide con Delgado (2013) quien manifiesta que temperaturas estables del lugar de trabajo es indispensable, para evitar alteraciones y descarte de muestra.

4. CONCLUSIONES

En la amazonia ecuatoriana las razas de ovinos Blackbelly y pelibuey se desarrollan de una manera óptima, logrando mantener excelentes características fenotípicas y genotípicas, demostrando su calidad en la producción de carne dentro de la provincia de Pastaza. Así, se obtuvieron resultados favorables de calidad seminal sin diferencia significativa en las razas evaluadas, siendo una materia prima aceptable para su posterior criopreservación debido a sus características de calidad y las buenas prácticas de procesamiento.

El volumen y viabilidad de los espermatozoides post congelamiento obtenidos de las dos razas fue satisfactoria y sin diferencia significativa, lo cual orienta a manejar buenas prácticas de selección de padrotes y procesamiento de pajuelas en laboratorio para crear un plan de inseminación artificial enfocados a la mejora genética.

La criopreservación permitirá que los productores cárnicos de la Amazonía obtengan animales de calidad, agilizando el proceso de fecundación ya que se transporta el material genético sin la necesidad de trasladar al reproductor.

REFERENCIAS

Aisen. (2004). *Maduracion de ovinos* . Recuperado el Agosto de 2022, de https://www.researchgate.net/publication/335618539_Calidad_seminal_Ovino_document_15

Aisen, E. (2004). *inter medical* . Obtenido de https://medicinaveterinariajdc/docs/evaluaci__n_de_la_calidad_seminal_d

Arredondo, V. (Julio de 2013). *DSpace software.* Obtenido de https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/handle/i/3406

Arroyo, J. (2011). Estacionalidad reproductiva de la oveja en Mexico. *Tropical and subtropical agroecosystems, XIV*(3), 829-845. Recuperado el 13 de Julio de 2022

Barrantes, R. (2014). *Investigación, Un camino al conocimiento, Un Enfoque Cualitativo, Cuantitativo y Mixto.* San José, Costa Rica: EUNED. Recuperado el 03 de Agosto de 2022, de file:///C:/Users/UDS/AppData/Local/Temp/MicrosoftEdgeDownloads/8645ec3a-72f5-4e19-826a-baee8c131874/Libro_Investigacion_camino_conocimiento_Barrantes.pdf

Brinsko, S., Rowan, K., Varner, D., & Blanchard, T. (Mayo de 2007). Effects of transport container and ambient storage temperature on motion characteristics of equine spermatozoa. *Theriogenology*, 1641-1655. Recuperado el 8 de Julio de 2022, de https://doi.org/10.1016/S0093-691X(00)00304-6

Buffoni, A. (2013). Recuperado el 3 de 06 de 2022, de http://zaguan.unizar.es

Buffoni, A. (2013). Efecto de los implantes de melatonina sobre los rendimientos en la obtencion de embriones in vitro, la calidad seminal, la calidad y la catividad .

Carpio, M. (2008). Efecto de dos métodos de congelación sobre la viabilidad espermática de semen. Lima, Perú. Recuperado el 21 de Julio de 2022, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172008000100003

Chemineau. (1991). Obtenido de http//foodandagriculture,organization-oftheunited.com

Cueto, A., Macarena, M., Bruno, & Fernández. (8 de Septiembre de 2011). *Instituto*

Nacional de Tecnología Agropecuaria. Recuperado el 5 de Julio de 2022, de chrome-extension://efaidnbmnhttps://inta.gob.ar/sites/default/files/inta-manual_de_semen_ovino_2da_edicion.pdf

Delgado, V. (2013). *Core.* Obtenido de https://core.ac.uk/download/pdf/249982428.pdf

Evans, G., & Maxwell, W. (2009). *Salamon´s Artificial Insemination of Sheep and Goats.* Butterworth, United Kingdon.

Gibbons, A. (8 de Septiembre de 2011). *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.* Recuperado el 5 de Julio de 2022, de inta.gob.ar: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-manual_de_inseminacion_artificial_en_la_especie_.pdf

Gonzalez, K. (15 de Noviembre de 2017). *Zootecnia, Veterinaria y Producción Animal.* Recuperado el 27 de Mayo de 2022, de https://zoovetesmipasion.com/ovinos/razas-de-ovinos/ovinos-black-belly/#:~:text=Caracter%C3%ADsticas%20f%C3%ADsicas%20de%20los%20ovinos%20Black%20Belly.,-Es%20un%20animal&text=Alta%20rusticidad,Resistente%20a%20par%C3%A1sitos%20y%20enfermedades

Guillen, H. (2021). *Scielo.* Recuperado el 20 de Julio de 2022, de http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v28n3/a32v28n3.pdf

Hafez. (1987 de 1987). Reproduccion e inseminacion artificial en animales. Mexico: Ed. Interamericana .

Hafez, B. (2004). *UNPA.* Recuperado el 20 de Julio de 2022, de https://www.unpa.edu.mx/tesis_Tux/tesis_digitales/maestria_biotecnologia/MB26-Rosal%C3%ADa_Hern%C3%A1ndez_Garc%C3%ADa.pdf

Hancock, L. (1952). *The morphology of bull spermatozoa* (Vol. 29).

Hidalgo, C. G. (2009). *Manual de practicas de reproduccion animal* (Primera ed.). (R. P. Porras, Ed.) Mexico DF, Mexico: FMVS. Recuperado el 8 de Julio de 2022, de chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://fmvz.unam.mx/fmvz/licenciatura/coepa/archivos/manuales_2013/Manual%20de%20Practicas%20de%20Reproduccion%20Animal.pdf

Instituto para el estudio de la esterilidad. (2020). *estudioesterilidad.com*. Recuperado el 28 de Mayo de 2022, de Copyright © 2020 IEE.

Jainudeen. (2002). Recuperado el 2 de Agosto de 2022, de https://medicinaveterinariajdc/docs/evaluaci__n_de_la_calidad_seminal_d

Lozano, H. (2009). *iracbiogen.* Recuperado el 20 de Julio de 2022, de

https://iracbiogen.com/wp-content/uploads/2021/06/Evaluacion-de-la-motilidad-del-semen-fresco-utilizando-dos-diluyentes-comerciales-en-diferentes-horas-de-extraccion-Maroto.pdf

Macias. (2003). Recuperado el Agosto de 2022, de medicinaveterinariajdc/docs/evaluaci__n_de_la_calidad_seminal_d

Martínez, C., Berruecos, J., & Espinoza, B. (2017). ORIGEN, HISTORIA Y SITUACIÓN ACTUAL DE LA OVEJA PELIBUEY EN MÉXICO. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 429-439. Recuperado el 27 de Mayo de 2022, de https://www.redalyc.org/pdf/939/93953814003.pdf

Moyano, J., Caicedo, W., Riofrio, A., & Lopez, J. (2017). *Simposio internacional sobre manejo sostenible de tierras y seguridad alimentaria* (Primera ed.). (R. Perez, H. Reyes, & C. Bravo, Edits.) Puyo. Recuperado el 8 de Julio de 2022, de chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.researchgate.net/profile/Reinaldo-Aleman/publication/324417706_Libro_Manejo_sostenible_de_tierras_y_seguridad_alimentaria/links/5accf9524585154f3f3f93c8/Libro-Manejo-sostenible-de-tierras-y-s

Pandora. (2008). Obtenido de http://www.posted/in/reproducci%C3%B3n/ovinos.htm

Portilla, L., Madero, J., & lopez, C. (Diciembre de 2006). Fundamentos de Criopreservacion. *Revista colombiana de obstetricia y ginecologia*, *LVII*(4), 291-300. doi:10.18597/rcog.468

Ramirez. (2011). *Importancia de ovinos.* Recuperado el 5 de Agosto de 2022, de https://core.ac.uk/download/pdf/249982428.pdf

Ramos, L., Rojas, A., & Martínez, Z. (2017). Efecto de dilutores y tiempos de equilibrio en la criopreservación de semen ovino. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, *IV*(2), 63-71. Recuperado el 14 de Julio de 2022, de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2409-16182017000200009&lang=es

Rowlands. (2000). Obtenido de https://core.ac.uk/download/pdf/249982428.pdf

Rowlands. (2000). *Revista zootecnia.* Obtenido de https://core.ac.uk/download/pdf/249982428.pdf

Saoirse, M., Matzke, M., & Tuni, C. (15 de Junio de 2021). *Internacional Journal of Andrology*. Recuperado el 17 de Julio de 2022, de https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2605.1996.tb00477.x

Trejo, A. (2007). Recuperado el Agosto de 2022, de http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_caprina/produccion_caprina/101-

TREJO-Minerales%20Cabritos.pdf

Trejo, G. (2001). *Variación Estacional de la Líbido y calidad del Semen en Cinco Razas ovinas en el Estado de México*. Recuperado el 20 de Julio de 2022, de http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4182/1/UTC-TC-000871.pdf

Valencia, J. (s,f). Obtenido de http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=95915507

Villena. (2002). Tecnico en ganaderia. 189-370.

ANEXOS

MARCO TEÓRICO

ANTECEDENTES

Las ovejas son de gran valor porque proporcionan varias materias primas de gran importancia económica, como carne, lana y leche. Además, existen otros derivados como el cebo que se utiliza para hacer jabón. (Rowlands, 2000) La ganadería ovina es de suma importancia ya que genera empleo y es un medio de vida para diversos grupos de población, especialmente en áreas donde el desarrollo de la agricultura y la ganadería ovina es algo limitado.

El objetivo fue evaluar la calidad espermática y morfopatológica de carneros blackbelly y pelibuey para su criopreservación. El método para la colecta de semen que se utilizo fue por medio de la vagina artificial es uno de los principales métodos para la colecta de semen en ovinos por su rapidez y limpieza, no estresa al animal y proporciona semen de alta calidad. Este dispositivo imita la vagina de una oveja y proporciona una estimulación térmica y mecánica adecuada para la erección del pene y una buena eyaculación. La calidad del semen se refleja en la frecuencia de recolección y la condición del animal.

MARCO CONCEPTUAL

Edad del ovino

Los ovinos en la pubertad presentan un notable incremento de secreción de testosterona demostrando también la conducta de apareamiento. El tamaño de sus testículos empieza a aumentar entre las 8 semanas de edad y con un peso corporal de 16 a 20kg, coincide con la aparición de espermatocitos, el desarrollo de túbulos seminíferos y una copula con espermatozoides viables (Jainudeen, 2002).

Los ovinos utilizados en la investigación tenian alrededor de 4 a 5 años.

Características morfológicas

Blackbelly tiene una cabeza es bien moldeada, orejas medianas y rectas, ojos grandes, dorso fuerte, extremidades resistentes, no presentan cuernos. Pelibuey es dolicocéfalo presenta una contextura corporal mediolíneo de acuerdo con su índice torácico. Los dos ovinos son animales que se adaptan a las condiciones ambientales de la amazonia ecuatoriana, demostrando una aptitud positiva de productividad (Arredondo, 2013).

Métodos de recolección de semen

El volumen ira variando de acuerdo con el método de recolección utilizado, la edad y estado del cordero influye mucho también la habilidad del recolector y la frecuencia con la que se colecta influirán en el volumen (Macias, 2003).

Vagina artificial

El semen puede ser colectado varias veces durante el día ya que el uso de la vagina artificial es un método rápido y simple, no es estresante para el macho y se obtendrá

buenos resultados, en rumiantes se debe tener un periodo de acostumbramiento esta variará de acuerdo con la edad del animal, la constancia y habilidad del colector (Aisen, 2004).

Colecta por vagina artificial

Esta vagina es una imitación a la vagina de una oveja proporciona un estímulo térmico y mecánico cuando exista erección del pene del macho que normalmente son necesarios para que exista una eyaculación.

Según Gibbons (2011), esta técnica es la que mejor favorece la colecta de semen, porque proporciona estimulación térmica y mecánica la cual brindará presión para obtener la eyaculación. Así, los carneros fueron asegurados; y, se procedió colocar la vagina frente al prepucio con el extremo abierto con un ángulo de 45° tomando como referencia el piso, manipulando al animal desde el lado derecho, con el fin de prepararlo para la monta ya que la eyaculación es muy rápida y debe ser de manera eficaz. Para evitar la contaminación del semen colectado se escogió un lugar limpio libre de polvo y de cualquier sustancia que altere su calidad.

La vagina artificial tendrá un tamaño en relación con la longitud del pene, el conducto interno tiene alrededor de 2 a 3cm, está siempre deberá estar limpia, estéril y seca. Después de cada uso se la debe lavar y enjuagar con agua destilada en el interior se debe desinfectar con alcohol al 70%, después para que el alcohol se evapore se colocara la mitad de agua con una temperatura entre los 46 y 48°C. Se tiene que evitar en todo momento que el agua ingrese en el tubo interno ay que es una causa probable que genere mortalidad en los espermatozoides (Chemineau, 1991).

Preparación de los machos

Varios machos pueden demostrar esterilidad transitoria esto se da por el estrés causado al animal, las altas temperaturas, cambios de dieta o ambiente, enfermedades y varios factores. Es por esto que se recomienda que los tratamientos, cortes de pesuña, desparasitación se lo haga entre 5 a 7 semanas antes del programa de colecta.

Las raciones con altas cantidades de proteínas podrán incrementar la producción de espermatozoides, pero si presentamos machos que no tengan las condiciones optimas es favorable mejorar la ración de comida entre 6 a 8 semanas antes de la colecta varios suplementos nutritivos se familiarizan con el ambiente eso tomándolo en cuenta como un punto de vista de la adaptación (Pandora, 2008).

Entrenamiento de los machos

Los carneros seleccionados, deberán ser entrenados para eyacular dentro de la vagina artificial. Este entrenamiento se aconseja hacerlo durante la estación reproductora pues el deseo sexual se manifiesta de una manera mas prolongada, una vez que nos machos ya se encuentren entrenados se los selecciona para as colectas que se harán a futuro Valencia Javier (s.f.).

El entrenamiento consiste en aumentar y desarrollar los reflejos del semental, dentro de

un recinto cerrado y con la presencia de una persona con el tiempo se llegaran a familiarizar con la conducta del animal.

Una vez que los carneros estan entrenados no es necesario la presencia de las hembras puesto que lo semenstales estas dispuestos a montar a cualquier hembra que se encuentre colocada en el aparato sujetador (Trejo A. , 2007)

Analisis del semen

(Hafez, 1987) menciona que un estudio ideal debe ser simple, completo, rápido y sobre todo objetivo pues debe estar relacionado de forma directa con la fertilidad. El semen se puede evaluar entorno a su funcionalidad espermática y pruebas convencionales.

(Villena, 2002) menciona que las pruebas de valoración se agrupan en tres tipos: macroscópicas en las que se observan el color, resistencia, viscosidad, olor. Microscópicas se observa motilidad, morfología y en las bioquímicas se mide el pH y se hacen pruebas metabólicas.

EL POTENCIAL OVINO EN LA AMAZONÍA ECUATORIANA

La distribución mundial actual de ovejas es: 28,5% en Asia, 18,2% en Oceanía, 16, % en África, 13,0% en la Unión Soviética, 12,1% en Europa, 9,7% en América del Sur y solo un 2% en América del Norte (Ramirez, 2011). En general, los ovinos se distribuyen en áreas de países con más carencias económicas, así, para el caso Ecuador, es un recurso que contribuye a la alimentación, generación de ingresos y alivio de la pobreza.

La Amazonía cuenta con la tierra, los recursos naturales y la mano de obra necesarios para desarrollar una ganadería productiva relacionada con las razas ovinas. Tales industrias pueden ser un factor importante en el desarrollo económico. Las necesidades de la industria textil nacional, los bajos niveles nutricionales de la población ecuatoriana a partir de productos proteicos de origen animal, y el análisis de estos aspectos, dictarán políticas encaminadas a incrementar la producción de estos productos como la lana, la carne y contribuir a la mejora de la industria para aumentar la nutrición (Aisen, 2004).

DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

Morfopatologías: Es el estudio causado por los cambios de un padecimiento o defectos genéticos.

Criopreservación: Proceso utilizado para congelar semen, embriones, óvulos para usarlos en un futuro.

Calidad seminal: Es la calidad y cantidad de espermatozoides que se encuentran en cada muestra.

Vagina artificial: Método de colecta de semen que imita a una vagina de ovinos, caprinos, etc.

Aglutinamiento: Unión o concentración de espermatozoides que se mueven entre sí.

Motilidad masal: Es la formación y desplazamiento de los espermatozoides y se la observa solo en concentraciones alta de esperma.