

RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN.....	4

## CAPITULO I

PARTE TEORICA.....	6
1.1. Manejo reproductivo del verraco .....	6
1.1.1. Consideraciones generales .....	¡Error! Marcador no definido.
1.1.2. Ciclo sexual de verraco.....	6
1.1.3. Producción espermática .....	6
1.1.3.1. Espermatozoides, semen y plasma seminal .....	9
1.1.3.2. Eyaculado y sus fracciones.....	11
1.1.4. Colecta de semen.....	11
1.1.4.1. Entrenamiento del semental .....	12
1.1.5. Evaluación de la calidad seminal .....	14
1.1.5.1. Control macroscópico .....	14
1.1.5.2. Control microscópico .....	166
1.1.5.3. Prueba de hipoosmósis HOST.....	19
1.1.5.4. Test de resistencia osmótica (ORT).....	22
1.1.5.5. Test de termoresistencia TTR.....	23
1.2. Ciclo sexual de la cerda .....	23
1.2.1. Fases del ciclo estral .....	24
1.2.1.1. Proestro.....	25
1.2.1.2. Estro.....	25
1.2.1.3. Metaestro .....	25
1.2.1.4. Diestro.....	25
1.3. Dilución y conservación del semen.....	26
1.3.1 Diluyente .....	26
1.3.1.1 Requisitos que debe cumplir un diluyente.....	27
1.3.2 Dilución del semen .....	31
1.3.2.1 Calculo de dosis .....	32
1.3.3 Conservación del semen diluido .....	344
1.3.3.1 Factores que influyen directamente en la conservación del esperma .....	355
1.4. Inseminación artificial .....	36
1.4.1 Detección de estro.....	37
1.4.2 Técnica de inseminación artificial .....	38
1.4.3 Ventajas y desventajas.....	400
1.4.3.1. Ventajas .....	400
1.4.3.2. Desventajas.....	411

## CAPITULO II

PARTE EXPERIMENTAL .....	42
2.1. Materiales y metodos .....	42
2.1.1. Materiales .....	42
2.1.1.1. Localización.....	42
2.1.1.2. Implementos y sustancias químicas utilizadas en la elaboración, análisis físico y bacteriológico de los diluyentes .....	42
2.1.1.3. Animales .....	44
2.1.1.4. Implementos utilizados en la recolección del semen .....	44
2.1.1.5. Implementos utilizados en la preparación del diluyente .....	44
2.1.1.6. Implementos y sustancias químicas utilizados en el análisis macro y microscópico del semen .....	44
2.1.1.7. Implementos y sustancias químicas utilizados en la prueba de endosmosis, resistencia osmótica y termoresistencia .....	45
2.1.1.8. Implementos utilizados en la conservación del semen diluido .....	45

2.1.1.9. Materiales de limpieza.....	46
2.1.1.10. Hojas de registro. ....	46
2.1.2. Metodos.....	46
2.1.2.1. Elaboración, análisis físico y bacteriológico del diluyente .....	46
2.1.2.2. Preparación del diluyente .....	54
2.1.2.3. Preparación de la solución hipoosmótica.....	54
2.1.2.4. Preparación de la solución isosmótica.....	55
2.1.2.5. Obtención de la muestra seminal .....	55
2.1.2.6. Evaluación de la calidad del semen fresco .....	55
2.1.2.7. Dilución del semen .....	60
2.1.2.8. Evaluación de la calidad del semen 1, 3, 5 ,7 y 9 días postdilución .....	60
2.1.2.9. Método de calificación de los diluyentes.....	62
CAPITULO III	
ESTUDIO DE FACTIBILIDAD ECONOMICA .....	63
3.1. Requerimientos de producción.....	63
3.1.1. Descripción de la maquinaria y equipo .....	63
3.1.2. Edificios e infraestructura .....	64
3.1.3. Estudio de las materia primas e insumos .....	64
3.1.4. Requerimientos de recurso humano.....	65
3.1.5. Carga fabril.....	66
3.2. Costos de acopio y procesamiento .....	67
3.2.1. Presupuesto de inversión .....	67
3.2.2. Costos de operación .....	71
3.2.3. Costos de distribución .....	73
3.3. Ingresos y utilidades .....	74
3.3.1. Proyección de ventas .....	74
3.3.2. Proyección de egresos.....	75
3.3.3. Estructura de financiamiento .....	76
3.4. Análisis financiero .....	77
3.4.1. Estado de perdidas y ganancias.....	78
3.4.2. Flujo de caja.....	79
3.4.3. Índices financieros.....	79
3.4.4. Análisis de sensibilidad .....	84
CAPITULO IV	
RESULTADOS Y DISCUSION .....	86
CAPITULO V	
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	100
BIBLIOGRAFIA.....	102
ANEXOS.....	107

## RESUMEN

La inseminación artificial es uno de los factores más importantes subyacentes a la gran expansión de la porcicultura que se ha producido en los últimos años. La utilización masiva de la inseminación artificial en las granjas de cerdo es consecuencia del desarrollo de técnicas eficaces para conservar el semen de cerdo durante un tiempo lo bastante largo como para hacer esta técnica práctica desde el punto de vista económico.

El objetivo del presente trabajo fue elaborar varios diluyentes de semen de cerdo de larga duración que permitan mantener la viabilidad y fertilidad del semen diluido y conservado en refrigeración a 15 – 17 ° C y probar su efectividad a los 3, 5, 7 y 9 días.

Se realizó variaciones en la formulación de 3 diluyentes comerciales de diferentes tiempos de duración: BTS (2 días), MERCK III (3 días) y Androhep (7 días), modificando en su composición sustancias tamponadoras, antibiótico y proteína animal, controlando su densidad relativa y absoluta, pH, presión osmótica y carga bacteriana de cada uno de los experimentos.

Se utilizó semen de un reproductor seleccionado Landrace canadiense de 1 año y medio de edad. El semen fue recolectado mediante el método de la mano enguantada, evaluado, calificado y diluido para su posterior valoración.

Se evaluó la calidad espermática del semen diluido en 6 diluyentes (Experimentos 1.1, 1.2, 2.1, 2.2, 3.1, y 3.2) y conservado a 15 – 17 ° C hasta los 9 días. Aunque la calidad espermática mostró una tendencia similar en el grupo 1 (día 2), grupo 2 (día 4) y grupo 3 (día 7), está fue mejor es los experimentos que contenían proteína animal.

## INTRODUCCIÓN

En la industria del cerdo, la inseminación artificial con semen refrigerado se ha venido utilizando con bastante éxito en esta especie desde hace unos 20 años.

La gran extensión de la inseminación artificial en las explotaciones porcinas ha llevado a la puesta en el mercado de un gran número de diluyentes diseñados para su uso de forma rutinaria en la dilución y conservación de semen refrigerado a 15 – 18 ° C. (MEDRANO, 2005). Todos estos diluyentes están diseñados para lograr mantener la capacidad fertilizante de los espermatozoides durante varios días, siendo una de las cuestiones más importantes que tiene que solventar el hecho de permitir a los espermatozoides conservados una óptima utilización de los nutrientes presentes en su composición. Teniendo en cuenta que los diluyentes de semen de cerdo en refrigeración han sido subdivididos en dos grupos, basados en la longitud de tiempo que son capaces de preservar el semen en estado líquido sin apreciable pérdida de su fertilidad. Estos grupos reciben el nombre de diluyentes de corta y larga duración. En estos últimos, además de conservarse durante mayor periodo de tiempo, se encuentran nutrientes para la obtención de energía y la protección a largo plazo de la célula frente al choque por frío, y además, mediante una solución tamponada, son capaces de controlar los efectos dañinos de las fluctuaciones de pH, así como el mantenimiento de un apropiado balance osmótico. (GADEA et al., 2004). Por lo tanto, el control de todos estos aspectos es fundamental para la optimización del diseño de estos diluyentes.

En la actualidad, uno de los principales objetivos en espermatología es el desarrollo de nuevos métodos que permitan destacar con precisión las alteraciones características en los espermatozoides, y que también sean capaces de predecir o evidenciar una reducción en la fertilidad (DEL ÁLAMO, 2003). Los métodos clásicos para la evaluación de semen se basan en la aplicación conjunta de varias pruebas para garantizar el control de calidad en dosis seminales que se comercializan posteriormente. La evaluación de la motilidad es la prueba más utilizada, porque además de ser rápida, simple y económica, es capaz de indicar

el estado de las membranas y su funcionalidad. Además, también resulta patente el hecho obvio que la motilidad espermática es un elemento indispensable para que ocurra la fecundación natural. (MEDRANO, 2005). Por otra parte, en el estudio de la calidad seminal porcina no hay que olvidar que uno de los prerequisites fundamentales para el adecuado metabolismo y funcionamiento de los espermatozoides es que su membrana plasmática se encuentre intacta. Entre los diferentes métodos utilizados para la evaluación de la integridad de esta membrana se incluye la realización de diferentes tinciones, entre las cuales se encuentra la eosina-nigrosina (MUÑOZ y PAUCAR, 2005), la información sobre la estructura de la célula que proveen estas tinciones está relacionada de manera laxa, aunque importante con la fertilidad. (CAMACHO, 2000).

# **CAPITULO I**

## **PARTE TEORICA**

### **1.1. MANEJO REPRODUCTIVO DEL VERRACO**

#### **1.1.1. CICLO SEXUAL DE VERRACO**

La pubertad señala el momento en la vida de un animal, en el que se alcanza la capacidad reproductiva. El macho llega a la pubertad cuando empieza a producir andrógenos y espermatozoides, y sus órganos reproductivos han madurado de tal suerte que el pene esta libre de su vaina y permite la cópula con la hembra para preñarla. (SORENSEN, 1991)

Los verracos alcanzan la pubertad más o menos a los 125 días de edad. (HAFEZ, 1993)

Las primeras eyaculaciones ocurren entre los 5 a 8 meses de edad. El número de espermatozoides y el volumen de semen continúa aumentando durante los primeros 18 meses de vida. (ANDERSON, 1999)

En el momento de alcanzar la pubertad la fertilidad del verraco es baja pero aumenta considerablemente en los meses siguientes, el máximo de fertilidad parece alcanzarse a los 2,5 años de edad, aunque la fertilidad del verraco al año de edad es suficiente para permitir cruzamientos regulares. (CAMACHO, 2000)

#### **1.1.2. PRODUCCIÓN ESPERMÁTICA**

El esperma es el resultante en el momento de la eyaculación de una mezcla de espermatozoides, provenientes del epidídimo, con el plasma seminal.

La palabra esperma es sinónimo de eyaculado y, en tal caso el eyaculado es una suspensión celular semigelatinosa resultante de la mezcla de la secreción testicular con las secreciones correspondientes a las glándulas paragenitales o anexas al aparato genital masculino en el momento de la eyaculación.

El eyaculado del verraco se caracteriza por su volumen, alta proporción de material gelatinoso y prolongado período de eyaculación, siendo heterogéneo, tanto por la composición del plasma como por su contenido en las células espermáticas.

La cantidad total de espermatozoides en el eyaculado del verraco es de 15.000 – 50.000 millones. (RIVERA, 1997)

#### *1.1.2.1. Espermatozoides, semen y plasma seminal*

El mecanismo encargado de la formación, almacenamiento y posterior expulsión de los espermatozoides se denomina espermatogénesis. Es la suma de las divisiones mitóticas y meióticas de células espermáticas precursoras que ocurren dentro del túbulo seminífero del parénquima testicular. (MUÑOZ y PAUCAR, 2005)

Los espermatozoides (gametos masculinos) se forman en los testículos a partir de las células germinativas primitivas, las espermatogonias a partir de los períodos de multiplicación, crecimiento y maduración; el período de multiplicación se inicia ya durante el desarrollo embrionario, no teniendo lugar la maduración espermática hasta que el macho no alcanza la pubertad. (PEREZ M, 1991)

El período de espermatogénesis dura 34 días y una vez formado el espermatozoide y liberado en el túbulo seminífero, inicia el recorrido del epidídimo, proceso que le toma aproximadamente otros 10 días y durante el cual sufre una serie de cambios en su maduración que le confieren su capacidad fecundante. (MARTINEZ, 2006)

Los espermatozoides maduros son células alargadas que constan de una cabeza aplanada portadora del núcleo y una cola que contiene el aparato necesario para la motilidad celular. La célula espermática está cubierta en su totalidad por el plasmalema o membrana plasmática. El acrosoma o casquete acrosómico, es una estructura de doble pared situada en la porción anterior del núcleo, en su interior se hallan almacenadas diversas enzimas hidrolíticas, y proteínas cruciales para la interacción con el ovocito durante la fecundación. Un cuello que presenta el centrosoma y las mitocondrias, une la cabeza con la cola, la cual a su vez se subdivide en tres segmentos: media, principal y caudal o terminal, que miden de 40 – 50 micrones de largo, constituye la parte más frágil del espermatozoide, como se puede ver en la Figura 1.1. (HAFEZ, 1993)

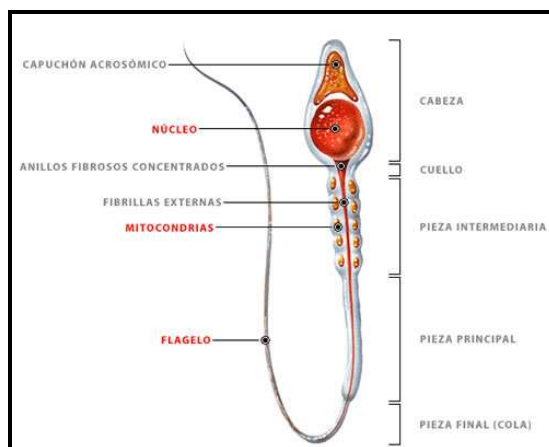


Figura 1.1. Partes de un espermatozoide

Fuente: CMA, 2006

El espermatozoide, para poder ser fecundante tiene que: 1) poseer una óptima movilidad que le permita penetrar el canal cervical, 2) ascender a las partes altas del tracto reproductivo femenino, 3) sufrir la capacitación y la reacción acrosómica, 4) atravesar la zona pelúcida del ovocito y 5) sufrir la recondensación nuclear. (RAGUE, 1999)

Los espermatozoides junto con las secreciones de las vesículas seminales, próstata y glándulas bulbouretrales constituyen el semen. La porción líquida de dicha suspensión que se forma durante la eyaculación se llama plasma seminal. (HAFEZ, 1993)



El semen puro inalterado normalmente aparece como un fluido ligeramente amarillento blanquecino, lechoso con aspecto cremoso cuya consistencia depende del número de espermatozoides, células degeneradas, gránulos lipóideos, corpúsculos hialinos y concreciones. (HERMANN, 1994)

Las propiedades físicas del semen incluyen, color, volumen, densidad, concentración, viscosidad, pH, presión osmótica, conductividad eléctrica, capacidad de tamponamiento.

El plasma seminal es para los espermatozoides una fuente de metabolitos y un vehículo. Su origen, su composición, sus características y el control de su producción son complejas y reflejan la actividad de las glándulas anexas. (RIVERA, 1997)

El plasma seminal es esencial en la mayor parte de los procesos de apareamiento por que sirve de transportador y protector de espermatozoides; contiene concentraciones altas de ácido cítrico, ergotioneína, fructosa, glicerilfosforil colina y sorbitol, también están presentes cantidades apreciables de ácido ascórbico, aminoácidos, péptidos, proteínas, lípidos, ácidos, grasas y numerosas enzimas. (HAFEZ, 1993)

El plasma seminal de los animales de eyaculación de tipo uterino (porcinos y equinos) se caracteriza por un elevado contenido electrolítico, escasa capacidad tampón, gran riqueza en azúcares y elevada dotación enzimática circunstancias que justifican el comportamiento de dicho material en cuando a su capacidad fecundante, tiempo de conservación in vitro, posibilidades de dilución. (CAMACHO, 2000)

#### *1.1.2.2. Eyaculado y sus fracciones*

La emisión consiste en la liberación de los espermatozoides y de los líquidos de las glándulas accesorias hacia el interior de la uretra pélvica. (CUNNINGHAM, 1997)

La eyaculación en todas las especies constituye la expulsión forzada de semen, el cual está dado por un reflejo por el que se contraen y vacían el epidídimo, la uretra y las glándulas sexuales accesorias del macho. (MORENO, 2000)

Los verracos expulsan grandes cantidades de espermatozoides en cada eyaculado y agotan con mayor rapidez sus reservas epididimarias. El volumen total de esperma emitido es de 250 ml aproximadamente y está compuesto de 3 fracciones. (HAFEZ, 1993)

- Preespermática

Constituida por las secreciones de la próstata, vesículas seminales y algunos grumos procedentes de las glándulas de Cowper. Estos grumos de textura gelatinosa, reciben comúnmente el nombre de "tapioca", y cumplen la función de tapón del cuello uterino impidiendo el retroceso. Esta fracción es prácticamente transparente sin espermatozoides y con un volumen de 10 – 35 ml. (RILLO, 1994)

- Espermática o rica en espermatozoides

Constituida por espermatozoides y secreciones de las vesículas seminales y de la próstata. Contiene gran concentración de espermatozoides.

Tiene un color blanquecino-lechoso y su volumen oscila entre 50 - 150 ml. El volumen es variable dependiendo de los factores que influyan en la producción espermática (raza, edad, nutrición, ritmo, método de recogida, etc.). (CASTELLANOS, 1992)

La concentración espermática de esta fracción es de  $5 \cdot 10^6$  a  $13 \cdot 10^6$  espermatozoides/mm<sup>3</sup>. (RIVERA, 1997)

- Postespermática o pobre en espermatozoides

Constituida principalmente de secreciones de la próstata y glándulas de Cowper, pobre en espermatozoides, de color blanquecino transparente, con grumos gelatinosos a lo largo de su emisión, con volumen aproximado de 200 mm<sup>3</sup>. (RIVERA, 1997)

La eyaculación se completa en 5 – 10 minutos, con una media de 8 minutos. Un verraco da en 6 minutos cerca de 300 ml de esperma conteniendo  $95 \cdot 10^9$  espermatozoides. (RIVERA, 1997)

### **1.1.3. COLECTA DE SEMEN**

La recolección del esperma constituye una premisa fundamental en la metodología de la inseminación artificial. (PEREZ y PEREZ, 1990)

Para ello se requiere programar a los machos a intervalos óptimos, prepararlos sexualmente y aplicar técnicas correctas. (HAFEZ, 1993)

El principal requisito durante la eyaculación del verraco es la presión que ejerce el cuello uterino de la cerda sobre la zona espiral del pene. Esto puede ser fácilmente simulado por presión manual del pene en prostitución. (CAMACHO, 2000)

Se han empleado algunos métodos artificiales para recoger el eyaculado completo y el método de recogida puede afectar el volumen y concentración del esperma.

La extracción del semen se debe realizar manualmente en un potro fijo en la sala de recolección, ya que es más higiénico y el animal no corre riesgo de caídas o lesiones con potros inestables. También se ha probado la electroeyaculación aunque no resulta práctica y la vagina artificial. El método manual tiene la ventaja de evitar las reacciones de inhibición de los verracos, así como la producción de

eyaculados incompletos por variaciones de temperatura u otros estímulos inhibitorios ocasionados por la vagina artificial. (RILLO, 1994)

Después de haber montado el maniquí, se debe realizar el vaciado de la bolsa prepucial, permitiendo que empuje tres o cuatro veces para sacar el pene del prepucio y buscar la vulva de la marrana.

El eyaculado se recogerá directamente en un vaso de precipitación u otros recipientes desechables situados dentro de un termo para mantener la temperatura cerca a los 37° C a la vez sobre el vaso se colocará una gasa para que durante la recolección se impida la mezcla de la fracción espermática del eyaculado con el gel o tapioca, actuando como filtro. (KUBUS, 1993)

El espermatozoide colectado se debe proteger del aire, calor, frío, luz, agua o agentes químicos que funcionan como espermatocidas. (MORENO, 2000)

El ritmo de recogidas debe ajustarse a los márgenes de 3 a 7 días siendo adecuadas colectas cada 3 a 4 días en verracos adultos y 1 vez por semana en reproductores jóvenes de menos de 1 año de edad. (CAMACHO, 2000)

El propósito de la recolección consiste en evaluar la libido y evaluar la capacidad de copular y eyacular, además proporciona una muestra del eyaculado. (MERCK, 1993)

#### *1.1.3.1. Entrenamiento del semental*

Los verracos pueden ser entrenados con cierta facilidad a que monten a un maniquí de cerda y ellos eyacularán fácilmente sin utilizar las sofisticadas vaginas artificiales. (HUGHES y VARLEY, 1984)

Se aconseja empezar el entrenamiento de los verracos a los 5 a 6 meses de edad, 2 a 3 veces por semana y durante 15 minutos. (CAICEDO y PEREZ, 1992)

Las reacciones de los verracos ante el potro son análogas a las que manifiestan frente a las hembras, como son olfateos y golpes de hocico que preceden el salto, por ello es necesario no sólo consentir estas reacciones sino estimularlas cuando el animal se mantiene distraído. (RIVERA, 1997)

El entrenamiento consiste en hacer saltar al verraco sobre un potro para poder hacer la extracción del semen. Para realizar el entrenamiento el potro ha de ser fácil de transportar, ligeramente más bajo que la altura de los ojos del verraco por lo que debe tener medidas aproximadas de una cerda primeriza, debiendo ser lo suficiente cómodo para que el verraco no sufra daño y mantenga la estabilidad durante el procedimiento. El potro debe estar impregnado de olores que estimulen la libido del animal, rociando para ello con orina de cerda en celo o semen de otro verraco. (KUBUS, 1993)

Se debe entonces acercarse sin ruido al verraco desde atrás sin espantarlo, acercársele del mismo lado que la mano que se utiliza para la recolección, se coloca la mano enguantada contra el abdomen ventral del verraco permitiendo que el pene empuje dentro de la mano, se aplica presión digital apretando con los dedos índice y pulgar entre la primera y segunda ranura del pene, teniendo cuidado de no cerrar toda la mano demasiado ajustada sobre el pene ya que ocasionará que el verraco desmonte debido al dolor. (MERCK, 1993)

Nunca se debe aflojar la presión en el pene hasta que la eyaculación haya terminado. (CAICEDO y PEREZ, 1992)

Es necesario establecer un ritmo de recogida que permita recuperar las reservas espermáticas del epidídimo. (RILLO, 1994)

De los verracos jóvenes pueden recogerse eyaculados 1 ó 2 veces a la semana, aunque sin sobrepasar 6 obtenciones por mes. Los verracos con más de un año de edad pueden incluirse ya en el ritmo normal de obtenciones de espermatozoos, que se pasa de las 2 recolecciones por semana y un máximo de 3 eyaculados al mes. (CASTELLANOS, 1992)

Dentro del proceso de entrenamiento se deben tomar en cuenta algunos aspectos como los siguientes:

- El “potro” debe ser de altura adecuada, con un poco de movimiento, para llamar la atención del cerdo.
- Una vez que el cerdo ha intentado subirse, es importante no interrumpir el entrenamiento.
- Colocar al macho en un corral adyacente al del “potro” y permitir que observe la colección en un verraco ya entrenado, esto lo estimulará, y empezará a reconocer el área una vez terminada la práctica citada.
- Durante las primeras colecciones, debe tenerse especial cuidado para no causar daño en el pene, por ejemplo, algún roce con el “potro” o demasiada presión, también debe evitarse interrumpir la colección.(MARTINEZ, 2006)

#### **1.1.4. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD SEMINAL**

El objetivo óptimo de las pruebas de calidad consiste en predecir adecuadamente la fertilidad del semen mediante el empleo de técnicas rápidas y baratas. (COLE & CUPPS, 1998)

La evaluación del semen tiene gran importancia para diagnosticar si los espermatozoides cuali y cuantitativamente, están con total capacidad fecundante o por el contrario no lo debemos utilizar. (RILLO, 1994)

##### *1.1.4.1. Control macroscópico*

Las muestras de semen se estudian en cuanto a sus características físicas: volumen, color, olor, pH y viscosidad.

- Volumen

El volumen varía según la edad, tamaño testicular, raza y el estado fisiológico de cada verraco, entre 50 a 150 ml de fracción espermática y un eyaculado de 250 ml, aproximadamente. (CALDERON, 1998)

El volumen normal para verracos jóvenes de 8 a 12 meses es de 100 a 300 ml; para los mayores de 12 meses de 100 a 500 ml. (MERCK, 1993)

- Color

Varia de un blanco cremoso a un blanco lechoso, pero en todo caso su apariencia a de ser opaca, lo que indica una gran concentración de espermatozoides. (RIVERA, 1997)

- Olor

El olor del semen del verraco es sui generis y se caracteriza por estar afectado ligeramente por las feromonas del aparato genital.

El semen tiene su propio olor en el caso de estar contaminado por orina o secreciones prepuciales adquiere un olor muy fuerte característico. (CAMACHO, 2000)

- pH

El pH del eyaculado de un verraco depende de la proporción de constituyente aportado de las glándulas anexas. Puede variar su valor por manipulación, tiempo, contaminación bacteriológica, concentración, etc. Debe medirse inmediatamente obtenido el semen. (CAICEDO y PEREZ, 1992)

Para un eyaculado recién obtenido se admiten valores de 6.4 a 7.4. (CAMACHO, 2000)

- Viscosidad

La viscosidad del esperma del verraco varía dependiendo de las glándulas genitales de donde procede la secreción y de si estas poseen contenido en espermatozoides.

Dentro de la fracción no gelatinosa, la viscosidad es proporcional a la concentración en espermatozoides. (RIVERA, 1997)

*1.1.4.2. Control microscópico*

- Motilidad

Es la valoración cuantitativa del movimiento de los espermatozoides.

La observación de la motilidad deberá realizarse inmediatamente después de la recogida ya que los espermatozoides de ésta pierden rápidamente el movimiento al disminuir la temperatura, aunque sólo de forma transitoria, presentando acinesis.

El observar las muestras por el microscopio para establecer la motilidad y ritmo de este, proporciona una medida efectiva del nivel de fertilidad de la muestra en particular. (RIVERA, 1997)

• Motilidad en masa

Luego de la recolección, se coloca en un porta objetos una gota de semen y se observa la microscopio con el lente de menor aumento, a temperatura de 25 a 35 ° C, para lo cual hay que trabajar en platina calentable, sin utilizar cubre objetos.



La motilidad en masa indica la concentración y viabilidad de las células espermáticas. (CAICEDO y PEREZ, 1992)

Debe evaluarse en términos del “movimiento de ondas” fenómeno que se debe a la concentración y alta proporción de espermatozoos en movimiento activo.

Los remolinos formados en la gota crean movimientos sincrónicos de grupos de células, lo que resulta en bandas claras, oscuras y crea más remolinos.

La actividad del movimiento ondulatorio puede dividirse en 4 categorías:

- 1.- Muy bueno: torbellino intenso con ondas oscuras y claras
- 2.- Bueno: ondas en torbellino más lentas, no tan intensas
- 3.- Regular: movimiento lento con menos ondas
- 4.- Malo: muy poca actividad en torbellino o ninguna. (MERCK, 1993)

- Motilidad individual

Para observar el movimiento individual de las células se mezcla una gota de semen con un pequeño volumen de una solución salina fisiológica y se observa al microscopio bajo un cubre objetos, con lente de gran aumento (40 X). (PEREZ y PEREZ, 1990)

El movimiento individual se observa rectilíneo y progresivo además del porcentaje de espermatozoides que se mueven. Se requiere como mínimo para un eyaculado un movimiento progresivo de 70 %. (JARA, 2000)

Se calcula como porcentaje y se puede clasificar como muy buena: 80%; buena: 60-80%; regular: 40-60%; pobre: 20-40% y muy pobre: menos de 20%. El movimiento ondulatorio puede disminuir debido a una disminución de la concentración y/o de la motilidad. (MERCK, 1993)

- Concentración

El cálculo de la concentración del eyaculado debe hacerse de forma precisa, especialmente para preparar dosis de inseminación con la máxima fertilidad posible y el mínimo número de espermatozoides necesario. (BOIXO, 1994)

El cálculo del número de espermatozoides por unidad de volumen es el más importante criterio para la evaluación potencial de un macho. La concentración es determinada usando un hematocitómetro o cámara de Neubauer después de una apropiada dilución. (RIVERA, 1997)

En la actualidad el número de células espermáticas se determina por medio de un espermiodensímetro o cámara de Karras. La medida está basada en la turbiedad de una suspensión de semen en las diferentes concentraciones leídas en la cámara del densímetro. (MINITUBE, 2006)

La cifra media de concentración del eyaculado completo del verraco es de 300.000 espermatozoides por  $\text{mm}^3$ . (CAMACHO, 2000)

Un aspecto importante a considerar durante el proceso de conservación lo constituye la concentración. La concentración entre 3000 y  $7000 \times 10^6$  de espermatozoides / dosis de 100 ml de semen diluido resultan favorables. (GARCIA, 1994)

- Valoración vital

Se usa una solución de eosina al 5% en solución salina y nigrosina al 10% en solución salina. Se mezcla en un portaobjetos templado una gota de semen con dos gotas de solución de eosina-nigrosina y se hace una extensión sobre el portaobjetos retirando el colorante sobrante. Normalmente el semen tiene una media de 25 % de espermatozoides muertos. (GARCIA, 2000)

Los espermatozoides vivos y muertos pueden diferenciarse por su forma de reaccionar a determinados colorantes; los espermatozoides inmóviles, aparentemente muertos se tiñen por el colorante debido a que su membrana plasmática se hace permeable a este, mientras que los móviles no presentan tinción ya que membrana plasmática actuará a modo de barrera impidiendo el paso del colorante. (CAICEDO y PEREZ, 1992)

Las coloraciones vitales de tripán azul al 2% y de eosina-nigrosina al 5% son las más usadas. (RIVERA, 1997)

#### - Morfoanomalías

El estudio de la forma del esperma se lo realiza midiendo el porcentaje del esperma normal y anormal. (MUNOZ y PAUCAR, 2005)

Atendiendo a su origen, existen dos grandes grupos de malformaciones espermáticas, las primarias, si se desarrollan en el testículo, y las secundarias, si su génesis se da en el epidídimo. (GARCIA, 2000)

La fertilidad reducida ocurre generalmente cuando los números de defectos son mayores de 18 al 20 %. Las anomalías primarias no deben superar el 5 % y son determinantes de baja fertilidad. Los defectos secundarios no están generalmente considerados como serios y no afectan la fertilidad a menos que un número grande, este presente, mayor del 15 %. (MUNOZ y PAUCAR, 2005)

El aumento de anomalías de los espermatozoides se acompaña de una disminución de los índices de concepción. La morfología refleja el estado funcional de los testículos y en cierto grado de los vasos excretores. (RIVERA, 1997)

#### *1.1.4.3. Prueba de hipoosmósis HOST*

Es una prueba para la evaluación de la integridad y funcionalidad de la membrana plasmática del espermatozoide, asociada a su capacidad de penetración al óvulo.

Este ensayo permite medir la habilidad de la membrana del espermatozoide para transportar fluidos y constituye una herramienta adicional al análisis de semen. (MUÑOZ y PAUCAR, 2005)

Este test mide la integridad funcional de la membrana espermática basado, en la incubación del espermatozoide en un medio hipoosmótico, si la membrana está intacta, el agua entrará en la célula para alcanzar el equilibrio osmótico. El influjo de agua causa el hinchamiento del espermatozoide, y proporciona a la membrana plasmática la suficiente elasticidad como para acomodarse a este influjo, habrá un repentino incremento del volumen intracelular, manifestando un enrollamiento del flagelo, como se puede observar en la Figura 1.2. (RAGUE, 1999)

La capacidad de enroscamiento de la cola del espermatozoide es un seguro de que el transporte a través de la membrana es normal siendo un indicador tanto de la integridad como de la funcionalidad de la membrana. (CAMACHO, 2000)

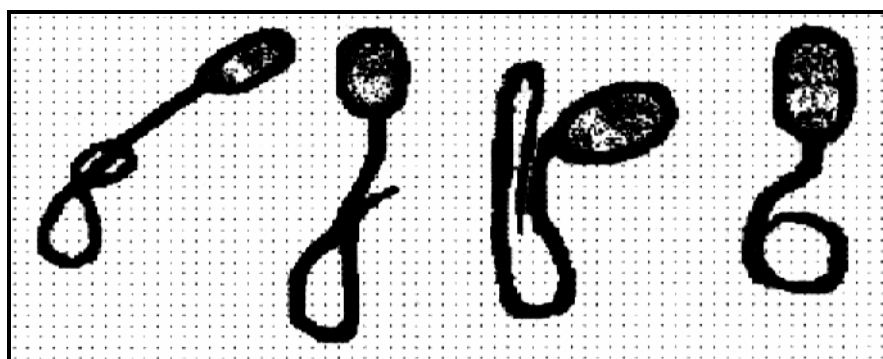


Figura 1.2. Diferentes formas de endosmosis

Fuente: CAMACHO, 2000

Las muestras son evaluadas bajo microscopio de contraste de fases con el lente de mayor aumento, clasificándose los espermatozoides en función del grado de reacción en la cola, como se observa en la Tabla 1.1 y Figura 1.3. (CAMACHO, 2000)

Tabla 1.1  
Clasificación en función al grado de reacción en la cola

Reacción 1	Espermatozoides sin reacción o negativos
Reacción 2	Espermatozoides con reacción en la porción final de la cola
Reacción 3	Espermatozoides con colas en forma de látigo
Reacción 4	Espermatozoides con colas en forma de ovillo

Fuente: CAMACHO, 2000

Elaborado por: El autor

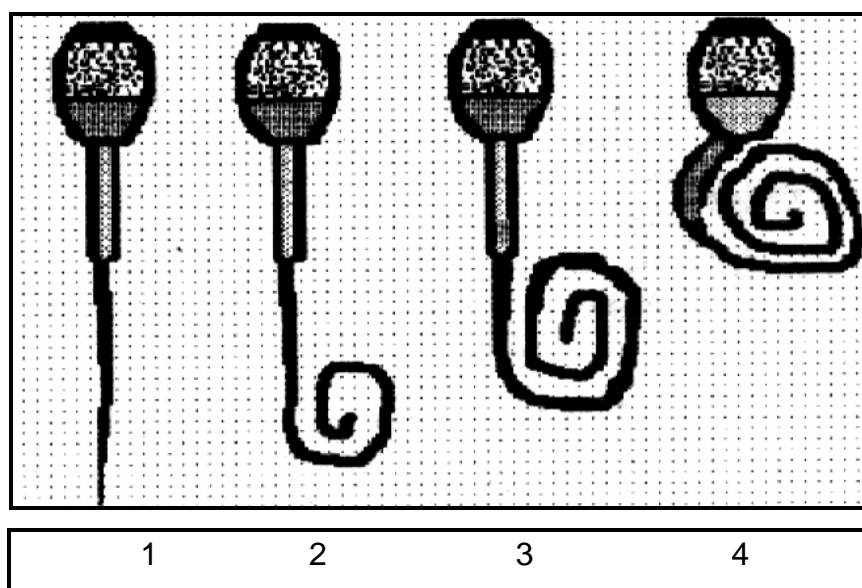


Figura 1.3. Grados de reacción endosmótica

Fuente: CAMACHO, 2000

En condiciones fisiológicas la fecundación no ocurre si la membrana plasmática del espermatozoide es bioquímicamente inactiva, aún cuando permanezca estructuralmente intacta, por lo tanto la prueba hipoosmótica es un indicar más preciso que las coloraciones supravitales.

Se realiza a través de una mezcla de 100 ml de semen fresco con 1 ml de solución hipoosmótica. Se incuba a 37 ° C por 30 minutos en una solución hipoosmótica. Se realizan frotis en láminas de microscopía, permitiendo que se sequen al ambiente siempre protegidos de la luz. Luego son fijados por 30 segundos en metanol, manteniendo a 20 ° C y se dejan secar nuevamente. Se realizan observaciones seriadas (30 minutos, una y dos horas), se fija la muestra

determinándose el porcentaje de espermatozoides vivos los cuales reaccionan al shock osmótico enrollando la cola, a mayor porcentaje de estos, mayor será la calidad de la muestra.

Se consideran valores normales un 62% de espermatozoides hinchados, valores inferiores al 60 % se consideran patológicos. (MUÑOZ y PAUCAR, 2005)

#### *1.1.4.4. Test de resistencia osmótica (ORT)*

La frecuencia de espermatozoides criopreservados con membranas plasmáticas intactas pueden ser fácilmente determinados con test muy sencillos y prácticos como el de resistencia a cambios osmóticos, que se basa en la reacción de la membrana de los espermatozoides cuando se exponen a soluciones salinas hiposmóticas. (RODRIGUEZ, 2000)

Esta prueba se basa en la integridad de la membrana del acrosoma sometida a un choque osmótico, el cual permite hacer una predicción del comportamiento de estos espermatozoides en los procesos de conservación a los que se les va a someter asumiendo que las técnicas y medios utilizados son óptimos. (GARCIA, 1994)

Para determinar la resistencia osmótica de los espermatozoides, 0,2 ml de semen fresco se diluyen en 3 ml de un medio con presión osmótica de 300 mOsm/Kg. Y se incuban en baño maría a 39 ° C durante 5 minutos, analizando inmediatamente el estado de los acrosomas. Una segunda muestra de 0,2 ml de semen fresco se añade a 3 ml de un medio con presión de 150 mOsm/Kg. Los acrosomas se analizan después de incubar durante 120 minutos e baño maría a 39 ° C.

Los verracos con un valor ORT por encima de 65, se puede predecir que tendrán un buen porcentaje de acrosomas normales después de la congelación, descongelación o en la conservación. Pero si el valor es menor de 50, la calidad no será suficiente, como se observa en la Tabla 2. (CAMACHO, 2000)

Tabla 1.2  
Clasificación de los valores ORT

CLASE	% AN	% FERTILIDAD	CARACTERISTICAS DEL SEMEN
1	80-82	81,3	Congelable
2	69-79		Conservable en diluyente
3	58-68	70	Para uso solo en fresco
4	47-57		Mediana calidad (desechar)
5	36-46	40	Mala calida (desechar)

Fuente: GARCIA, 1994

Elaborado por: El autor

#### 1.1.4.5. Test de termoresistencia TTR.

Consiste en subir y bajar la temperatura del semen e ir haciendo evaluaciones a medida que pasa el tiempo. Después de cierto tiempo se examina al microscopio observando el porcentaje de motilidad progresiva. Obteniendo así una estimación de la viabilidad, fertilidad y capacidad de almacenamiento. (MUÑOZ y PAUCAR, 2005)

## 1.2. CICLO SEXUAL DE LA CERDA

La pubertad se presenta en las hembras aproximadamente a los 200 días de edad y se manifiesta con la presentación del primer estro. Si bien en este momento la cerda no va a ser apareada, es importante estimular la presentación de la pubertad para poder llevar a cabo prácticas de manejo, alimentación e inmunitarias que permitan obtener el máximo potencial de la cerda desde su primer parto. (MARTINEZ, 2006)

La pubertad se caracteriza por el primer estro; por la liberación de óvulos capaces de ser fecundados y continúan durante toda la vida de la hembra, interrumpidos únicamente por la gestación y la lactancia.

El ciclo estral tiene una duración de 20 – 21 días en cerdas jóvenes y de 21 a 22 días en cerdas adultas. (RIVERA, 1997)

La ovulación se presenta cuando la cerda está en celo, alrededor de 30 a 36 horas después que las hembras manifiestan el celo.

El celo dura de 48 a 72 horas, siendo más corto en las cerdas primerizas o en cerdas con algún otro problema reproductivo. (GARCIA, 2000)

La cerda ovula en promedio de 15 a 18 óvulos, siendo esto menor en las hembras primerizas.

Solo el 50 % de las hembras manifiestan signos de celo en ausencia de un macho adulto.

Los principales factores que afectan la presentación de la pubertad son: edad, peso, índice de crecimiento, nutrición, genética, efectos ambientales, estado sanitario, efecto macho, etc. (MARTINEZ, 2006)

Engloba una serie de cambios morfológicos y etiológicos que se producen en el aparato genital femenino y que están inducidos por una serie de variaciones de la secreción hormonal. Estas transformaciones que en la cerda son periódicas tienen una gran influencia sobre el propio comportamiento del animal. (CAICEDO y PEREZ, 1992)

### **1.2.1. FASES DEL CICLO ESTRAL**

El ciclo sexual de la cerda se divide en las fases: proestro o período de crecimiento folicular, estro o período de maduración y ovulación de los folículos en el que la hembra presenta sintomatología de celo, metaestro o período de desarrollo del cuerpo luteo, y diestro o período de cuerpo luteo. (CALLE, 1998)

El apareamiento se limita al tiempo del estro, en el que coincide con la ovulación. (GARCIA, 2000)



#### *1.2.1.1. Proestro*

Etapa caracterizada por el crecimiento folicular, tiene una duración de 3 a 4 días. (RIVERA, 1997)

#### *1.2.1.2. Estro*

Determinado por el inconfundible reflejo de inmovilidad, signo que nos sirve como punto de referencia para decidir el momento óptimo para ejecutar uno de los dos sistemas sea por medio del reproductor o inseminación artificial. (GARCIA, 2000)

El estro dura de 1 a 5 días (promedio 2) y se caracteriza particularmente en cerdas jóvenes por la inflamación de la vulva y con una tonalidad rojiza, la cerda asuma una posición rígida, inmóvil, receptiva y búsqueda del verraco. (MERCK, 1994)

#### *1.2.1.3. Metaestro*

El inicio de ésta fase se manifiesta por la desaparición de la reacción de inmovilización y retracción completa del edema vulvar, pero todavía se observan síntomas de celo como deseo de montar a sus compañeras o gruñidos. (GARCIA, 2000)

Tiene una duración de 3 a 4 días. (RIVERA, 1997)

#### *1.2.1.4. Diestro*

Etapa en la cual podemos observar ausencia total de manifestaciones de celo, es el período más largo del ciclo estral y se caracteriza por el descanso sexual. (CALDERON, 1998)

Tiene una duración de 7 días y es considerado el período de preparación del útero para la gestación. (RIVERA, 1997)

### **1.3. DILUCIÓN Y CONSERVACIÓN DEL SEMEN**

Los principios básicos de dilución y conservación son: sementales de óptima calidad, correcta evaluación de la calidad espermática, dilución y conservación adecuados de los eyaculados. (GARCIA, 1994)

#### **1.3.1 DILUYENTE**

Por diluyente entendemos a la solución acuosa que permite aumentar el volumen del eyaculado hasta conseguir las dosis necesarias y preservar las características funcionales de las células espermáticas manteniendo el nivel de fertilidad adecuado. (MAQUEDA, 2006)

Los espermatozoides se encuentran en el plasma seminal que suministra los nutrientes necesarios para mantener una elevada actividad metabólica necesaria para el proceso de transporte espermático a través del tracto genital femenino. En el eyaculado, esta actividad metabólica solo puede mantenerse durante un periodo de tiempo muy limitado. Para poder conservar los espermatozoides durante periodos prolongados es necesario que se reduzca la actividad metabólica de los espermatozoides, mediante la dilución en un medio adecuado y la reducción de la temperatura. (LE COZ, 2005)

A nivel práctico en las condiciones actuales de producción los diluyentes se han clasificado en dos grandes grupos, los que tienen como objetivo la conservación a corto plazo (1 - 3 días), o aquellos que tienen por objetivo la conservación a largo plazo (más de 4 días). Los primeros se utilizan principalmente en estructuras de distribución de las dosis seminales a corta distancia mientras que los de largo plazo son propios donde la distancia entre el lugar de producción seminal y el lugar donde va a ser utilizado es grande. (GADEA, 2004)

Las ventajas que aportan los diluyentes de larga duración son la posibilidad de transporte a largas distancias, permiten realizar pruebas diagnósticas sobre el semen antes de ser utilizadas, como pruebas mediante técnicas PCR (Polymerase Chain Reaction) para detectar la presencia de diversos virus o

análisis completos de la calidad seminal, permite una mejor organización de las tareas en los centros de recogida seminal y facilita en gran medida la distribución de las muestras a las granjas de reproducción.

Algunos de los factores a considerar en la elección del diluyente son la relación entre su precio y calidad, la temporada del año influenciada por la temperatura y fotoperíodo, así como el tiempo de transporte del semen y el tiempo que pasa entre la producción del mismo y la inseminación, aunque la vida media del semen también se ve afectada por factores como la calidad de semen, la frecuencia de recolección, la tasa de dilución y de las fracciones de semen colectadas. (MAQUEDA, 2006)

#### *1.3.1.1 Requisitos que debe cumplir un diluyente*

- Abastecer nutriente como fuente de energía
- Proteger a las células espermáticas del shock térmico
- Proporcionar un amortiguador para prevenir los cambios dañinos en el pH cuando se forma ácido láctico
- Mantener la presión osmótica adecuada y el equilibrio electrolítico correcto
- Inhibir el crecimiento bacteriano
- Aumentar el volumen del semen de tal manera que pueda usarse para múltiples inseminaciones
- Proteger las células espermáticas durante la congelación (HAFEZ, 1993)
- Proporcionar capacidad tampón contra productos metabólicos
- Los medios diluyo conservadores de esperma para uso en inseminación artificial deben cumplir la exigencia de una fácil preparación y ser interesantes en el aspecto económico. (PEREZ y PEREZ, 1990)

Los diluyentes de semen normalmente contienen:

- Nutrientes: El espermatozoide tiene capacidad de producir la energía necesaria para mantener su metabolismo celular y generar el movimiento del flagelo, principalmente a través de las vías glicolíticas. Estos procesos se desarrollan en las mitocondrias localizadas en la porción intermedia del espermatozoide. La fuente de energía más frecuentemente utilizada en la composición de los diluyentes es la glucosa, aunque otras fuentes como galactosa, fructosa, ribosa y trealosa han sido utilizadas sin tener muchas ventajas sobre la glucosa. (MAQUEDA, 2006)

- Buffers: El pH del semen recién eyaculado se encuentra próximo a  $7.4 \pm 0.2$ , al igual que otros fluidos orgánicos, y cuando se reduce este pH al mismo tiempo se reduce el metabolismo energético del espermatozoide y su motilidad. El metabolismo glicolítico que desarrolla el espermatozoide (carbohidrato principal es glucosa) hace que el pH intracelular disminuya y el metabolismo celular quede reducido. El ácido láctico es el principal metabolito de este proceso, por lo que las sustancias buffer son necesarias en la preservación del semen ayudando a controlar el pH. (MAQUEDA, 2006)

Buffers simples como el bicarbonato de sodio y el citrato (sódico) tienen una acción limitada, mientras que sustancias como el ácido 3N-Morfolino propanesulfónico (MOPS) o el ácido N-2-hidroxietil piperazin-N-2-etanosulfónico (HEPES), TES Y TRIS pueden regular el pH en un rango más amplio y no son dependientes de la temperatura (MOPS Y HEPES). (GADEA, 2004)

- Electrolitos: El plasma seminal del verraco presenta una presión osmótica de 290-325 mOsm, y es capaz de tolerar un rango de presiones osmóticas bastante amplio (240-380 mOsm). Diversos estudios han evaluado la tolerancia a diversas presiones osmóticas, llegando a la conclusión que ni la motilidad ni la viabilidad espermática se ve afectada por la presión osmótica en rangos comprendidos entre 250 y 290 mOsm, mientras que cuando se reduce por debajo de 200 mOsm se detecta una reducción significativa de la motilidad. (MAQUEDA, 2006)

Los diluyentes isotónicos (300 mOsm) o ligeramente hipertónicos son los que mejores resultados han dado en condiciones de utilización comercial. Para regular la presión osmótica se utiliza principalmente sales de iones inorgánicos como el cloruro sódico y cloruro potásico. (GADEA, 2004)

- Antibióticos. En la mayoría de los casos el tejido testicular y las glándulas accesorias del verraco están libres de bacterias y por tanto la contaminación bacteriana del eyaculado se produce durante el proceso de recogida seminal. Para controlar el crecimiento microbiano en el diluyente es necesario añadir un agente antibiótico, ya que los componentes del diluyente (glucosa) así como la temperatura a las que se conservan las dosis (15-16 ° C), permiten el crecimiento de la mayoría de bacterias gram negativas. (RILLO, 1994)

La contaminación bacteriana principalmente produce una serie de alteraciones entre las que se encuentra una disminución de la motilidad, aglutinaciones espermáticas, aumento del porcentaje de acrosomas alterados y una reducción del pH hasta niveles ácidos (5.7-6.4), que conducen a una reducción en el tiempo de conservación de las dosis seminales. Por tanto, la adición del antibiótico en la adecuada concentración favorecerá la supervivencia espermática y se incrementarán los resultados de fertilidad. (GADEA, 2004)

Los antibióticos más utilizados actualmente son sulfato de gentamicina, sulfato de neomicina, penicilina sódica, lincomicina, y espectinomicina. (MINITUBE, 1999)

- Estabilizadores de membrana: Se adicionan con el fin de prevenir o retardar alteraciones no deseadas en la estructura y la función de las membranas de los espermatozoides. Las principales sustancias utilizadas son seroalbúmina bovina (BSA), hidroxitolueno butilado (BTH), etilén disódico diamino tetraacetato (EDTA), polivinil pirrolidona (PVP-40), y alcohol polivinílico. (MAQUEDA, 2006)

La diversidad de fórmulas, observadas en la Tabla 1.3 comprobadas con buenos resultados para diluir y conservar el semen durante varios días permiten garantizar la capacidad fecundante del eyaculado, sin embargo, no resulta suficiente sólo conocer las formulaciones, en ocasiones la mala preparación del

diluyente bien sea por error en el pesaje de reactivos, utilización de productos de mala calidad incluyendo agua, la contaminación de los elementos que integran el proceso de manipulación y preparación del diluyente provocan daños irreversibles a la célula después de la dilución que repercute en la fertilidad. (RIVERA, 1997)

Tabla 1.3  
Composición de los diluyentes de inseminación artificial porcina más utilizados  
(gr. / L)

	Kiev	BTS	Zorlesco	MRA	Reading	MERCK	Androhep
Glucosa	60	37	11.5	+	11.5	52.7	26
Citrato sódico	3.7	6.0	11.7	+	11.65	3.3	8.0
EDTA	3.7	1.25	2.3	+	2.35	1.8	2.4
Bicarbonato sódico	1.2	1.25	1.25	+	1.75	1.2	1.2
Cloruro potásico		0.75		-			
HEPES							9.5
BSA			5.0	+		3.00	2.5
TRIS			6.5	-	5.5	5.65	
Acido cítrico			4.1	-	4.1	2.00	
Cisteina			0.1	+	0.7	0.05	
Trehalosa					1		
PVA					1		
Acetato potásico				+			
MOPS				+			
Neomicina sulfato						1	
mOsm	380	330	240	290	300	282	309
Ph	7.2	7.2		6.9		6.9	6.8

Fuente: MAQUEDA, 2006

Elaborado por: El autor

El diluyente para semen es el responsable de la preservación de la viabilidad espermática y por esta razón, debe ser preparado y almacenado con cuidado. (MINITUBE, 1999)

### 1.3.2 DILUCIÓN DEL SEMEN

La dilución del esperma persigue el aumento del volumen eyaculado y en consecuencia el rendimiento de este en la inseminación artificial, sin perder la bondad del mismo. Los métodos diluyo conservadores son interesantes al pretender aumentar el volumen del material recolectado y, al mismo tiempo, rodean a los zoospermos de condiciones óptimas para el mantenimiento de la vitalidad y capacidad fecundante a través del tiempo. (PEREZ y PEREZ, 1990)

La adición de un medio de dilución en reemplazo del plasma seminal es necesaria para mantener la integridad de la célula espermática; puede ser el medio para evitar una baja motilidad, acrosomas dañados, formas anormales, aglutinaciones espermáticas, proteicas y de sales, sin olvidar las contaminaciones; siendo fundamental para poder mantener los parámetros de fertilidad y prolificidad. (RILLO, 1994)

Los medios artificiales diluyo conservadores deben proporcionar a los espermatozoides el material energético adecuado para la conservación de la vitalidad espermática, así como las condiciones biofísicas necesarias para la persistencia de aquellos en el medio líquido sin peligro de precipitación, regulando además, la presión osmótica, manteniendo el pH y la no modificación de la carga eléctrica en los zoospermos, como condiciones fundamentales. (PEREZ, 1991)

Los factores que pueden alterar o dañar a los espermatozoides son:

- Oxígeno: Es un factor que provoca excitación en los espermatozoides, que hace se muevan, con lo que el movimiento los agota, elimina sus reservas y estos mueren.
- Temperatura: El espermatozoide sale a una T<sup>o</sup> aproximada de 37 ° C. De ahí para abajo se conserva bien; si bajamos hasta la congelación el aguante depende de la especie; en porcinos es de 12 a 15 ° C. Pero una T<sup>o</sup> de 42 ° C para arriba destruye totalmente a los espermatozoides, pues sus estructuras proteicas se coagulan.
- Acción de sustancias químicas: Pueden provocar el llamado shock químico. Estas sustancias pueden estar como residuos en aparatos

recolectores, que parece que puedan estar limpios, pero luego aparecen y reaccionan.

- Luz: La luz intensa, sobre todo el rayo de sol directo, debido al contenido de infrarrojos elimina los espermatozoides. La luz intensa activa al espermatozoide igual que el oxígeno, con lo que se fatiga y muere.
- pH: Un pH alcalino provoca una excitación igual que el oxígeno. Un pH ácido paraliza al espermatozoide.
- Características del agua: Se recomienda el uso del agua biodestilada sin agentes pirógenos. El agua de uso corriente es muy dañina. (RODRIGUEZ-MARTINES, 2000)

La determinación rigurosa de la concentración del volumen, del porcentaje de células vivas es esencial para calcular cuál es la máxima dilución de espermatozoides en los preparados para la inseminación artificial. (RIVERA, 1997)

Una vez conocida la concentración / mm<sup>3</sup> se calcula el número de dosis que se obtienen de ese eyaculado. (KUBUS, 1993)

#### *1.3.2.1 Calculo de dosis*

A fin de calcular el número de dosis posibles del eyaculado se recomienda la siguiente fórmula:

$$N = \frac{V * C * d * e}{h}$$

[1.1]

donde:

N= número de dosis a preparar

V= volumen del eyaculado



C= contenido en zoospermos del eyaculado

d= motilidad en %

e= formas normales en %

h= concentración de espermatozoides que debe llevar la dosis ( $3 \cdot 10^9$ )

Para el cálculo del volumen de semen por dosis se emplea la fórmula:

$$V_s = \frac{V}{N}$$

[1.2]

donde:

$V_s$ = volumen de semen por dosis

V= volumen del eyaculado

N= número de dosis a preparar

Para el cálculo de dosis seminales en  $100 \text{ mm}^3$  se emplean las siguientes fórmulas:

$$V_t = N * 100$$

[1.3]

donde:

$V_t$ = volumen total (volumen del eyaculado + volumen del diluyente)

N= número de dosis a preparar

100=  $\text{mm}^3$

$$D = N * 100 - V$$

[1.4]

donde:

D= diluyente necesario para preparar dosis producidas

N= número de dosis a preparar

100= volumen de dosis en mm<sup>3</sup>

V= volumen del eyaculado

El título idóneo se considera entre 1:8 o 1:12, concentraciones superiores producen aumento de acrosomas dañados. (RIVERA, 1997)

La dilución se hace de 30 a 37 ° C y dentro de las 2 primeras horas después de la recogida. Un periodo entre 3 a 5 horas para el enfriamiento de 38 a 15 ° C permite una conservación óptima del semen. (RILLO, 1994)

Se añade el volumen del diluyente a 37 ° C sobre el semen para obtener el número de dosis posibles de 100 ml y concentración de  $3 * 10^9$  cada uno. Antes de mezclar se debe comprobar que no exista diferencia de temperatura entre el semen y el diluyente; el semen almacenado debe ser rotado suavemente cada 12 horas para mantener a los espermatozoides en suspensión con el diluyente. (KUBUS, 1993)

### **1.3.3 CONSERVACIÓN DEL SEMEN DILUIDO**

Se entiende como semen conservado aquel que puede ser conservado al menos un día después de su recogida, mientras que el semen fresco se utiliza diluido o no, inmediatamente después de haber sido recogido, manteniéndose a una temperatura de 37 ° C hasta el momento de la inseminación. (PEREZ, 1991)

La temperatura óptima para la conservación 15 a 20 ° C en un medio salino. El mayor éxito se alcanza en el acondicionamiento de un refrigerador tipo servidor que con un buen termostato conservan adecuadamente la temperatura. El almacenamiento se lo hace en frascos de cristal de 550 ml, en bolsas recolectoras de semen de polietileno o frascos de polietileno de 100 ml. (CAMACHO, 2000)

Para conservar el semen de verraco por más de dos a tres horas, es necesario añadir al esperma un medio que equilibre la acción de las sustancias del plasma seminal, manteniendo las células en condiciones de inactividad metabólica, tal como se encontraban en el epidídimo, para poder recuperar posteriormente su actividad en el momento de la inseminación. (RIVERA, 1997)

#### *1.3.3.1 Factores que influyen directamente en la conservación del esperma*

1.- Calidad del diluyente. En la que tomaremos en cuenta los siguientes parámetros:

a) Fuerza iónica: teniendo en cuenta que en el plasma seminal hay una concentración iónica alta estimulante del metabolismo celular, el primer punto a considerar es evitar la mayor cantidad posible de plasma seminal. En segundo lugar el medio de conservación deberá tener poca fuerza iónica, incrementándose únicamente con sustancias cuya intervención en el medio es necesaria para la conservación de las células.

b) Presión osmótica: la presión osmótica normal del plasma seminal del verraco es de 290 a 325 mOsm. Es recomendable que los diluyentes sean isotónicos o ligeramente hipertónicos.

c) pH: conviene que sea ligeramente ácido por dos motivos, el primero es debido a que el metabolismo celular es menos activo y el segundo por que se produce la disociación del bicarbonato en  $\text{CO}_2$  que actúa como inhibidor del metabolismo oxidativo.

d) Composición: las sustancias que componen el diluyente deben cumplir las necesidades fisiológicas de la célula para favorecer su mantenimiento.

2.- Título de la dilución. El título de la dilución es fundamental; si por una parte hemos considerado importante la calidad del medio, también lo es el equilibrio con

las sales del plasma para favorecer tanto la conservación como la recuperación de las células.

3.- Velocidad de enfriamiento. Es muy importante que la célula pueda recubrirse con las sustancias lipoproteicas del plasma seminal y de esta manera soportar mejor la temperatura de conservación. Para ello el ritmo de descenso de la temperatura debe ser muy lento durante las 4 ó 5 primeras horas.

4.- Temperatura de conservación. Para disminuir el metabolismo del semen recurrimos a descender la temperatura, quedando de manifiesto que a menos de 20 ° C, las células quedan paulatinamente en anabiosis. Hay un punto crítico entre los 15 y 10 ° C que las células no son capaces de soportar; produciendo lesiones irreversibles al acrosoma.

5.- Sustancias bactericidas. La proliferación de gérmenes es uno de los problemas que inciden en la conservación y para evitarla se utiliza la adición de antibióticos y sulfamidas. (RILLO, 1994)

#### **1.4. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

La inseminación artificial es una técnica que permite incorporar germoplasma de alto valor genético a un costo relativamente bajo y al mismo tiempo reducir el riesgo de introducción de enfermedades en el criadero. (INTA, 2003)

Es una técnica que comprende un conjunto de pasos necesarios para obtener, preparar y depositar las células reproductoras del macho (espermatozoides), en el momento más idóneo, en el aparato genital de la hembra para conseguir la fecundación de las células reproductoras de ésta (óvulos). (RIVERA, 1997)

El objetivo es trabajar en forma higiénica y atraumática, con calma y lo más fisiológicamente posible, esto es permitir que el semen sea absorbido por

intermedio de las contracciones uterinas de la cerda con el mínimo reflujo. (HANSEN, 1999)

El procedimiento de la inseminación artificial debe realizarse con cautela y por manos de personas con experiencia tanto para determinar celos; ya que es una parte fundamental de la inseminación, y para realizarla de una manera correcta, además, hay que tener en cuenta la calidad del semen antes de utilizarlo ya que el transporte, dilución, temperatura de almacenamiento, las fluctuaciones de temperatura y el tiempo transcurrido desde la colecta, pueden afectar su vida útil, motilidad y viabilidad. (CALLE, 1998)

#### **1.4.1 DETECCIÓN DE ESTRO**

La detección del estro (chequeo del celo) es una actividad importante que se debe llevar a cabo en todas las granjas de producción porcina sin tener en cuenta si el sistema de reproducción es por monta natural o inseminación artificial, siendo aun más importante en esta última ya que de ello depende el éxito de cada inseminación. (CALLE, 1998)

Para obtener una alta tasa de concepción y camadas numerosas, la detección del estro debe ser hecha cuidadosamente y sin fallas. (VILLA, 2005)

Se basa en la apreciación por parte del ganadero de los síntomas fisiológicos que manifiesta la hembra durante el celo estos son: nerviosismo, falta de apetito, edematización de la vulva, moco vaginal cristalino, orejas paradas y el síntoma más característico de celo la reacción de inmovilización. (RIVERA, 1997)

La detección de celo es practicada por una gran mayoría con la ayuda del verraco una vez al día, si bien la experiencia de muchos ganaderos les guía a hacerlo sin verraco mediante el test humano de presión lumbar, olvidando que la detección con verraco es un efecto de presencia de macho que estimula la salida en celo de las hembras en proestro y favorece la manifestación de síntomas de las hembras en estro. (RILLO, 1994)

Es más efectivo detectar el estro dos veces al día que una sola vez, a pesar de que se consuma más tiempo y mano de obra. El problema que se presenta con la doble detección diaria es que solamente se pueden obtener beneficios si ambos chequeos se realizan correctamente y separados por 12 horas aproximadamente. (VILLA, 2005)

Teniendo en cuenta que los espermatozoides tienen una viabilidad en el interior del tracto reproductivo femenino de aproximadamente 36 horas, y los ovocitos de 8 a 12 horas, es de tendencia general realizar dos inseminaciones: la primera dosis se suministra de 8 a 16 horas después de descubrir el estro por primera vez y la segunda se administra 12 a 24 horas después. De esta manera queda cubierto todo el tiempo en que pueda producirse la ovulación. (RIVERA, 1997)

#### **1.4.2 TÉCNICA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL**

Una vez que se ha detectado una hembra en calor y se ha determinado el momento óptimo para servirla, con el objeto de alcanzar el pico de ovulación, se procede a inseminarla. (CALLE, 1998)

La técnica es relativamente sencilla, con empleo de catéter de caucho flexible y frasco de polietileno. El catéter de punto espiral se introduce en la vagina dentro de los puentes cervicales con movimiento de rotación contrario a las manecillas del reloj, después de lo cual se introduce suavemente el eyaculado de manera que entre al útero por compresión del frasco. (GARCIA, 2000)

Es conveniente tener un verraco en el corral adyacente a donde habrá de realizarse la IA, permitiendo que haya un contacto de frente; si no se cuenta con un verraco, el técnico puede presionar el lomo de la hembra, lo que facilita la inseminación. (INTA, 2003)

Los pasos para la inseminación son:

- El primer paso es la identificación de la hembra.

- El semen congelado a 15 ° C debe calentarse previamente a la aplicación a una temperatura de 35 ° C, para lo cual es necesario disponer de un baño María o estufa a esta temperatura, cercanos al lugar de inseminación para evitar la pérdida de calor; en caso contrario se debe transportar la dosis en termos. (MOISA, 2001)
- Usar una toalla de papel para limpiar la vulva antes de proceder a la inseminación. Esto ayuda a prevenir adecuadamente la contaminación del interior del tracto reproductor y una posible infección. (GARCIA, 2000)
- Previamente a la aplicación del semen en la hembra se debe hacer pasar por el catéter una pequeña cantidad de diluyente puro calentado a 42 ° C, con el objeto de:
  - a) Comprobar la permeabilidad y drenaje del catéter por si existiera alguna obstrucción.
  - b) Arrastrar las eventuales gotas de agua que pudieran existir en el mismo.
  - c) Calentar el catéter evitando que el semen sufra un posible shock térmico. (MOISA, 2001)
- Lubricar el extremo del catéter con algún lubricante que no sea espermicida para que se deslice suavemente en los genitales femeninos sin lesionar la mucosa.
- Introducir cuidadosamente el instrumento como se muestra en la Figura 1.4 con la punta hacia arriba, por la vagina hasta el cervix, con un ángulo de 30 a 40 °. (GARCIA, 2000)
- Una rotación en el sentido contrario a las agujas del reloj la hará penetrar en el cervix. En ese momento se puede sentir cierta resistencia al tirar el catéter hacia atrás que nos indica que llegamos al cuello uterino. (INTA, 2003)
- Una vez fijo el catéter, la punta de la botella se acopla en éste y se introduce la dosis seminal lentamente, debiendo tardar por lo menos de 5 a 10 minutos en ello. (RIVERA, 1997)
- Cuidar que no entre aire al útero.
- Para retirar el catéter se lo va girando en sentido horario mientras se le va sacando. (GARCIA, 2000)

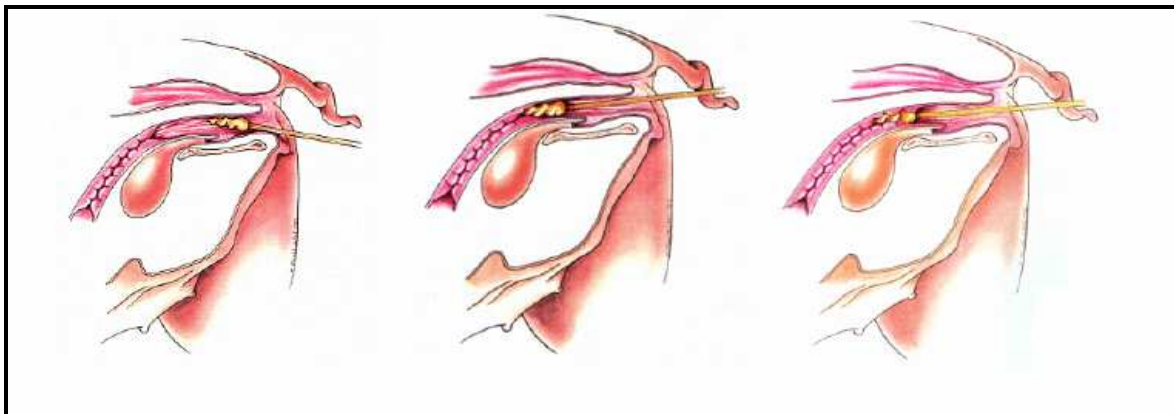


Figura 1.4. Técnica de inseminación artificial

Fuente: MOISA, 2001

### 1.4.3 VENTAJAS Y DESVENTAJAS

#### 1.4.3.1. Ventajas

- La principal ventaja es el uso intensivo de verracos sobresaliente sin el peligro de sobrecarga sexual. (GARCIA, 2000)
- Mejora higiene en la reproducción por estricto control sanitario de los verracos destinados a IA, por aislamiento en la granja al no introducir reproductores de otros establecimientos que podrán ser portadores de enfermedades y por manipulación del eyaculado y conservación. (CALDERON, 1998)
- Utilización de animales que ya no existen o que no pueden montar en forma natural. (ROJAS, 2000)
- Disminución del número de verracos con ahorro de espacio y de costos de mantenimiento. (CALLE, 1998)
- Permite controlar la calidad espermática de los reproductores.
- Permite inseminar en poco tiempo, un grupo numeroso de cerdas, independientemente del lugar donde estén. (GARCIA, 2000)
- Producción de lotes más homogéneos con destino al matadero.
- Ahorro de tiempo y esfuerzo evitando la monta natural y el desplazamiento de los reproductores. (MOISA, 2001)



- Se pueden llevar registros de reproducción más fácilmente, y de esta manera hacer más eficiente el manejo del establecimiento. (VILLA, 2005)
- Se evita el riesgo de la consaguinidad. (RIVERA, 1997)

#### *1.4.3.2. Desventajas*

Cuando la inseminación artificial se realiza de manera apropiada, sus desventajas son pocas.

- Exigencia en la formación y mantenimiento de personal especializado. (GARCIA, 2000)
- Utilización de semen de baja calidad proveniente de animales con características genéticas pobres. (MOISA, 2001)
- Peligros de mala práctica. El momento de realizar la inseminación no siempre es el óptimo. (CALDERON, 1998)
- No realizar una buena aplicación de las dosis seminales, con fallos en la limpieza de catéteres, una falta de estimulación de la aplicación (dosis con temperaturas bajas, inseminaciones en poco tiempo). (GARCIA, 2000)
- Obtención de pequeño número de dosis por eyaculado y reducido tiempo de conservación del esperma. (MOISA, 2001)

## CAPITULO II

### PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1. MATERIALES Y METODOS

##### 2.1.1. MATERIALES

###### 2.1.1.1. Localización

El presente estudio se desarrolló en el Centro de Inseminación Porcina propiedad de la Dra. Ruth Rivera, ubicado en la provincia de Pichincha; cantón Quito; parroquia de Tumbaco; de coordenadas geográficas Latitud Sur 00 12' 00'' y Longitud Oeste 78 24' 36''; altitud 2400 m.s.n.m; clima cálido seco; temperatura promedio anual 17,5 ° C, en el laboratorio bioquímico, químico y microbiológico CENTROCESAL CIA. LTDA., en la Universidad Central del Ecuador en el laboratorio de Coloideoquímica de la facultad de Ciencias Químicas y en el laboratorio de Bacteriología de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, ubicadas en la ciudad de Quito; provincia de Pichincha; cantón Quito; parroquia Santa Prisca.

###### 2.1.1.2. Implementos y sustancias químicas utilizadas en la elaboración, análisis físico y bacteriológico de los diluyentes

- Balanza analítica<sup>1</sup>
- Envases de polietileno estériles de 120 ml
- Agitador orbital<sup>2</sup>,
- Espátulas
- Sustancias químicas: Glucosa, citrato sódico, EDTA<sup>3</sup>, bicarbonato sódico, cloruro potásico<sup>4</sup>, BSA<sup>5</sup>, HEPES<sup>6</sup>, neomicina sulfato<sup>7</sup>.

---

<sup>1</sup> METTLER TOLEDO, AG204, capacidad de 120 g \* 0,0001 g

<sup>2</sup> LAB-LINE SHAKER ORBIT, PPT67

- Potenciómetro-Ionómetro<sup>8</sup>
- Picnómetro<sup>9</sup>
- Osmómetro de Adair
- Campanas
- Microcapilares
- Membranas de celofán
- Trípode
- Probetas
- Acetona<sup>10</sup>
  
- Incubador<sup>11</sup>
- Autoclave<sup>12</sup>
- Botellas de dilución de 90 ml
- Tubos de ensayo estériles de 16 mm x 150 mm
- Pipeta estéril de 2 ml
- Placas de agar nutritivo BBL<sup>13</sup>, agar EMB (eosina azul de metileno agar) BBL<sup>13</sup>, agar Mac Conkey BBL<sup>13</sup> y agar Sabouraud BBL<sup>13</sup>
- Mechero Bunsen sencillo
- Cabina de siembra bacteriológica
- Solución 1 N de hidróxido de sodio
- Fosfato de potasio
- Agua biodestillada estéril

---

<sup>3</sup> Etilendiaminotetraacético ácido tetrasódico di hidratado > 99,5 %, E6115 - SIGMA-ALDRICH

<sup>4</sup> KCl > 99,0 %, P9333 - SIGMA-ALDRICH

<sup>5</sup> Albumina sérica bovina > 96 %, A2153 - SIGMA

<sup>6</sup> Ácido N – 2 – hidroxietil piperazin – N – 2 – etanosulfónico > 99,5, H3375 - SIGMA

<sup>7</sup> N6386 - SIGMA

<sup>8</sup> INOLAB, WTW 735

<sup>9</sup> LMS, 20 ° C, 10 ml

<sup>10</sup> AX0120-44 - MERCK

<sup>11</sup> KOTTERMAM, 20501

<sup>12</sup> YAMOTO, SM-21

<sup>13</sup> Becton Dickinson Co.

### *2.1.1.3. Animales*

Se utilizó un verraco de raza Landrace Canadiense de 1 año y medio de edad, el cual ya ha sido probado con diluyentes existentes en el mercado, demostrando una alta calidad seminal.

### *2.1.1.4. Implementos utilizados en la recolección del semen*

- Corral de monta
- Maniquí
- Termo de colecta
- Vaso de precipitación de 500 ml
- Gasa estéril
- Ligas
- Termómetro
- Baño maría<sup>14</sup>
- Toallas

### *2.1.1.5. Implementos utilizados en la preparación del diluyente*

- Agua destilada estéril
- Vaso de precipitación de 100 ml
- Termómetro
- Baño maría
- Agitador de vidrio

### *2.1.1.6. Implementos y sustancias químicas utilizados en el análisis macro y microscópico del semen*

- Microscopio<sup>15</sup>

---

<sup>14</sup> PRECISION SCIENTIFIC, PS 11W11

<sup>15</sup> OLYMPUS TOKYO, GB 279937

- Baño maría
- Gradillas metálicas
- Tubos de ensayo
- Porta y cubreobjetos
- Espermiométrico Karras
- Pipetas Pasteur
- Papel indicador de pH
- Viales de plástico
- Sustancias químicas: eosina-nigrosina, solución salina formulada, alcohol

*2.1.1.7. Implementos y sustancias químicas utilizados en la prueba de endosmosis, resistencia osmótica y termoresistencia*

- Microscopio de contraste de fases<sup>16</sup>
- Incubador
- Baño maría
- Termo refrigerante
- Termómetro
- Tubos de ensayo
- Pipetas de 0,1 y 1 ml
- Placas portaobjetos
- Gradillas metálicas
- Tubos de ensayo
- Solución hipoosmótica de citrato de sodio / fructosa<sup>17</sup> (150 mOsm / L)
- Solución isosmótica de citrato de sodio / fructosa (300 mOsm / L)
- Glutaraldehído al 25 %

*2.1.1.8. Implementos utilizados en la conservación del semen diluido*

- Termo refrigerante
- Envases de polietileno de 20 ml
- Termómetro

---

<sup>16</sup> OLYMPUS TOKIO, EH 206012

<sup>17</sup> D-fructosa, baja en glucosa, 28434 - BDH Chemicals Ltd

### 2.1.1.9. Materiales de limpieza

2.1.1.10. Hojas de registro, como se observa en el Anexo 2 y 3.

## 2.1.2. METODOS

### 2.1.2.1. Elaboración, análisis físico y bacteriológico del diluyente

- Elaboración del diluyente

Para elaborar los diluyentes se tomó como referencia las formulaciones de tres diluyentes comerciales de diferentes tiempos de duración: 2 días (BTS), 4 días (MERCK III) y 7 días (Androhep); todos de la casa comercial MINITUB, a los cuales se los denominó como testigo 1 , 2 y 3 respectivamente.

Los diluyentes testigos fueron modificados en su formulación como se muestra en la Tabla 2.1, denominándolos como experimentos, dichas variaciones fueron establecidas dentro de los rangos regulados por la OIE<sup>18</sup> en su código de internacional de sanidad animal.

Tabla 2.1  
Formulas de diluyentes de semen porcino

	TESTIGO 1 gr./100 ml	Experimento 1.1 gr./100 ml	Experimento 1.2 gr./100 ml
Glucosa	3,7000	3,7000	3,7000
Citrato sódico	0,6000	0,6000	0,6000
EDTA	0,1250	0,1250	0,1250
Bicarbonato sódico	0,1250	0,1250	0,1250
Cloruro potásico	0,0750	0,0750	0,0750
BSA			0,0500
Neomicina Sulfato	0,0500	0,0550	0,0550
Total	4,6750	4,6800	4,7300

---

<sup>18</sup>Organización Mundial de Sanidad Animal

	<b>TESTIGO 2</b> gr./100 ml	<b>Experimento 2.1</b> gr./100 ml	<b>Experimento 2.2</b> gr./100 ml
Glucosa	5,2700	5,2700	5,2700
Citrato sódico	0,3300	0,3300	0,3300
EDTA	0,1800	0,1800	0,1800
Bicarbonato sódico	0,1200	0,1200	0,1200
Cloruro potásico			
BSA			0,0500
Neomicina Sulfato	0,1000	0,1100	0,1100
Total	5,9000	6,0100	6,0600

	<b>TESTIGO 3</b> gr./100 ml	<b>Experimento 3.1</b> gr./100 ml	<b>Experimento 3.2</b> gr./100 ml
Glucosa	2,6000	2,6000	2,6000
Citrato sódico	0,8000	0,8000	0,8000
EDTA	0,2400	0,2400	0,2400
Bicarbonato sódico	0,1200	0,1200	0,1200
HEPES	0,9500	0,5700	0,6650
BSA	0,2500	0,1500	0,2000
Neomicina Sulfato	0,1000	0,0800	0,0800
Total	5,0600	4,5600	4,7050

Elaborado por: El autor

Las variaciones porcentuales en la composición de los diluyentes testigos se muestran a continuación en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2

Porcentajes de variación en diluyentes testigos

	<b>Testigo 1</b>			
	<b>Experimento 1.1</b>		<b>Experimento 1.2</b>	
	<b>gr. / 100 ml</b>	<b>%</b>	<b>gr. / 100 ml</b>	<b>%</b>
BSA			0,05	100
Neomicina sulfato	0,055	10	0,055	10

	<b>Testigo 2</b>			
	<b>Experimento 2.1</b>		<b>Experimento 2.1</b>	
	<b>gr. / 100 ml</b>	<b>%</b>	<b>gr. / 100 ml</b>	<b>%</b>
Neomicina sulfato	0,11	10	0,11	10
BSA			0,05	100

Testigo 3					
		Experimento 3.1		Experimento 3.2	
		gr. / 100 ml	%	gr. / 100 ml	%
HEPES		0,57	(- 40)	0,665	(- 30)
BSA		0,15	(- 40)	0,2	(- 20)
Neomicina sulfato		0,08	(- 20)	0,08	(- 20)

Elaborado por: El autor

La OIE expresa en su código que: los diluyentes pueden o no contener cualquier proteína de origen animal libre de patógenos o esterilizados. Así mismo que se permite la adición de antibióticos eficaces en particular contra la leptospira y micoplasma. Dicha concentración deberá tener al menos un efecto equivalente a las concentraciones mínimas de: 500 UI de estreptomicina, 500 UI de penicilina, 150 mg de lincomicina, 250 mg de sulfato de gentamicina y 500 mg de sulfato de neomicina. (OIE, 2006)

Una vez establecida las formulaciones se procedió a pesar los ingredientes.

Se pesó en una balanza analítica cada ingrediente de los diluyentes con ayuda de espátulas de diferentes tamaños, previamente esterilizadas, se utilizó frascos de polietileno para el pesaje. Cada frasco fue identificado con nombre del diluyente y fecha de elaboración, como se observa en el Anexo 7.

Se estableció un rango de variación en el pesaje de las formulaciones de un 10%, basadas en las normas UPS<sup>19</sup>.

Para mezclar las formulaciones se colocó los frascos en un agitador orbital durante 5 minutos a 340 rpm, como muestra el Anexo 7.

Se mantuvo los envases cerrados y a temperatura ambiente hasta su posterior uso.

<sup>19</sup> UNITED STATES PHARMACOPEIAL



- Análisis físico del diluyente

Una vez realizada la mezcla se procedió a tomar el pH en un ionómetro previamente calibrado, como se observa en el anexo 7, para esto se diluyó 0,5 gr. de cada diluyente en 10 ml de agua boidestilada a 37 ° C y se agitó vigorosamente hasta completar la dilución.

Se calculó la densidad absoluta y relativa con ayuda de un picnómetro previamente lavado con abundante agua destilada y completamente seco, para ello se diluyó 0,5 gr. de diluyente en 10 ml de agua destilada.

Se pesó el picnómetro vacío, lavado y seco en una balanza analítica, como se muestra en el Anexo 7, siendo este el valor  $M_p$ , luego se llenó el picnómetro con agua destilada hasta el aforo, se secó con ayuda de papel filtro toda la parte exterior y la parte superior del capilar y se pesó en la balanza, siendo  $M_a$  el valor de la masa del agua en el picnómetro, posteriormente se vació el picnómetro, se enjuagó con abundante agua y se secó completamente para proceder a llenarlo con el diluyente a examinar, se secó el excedente y se pesó, siendo  $M_d$  el valor de la masa del diluyente en el picnómetro. Para manipular el picnómetro se utilizó guantes.

Para determinar la densidad absoluta y relativa del diluyente se utilizaron las siguientes fórmulas:

*Cálculo de masa:*

$$MA = Ma - Mp \quad [2.1]$$

$$MD = Md - Mp \quad [2.2]$$

donde:

MA = masa del agua

MD = masa del diluyente

Ma = masa del agua destilada en el picnómetro

Md = masa del diluyente en el picnómetro

Mp = masa del picnómetro vacío

*Cálculo de densidad absoluta:*

$$Da = \frac{M}{V}$$

[2.3]

donde:

Da = densidad absoluta

M = masa

V = volumen

*Cálculo de densidad relativa:*

$$Dr = \frac{\frac{MD}{Vd}}{\frac{MA}{Va}} = \frac{MD}{MA}$$

[2.4]

donde:

Dr = densidad relativa

MD = masa del diluyente

MA = masa del agua

Va = Vb = V = volumen 10 ml

El cálculo de la presión osmótica se la realizó en un osmómetro de Adair utilizando el método estático, como se observa en el Anexo 7, se utilizó membranas de celofán previamente acondicionadas con sucesivos lavados en soluciones acuosas de acetona y lavadas análogamente con el disolvente orgánico. Para esta prueba se diluyó 1 gr. de diluyente en 20 ml de agua destilada.

Se armó el osmómetro muy cuidadosamente, se forró la campana con la membrana acondicionada correctamente sujeta con ligas para evitar la entrada del disolvente al sistema, se llenó la campana con el diluyente a estudiar y se introdujo el un extremo del microcapilar en la boca de la campana y el otro extremo al corcho de sujeción. Todo el sistema se colocó en un tripote a 90 ° con la campana sumergida en su totalidad en un vaso de precipitación lleno de solvente orgánico.

Se espero el tiempo de estabilización y se midió la altura de la columna.

Con los datos de concentración, densidad absoluta y la altura se procedió a calcular la presión osmótica con ayuda de las ecuaciones de Van't Hoff. y de presión hidrostática.

*Ecuación de Van't Hoff.*

$$\Pi = c * R * T$$

[2.5]

donde:

C = concentración en moles/litro

R = constante de los gases ideales (0,082 atm \* L / ° K \* mol)

T = temperatura en ° K

### *Presión hidrostática*

$$\Pi = h * g * Da$$

[2.6]

donde:

h = altura en metros

g = gravedad (9,81 N / m<sup>2</sup>)

Da = densidad absoluta (Kg. / m<sup>3</sup>)

- Análisis bacteriológico del diluyente

Se realizó exámenes bacteriológicos utilizando diluciones seriales. Las muestras fueron suspendidas en solución de buffer fosfato por agitación mecánica. Se realizó diluciones seriales del filtrado y se sembró en medios de agar. Se incubaron las placas por 18 a 24 horas antes de su enumeración.

Los medios de cultivo fueron preparados conforme a las indicaciones del Manual de BBL, que dice:

- Disolver de 20 a 60 gr. de polvo en 1 litro de agua destilada estéril, agitar vigorosamente sobre una platina caliente sin sobrecalentar durante 1 minuto hasta completar la dilución, esterilizar en autoclave a 121 ° C por 15 minutos y enfriar a 45 ° C, agitar cuidadosamente y dispensar de 10 a 15 ml del medio en placas, mantener en refrigeración hasta su posterior uso.

Para la preparación del buffer fosfato se disolvió 34 gr. de fosfato de potasio (KH<sub>2</sub> PO<sub>4</sub>) en 500 ml de agua desionizada.

Se ajustó el pH a 7,2 con solución 1 N de hidróxido de sodio (NaOH) y se ajustó el volumen a un 1 litro con agua destilada.

Se dispensó 90 ml dentro una botella de dilución y 4,5 ml en 4 tubos de ensayo y se esterilizó en un autoclave por 15 minutos a 121 ° C.

Posteriormente se tomó 10 ml de la muestra con una pipeta y se colocó en la botella de 90 ml. Se agitó la solución por 1 a 2 minutos en el agitador, siendo esta la primera dilución.

Usando una pipeta estéril, se transfirió 0,5 ml de la primera dilución a un tubo conteniendo 4,5 ml de buffer fosfato, y se repitió la dilución seriada hasta obtener dilución 10<sup>4</sup>.

Se colocó 10 ul de la muestra en cada placa con el medio de cultivo dispersando el líquido con un asa de vidrio estéril y se procedió a incubarlas a 37 ° C. Después de 24 horas de incubación las placas fueron enumeradas en UFC.

Se trabajó dentro de una cabina de siembre cerca del mechero para evitar contaminación no deseada.

Se siguió el mismo procedimiento para la enumeración de las bacterias mesófilas, enterobacterias, coliformes, hongos y levaduras con la diferencia del medio de cultivo utilizado para cada examen, como se observa en la Tabla 2.3.

Tabla 2.3

Medios de cultivo utilizados para enumeración de microorganismos

<b>Microorganismo</b>	<b>Medio de cultivo</b>
Bacterias mesófilas	agar nutritivo BBL
Enterobacterias	agar EMB ( Eosina Azul de Metileno Agar) BBL
Coliformes	Mac Conkey BBL
Hongos y levaduras	agar Sabouraud BBL

Elaborado por: El autor

Para el calculo de unidades formadoras de colonias se contó el número de colonias formadas en cada placa y se realizó un promedio.

Se utilizó la siguiente fórmula para el cálculo:

$$UFC = m * fd$$

[2.7]

donde:

UFC = unidades formadoras de colonias

m = promedio de las placas

fd = factor de dilución

En el caso de las placas de hongos luego del recuento se identificó cada colonia expresando el resultado en porcentaje

Se realizó todos los procedimientos anteriormente descritos para cada uno de los diluyentes elaborados.

#### *2.1.2.2. Preparación del diluyente*

En un vaso de precipitación se agregó 15 ml de agua biodestilada estéril, se llevó a baño maría a 37 ° C, se colocó 0,5 gr. de diluyente elaborado y se agitó vigorosamente.

#### *2.1.2.3. Preparación de la solución hipoosmótica*

Para lo cual se siguió la técnica propuesta por TAKAHASHI (1990), se diluyó 0.56 gr. de citrato de sodio y 1.355 gr. de fructosa en 100 ml de agua destilada estéril alcanzando una osmolaridad de 100 a 150 mOsm / L.

#### *2.1.2.4. Preparación de la solución isosmótica*

La solución isosmótica (300 mOsm / L) se preparó con 0.56 gr. citrato de sodio y 1.355 gr. de fructosa partiendo de la solución hipoosmótica en 100 ml de agua destilada estéril.

#### *2.1.2.5. Obtención de la muestra seminal*

La colecta se realizó utilizando el método manual, como se observa en el Anexo 8. Una vez que el verraco ha montado al maniquí, se proporciona un masaje en el prepucio para que evacue la más posible el líquido prepucial y a continuación se aplicó presión al pene erecto del verraco hasta completar la eyaculación.

El eyaculado se recogió en un termo de colecta en el que previamente se colocó un filtro de gasa para evitar el paso de los gránulos de tapioca, evitando a luz directa protegiéndolo con una toalla estéril, se traspasó el semen a un vaso de precipitación y se llevó a baño maría para posterior evaluación.

Se realizó una sola colecta para la evaluación de los diluyentes.

#### *2.1.2.6. Evaluación de la calidad del semen fresco*

- Examen macroscópico

- Volumen

Se determinó directamente por medio de la graduación del vaso de precipitación.

- Color

Se valoró visualmente.

- Olor

Se lo calificó de acuerdo a una apreciación individual. Olor característico de la especia.

- pH

Se utilizó papel indicador universal, como se muestra en el Anexo 8.

- Examen microscópico

- Motilidad en masa y motilidad individual

Para lo cual se colocó una gota del eyaculado fresco en una placa porta objetos atemperada a 37 ° C y se observó al microscopio con el lente de menor aumento (10 X), la calidad de movimiento en remolino se calificó en una escala de 0 a 100 %. A continuación se colocó un cubre objetos y se observó la motilidad individual con el lente de mayor aumento (40 X) e igualmente se evaluó la motilidad individual progresiva en una escala de 0 a 100 %.

Se evaluó en 5 campos visuales, seleccionados aquellos que presentaron buena motilidad y lejanos al borde del cubreobjetos.

Se calificó el movimiento en masa y la motilidad individual como se muestra en la Tabla 2.4.

Tabla 2.4

Calificación de movimiento en masa y motilidad individual

Calificación	Movimiento de masa	Motilidad individual
Muy buena 75 – 100	Remolinos rápidos	Rápido
Buena 50 – 75	Remolinos lentos	Moderado
Regular 25 – 50	Oscilante	Lento



Mala 00 – 25	Vibración	Muy lento
--------------	-----------	-----------

Fuente: CAMACHO, 2000

Elaborado por: El autor

- Concentración espermática

El número de células espermáticas se determinó por medio de un espermiodensímetro o cámara de Karras, como se observa en el Anexo 8.

Se tomó 9,0 ml de una solución al 0,9 o 1,0% de NaCl en el densímetro. La medida de la solución de NaCl fue hecha por medio de una pipeta.

Se midió 1,0 ml (lo más exacto posible) de semen recién colectado y se agregó a la solución de NaCl.

Se cerró el instrumento utilizando el dedo pulgar y se mezcló dos o tres veces cuidadosamente para suspender las células espermáticas uniformemente dentro de la solución NaCl.

Para facilitar la lectura se utilizó una tira blanca de papel detrás de la cámara, se tapó el densímetro con el dedo pulgar y se giró dos o tres veces, colocando en posición correcta la cámara con la parte interna hacia la mano. Para la lectura se colocó el densímetro con el brazo estirado en longitud al nivel de los ojos.

- Contaje de espermatozoides vivos, muertos y anormales

En un tubo de ensayo se colocó dos gotas de tinción vital eosina-nigrosina y se lo puso en baño maría a 37 ° C, se añadió una gota de semen y se homogenizó inmediatamente. Utilizando una pipeta Pasteur se colocó una gota de la mezcla en un portaobjetos y se realizó un frotis, se dejó secar la placa para posteriormente observar al microscopio con el lente de 40 X.

El contaje de 100 espermatozoides entre vivos normales, muertos normales y anormales nos dará el porcentaje de cada uno de ellos.

Los espermatozoides vivos permanecen blancos (refringentes), mientras que los muertos aparecen teñidos de rosado sobre un fondo oscuro.

- Test de endosmosis

Se siguió el método empleado por TAKAHASHI (1990), utilizando una solución hipoosmótica de 100 a 150 mOsm / L, preparada con citrato de sodio y fructosa. En un tubo de ensayo, se colocó 0.1 ml de eyaculado fresco y se añadió 1 ml de solución hipoosmótica, y se incubó la mezcla a 37 ° C durante 30 minutos, pasado este tiempo se añadió a la muestra 15 gotas de glutaraldehído al 5 % para fijar la preparación, se homogenizó con una pipeta Pasteur se tomó una pequeña muestra de la preparación y se la colocó sobre un portaobjetos, se realizó un frotis y se observó al microscopio de contraste de fases con el lente de mayor aumento, como muestra el Anexo 8.

Se realizó el conteo de 100 células en 4 o 5 campos y se anotó el porcentaje de células positivas a endosmosis. Se valoró la reacción espermática de acuerdo a lo propuesto por CAMACHO (2000), en función del grado de reacción en la cola.

- Test de resistencia osmótica

La técnica utilizada se basa en la metodología realizada por GARCIA (1994), para lo cual se mezcló 0.1 ml de eyaculado fresco con a ml de solución isosmótica (300 mOsm / L) a 37 ° C, y se incubó posteriormente a 37 ° C durante 5 minutos.

Pasado este tiempo se agregó a la muestra 15 gotas de glutaraldehído al 5 % para fijar la preparación, se homogenizó y con una pipeta Pasteur se tomó una pequeña muestra y se colocó en un portaobjetos, se realizó un frotis y se observó al microscopio de contraste de fases con el lente de 40 X.

Se realizó el conteo de 100 células vivas en 3 o 4 campo y se anotó el porcentaje de espermatozoides con acrosomas normales (% AN).

Posteriormente se mezcló 0.1 ml del mismo eyaculado fresco con 1 ml de la solución hipoosmótica (150 mOsm / L) a 37 ° C, y se incubó posteriormente a 37 ° C por 2 horas.

Pasado este tiempo se fijó la preparación con 15 gotas de glutaraldehído al 5 %, se homogenizó y con una pipeta se tomó una pequeña muestra y se colocó en un porta objetos, se realizó un frotis y se observó al microscopio de contraste de fases con lente de 40 X, como se ve en el Anexo 8.

Se realizó el conteo de 100 células vivas en 3 o 4 campos y se anotó el porcentaje de espermatozoides con acrosomas normales (% AN).

El valor ORT se calculó con la siguiente formula:

$$ORT = \frac{\% AN (medio isoosmótico) + \% AN (medio hipoosmótico)}{2}$$

[2.7]

Posteriormente se realizó la clasificación de los valores ORT basada en la división hecha por GARCIA (1994) según el % AN, detallando las características para posterior uso del semen.

- Test de termoresistencia

Se tomó tres tubos de ensayo con 2 ml de semen en cada uno y se los llevó a baño maría a 42 - 45 ° C con agua no circulante, como se muestra en el Anexo 8, y se realizó determinaciones de motilidad individual a los tiempos de 0,1 y 2 horas.

- Análisis bacteriológico

El método empleado es el mismo descrito para el diluyente, con la diferencia que se repitió la dilución seriada hasta obtener dilución  $10^2$ .

*2.1.2.7. Dilución del semen*

Después de la colecta y del examen macroscópico, la muestra semen se llevó a baño maría a  $37^{\circ}\text{C}$ . Se procedió a separar las muestras para el examen microscópico de semen, para el test de endosmosis y para el test de resistencia osmótica.

La dilución del semen fue realizada tomando en cuenta las fórmulas expresadas por RIVERA, 1997, para lo cual se agregó a 2,4 ml semen a 15 ml de diluyente preparado a  $37^{\circ}\text{C}$ , se homogenizó la mezcla y se procedió al enfriamiento de  $37^{\circ}\text{C}$  a  $15^{\circ}\text{C}$  en un periodo de 3 a 5 horas para posteriormente almacenarlo protegido de la luz a una temperatura de  $15^{\circ}\text{C}$  en un termo refrigerante. El semen diluido fue rotado cada 12 horas para mantener a los espermatozoides en suspensión con el diluyente.

*2.1.2.8. Evaluación de la calidad del semen 1, 3, 5, 7 y 9 días postdilución*

- Examen macroscópico

•pH

Se tomo una pequeña muestra de semen diluido y se midió el pH con papel indicador universal.

- Examen microscópico

- Motilidad en masa y motilidad individual

Se tomó una muestra de semen diluido a 37 ° C y se procedió en igual forma que para el semen fresco.

De cada muestra se realizó 3 replicaciones.

- Contaje de espermatozoides vivos, muertos y anormales

El método empleado es el mismo descrito para semen fresco con la diferencia que se mezclaron con el colorante 4 gotas de semen diluido.

De cada muestra se realizó 3 replicaciones.

- Test de endosmosis

Se aplicó el mismo método descrito para semen fresco excepto que la muestra fue de 0.2 ml de semen diluido.

- Test de resistencia osmótica

Para esta prueba se siguió el mismo método utilizado para semen fresco, pero tomando una muestra de 0.2 ml de semen diluido.

- Test de termoresistencia

Se utilizó el mismo método descrito para semen fresco.

### 2.1.2.9. Método de calificación de los diluyentes

Para evaluar la efectividad de los diluyentes se realizó un análisis porcentual con códigos de eficiencia para calificación del semen, en función a motilidad individual, % espermatozoides vivos, muertos, anormales y normales, así como también el tiempo de duración, en relación a los parámetros normales que debe presentar el semen para tener éxito en la inseminación artificial, como se observa en la tabla 2.5.

Tabla 2.5  
Códigos y calificaciones para el semen diluido

Evaluación seminal	Codificación	Calificación cuantitativa	Calificación cualitativa	Coloración
Motilidad individual	$X \geq 75\%$	3	Muy bueno	ROJO
	$75\% < X \leq 70\%$	2	Bueno	AZUL
	$X < 70\%$	1	Malo	AMARILLO
Espermatozoides vivos	$X \geq 80\%$	3	Muy bueno	ROJO
	$80\% < X \leq 70\%$	2	Bueno	AZUL
	$X < 70\%$	1	Malo	AMARILLO
Espermatozoides muertos	$X \leq 20\%$	3	Muy Bueno	ROJO
	$30\% \leq X > 20\%$	2	Bueno	AZUL
	$X > 30\%$	1	Malo	AMARILLO
Espermatozoides anormales	$X \leq 10\%$	3	Muy Bueno	ROJO
	$15\% \leq X > 10\%$	2	Bueno	AZUL
	$X > 15\%$	1	Malo	AMARILLO
Espermatozoides normales	$X \geq 90\%$	3	Muy Bueno	ROJO
	$90\% < X \leq 85\%$	2	Bueno	AZUL
	$X < 85\%$	1	Malo	AMARILLO

Fuente: MINITUBE et al, 1997

Elaborado por: El autor

## **CAPITULO III**

### **ESTUDIO DE FACTIBILIDAD ECONOMICA**

Al analizar la existencia de un mercado potencial al cual ofrecer el producto “diluyente de semen porcino”, y al existir facilidades para del desarrollo de este, el estudio financiero busca establecer el monto necesario de recursos económicos, el costo total de operación e indicadores que servirán de base para la evaluación financiera del proyecto.

El monto de recursos comprometidos se le conoce como inversión y al excedente o beneficio obtenido se le denomina utilidad. Además, con el estudio financiero se podrá comprobar si con los recursos disponibles, es factible ejecutar el proyecto, por lo que el estudio también se define como la “Factibilidad del proyecto”.

#### **3.1. REQUERIMIENTOS DE PRODUCCIÓN**

Para iniciar la producción de cualquier industria es primordial definir y establecer las necesidades básicas de la misma, tales como maquinaria, infraestructura, materia prima, insumos, transporte y definir el programa de producción, que ayuda a establecer las cantidades procesadas basadas en las capacidades de la planta.

##### **3.1.1.DESCRIPCIÓN DE LA MAQUINARIA Y EQUIPO**

La maquinaria y herramientas necesarias para la elaboración de los diluyentes de semen porcino, deberán cumplir con estándares que permitan obtener un producto terminado de óptima calidad. La maquinaria utilizada se detalla en la

Tabla 3.1.  
Descripción de equipo

Equipo	Detalle
<b>Balanza</b>	<b>GIROPÉS, BR50-BTM</b>
	Capacidad 30 Kg., función de limitador de peso
	Resolución 10 gr. Dimensiones: 24 x 30 x 19 cm., Peso: 2,6 Kg.
	Plataforma con protección contra entrada de líquido y polvo
	Plato de acero inoxidable, display de la báscula con iluminación automática
<b>Mezcladora</b>	<b>SANTOLQUIDO, Mezcladora doble cono</b>
	Construida en acero inoxidable calidad AISI 316 pulido sanitario para 80 Kg. de capacidad
	Útil de proceso con motoreductor de velocidad trifásico de 2 HP
<b>phmetro</b>	<b>KYNAR</b>
	Rango: 0.00 - 14.00 pH / 0.0 - 60.0°, Precisión: +/- 0.01 pH – +/- 0.1°
	Resolución: 0.01 ph - 0.1 °, calibración automática
	Dimensiones: 150 x 80 x 38 mm, Peso: 210 gr.
	Condiciones de trabajo: de 0 a 50 ° - H.R. máxima 100 %
<b>Implementos de laboratorio</b>	Varios

Elaborado por: El autor

### 3.1.2.EDIFICIOS E INFRAESTRUCTURA

Para el funcionamiento de la planta procesadora de diluyentes de semen porcino se requiere una instalación relativamente pequeña, la cual cuenta con una bodega para almacenado del producto terminado de 10 m<sup>2</sup> y una bodega para insumos varios de 10 m<sup>2</sup>. Un cuarto para el desarrollo del proceso productivo, donde se instalará toda la maquinaria, cuya área corresponde a 20 m<sup>2</sup>.

La instalación a ser utilizada se arrendara con un valor anual de \$360.

### 3.1.3.ESTUDIO DE LAS MATERIA PRIMAS E INSUMOS

Las materias primas se dividen en dos tipos:

- Directas: Dentro de los materiales e insumos a utilizar en el proceso productivo se tiene los reactivos químicos, empaques (fundas de aluminio) y etiquetas.
- Indirectas: Dentro de estos se presentan los siguientes: servicios básicos, como agua, energía, teléfono; útiles de limpieza, útiles de oficina, entre otros.



La cantidad de materia prima anual que necesita el proyecto para procesar diluyentes de semen porcino se presenta en la Tabla 3.2.

Tabla 3.2  
Cantidad de materia prima

Denominación	Cantidad Kg. (año)	Valor Unitario (USD)	Valor Total (USD) (año)	Valor Total (USD) (trimestral)
Materia Prima Experimento 1.2	57	80.75	4,583.19	
Materia Prima Experimento 2.2	218	86.86	18,950.26	
Materia Prima Experimento 3.2	56	337.08	19,031.46	
Empaques (unidades)	6,000	0.05	300.00	
Etiquetas (unidades)	6,000	0.06	360.00	
<b>TOTAL</b>			<b>S/ 43,224.91</b>	<b>S/ 10,806.00</b>

Elaborado por: El autor

### 3.1.4.REQUERIMIENTOS DE RECURSO HUMANO

La empresa requiere de personal para sus diferentes departamentos, por tal razón, ha planificado la contratación inmediata del talento humano que ocupará dichas funciones de trabajo. La remuneración de cada empleado, está acorde con las remuneraciones que por ley se encuentran establecidas. A continuación en las Tablas 3.3 y 3.4 se detalla el personal requerido por la organización.

Tabla 3.3  
Mano de obra directa

Denominación	N°	Sueldo Mensual (USD)	Total Anual (USD)	Total Anual (USD) (trimestral)
No calificados	1	160.00	1,920	
SUMAN			1,920	
Cargas sociales 27.0 %			519	
<b>TOTAL</b>			<b>S/ 2,439</b>	<b>S/ 610</b>

Elaborado por: El autor

Tabla 3.4  
Personal administrativo

Denominación	N°	Sueldo Mensual	Total Anual
		(USD)	(USD)
Gerente	1	500	6,000.00
Contadora	1	150	1,800.00
SUMAN			7,800.00
Cargas sociales 27.0 %			2,109.03
<b>TOTAL</b>			<b>S/ 9,909.03</b>

Elaborado por: El autor

Las ventas a nivel nacional estarán a cargo del gerente de la empresa el mismo que se encargará de la venta, facturación, transporte, distribución y cobranzas.

### 3.1.5.CARGA FABRIL

Tabla 3.5  
Carga fabril

Materiales indirectos Denominación	Cantidad Kg.	Costo Unitario (USD)	Costo Total (USD)
Detergentes	global		125
Desinfectantes	global		195
Materiales limpieza	global		86
<b>TOTAL</b>			<b>S/ 406</b>
Suministros Denominación	Cantidad	Valor Unitario (USD)	Valor Total (USD)
Energía eléctrica (Kw-h)	4,740.00	0.10	450
Agua (m <sup>3</sup> )	768.00	0.40	307
Lubricantes (gal)	6.00	5.00	30
<b>TOTAL</b>			<b>S/ 788</b>
Arriendo Denominación	Cantidad	Valor Unitario (USD)	Valor Total (USD)
Arriendo Oficina	12.00	30.00	360
Arriendo empacadora	6,000.00	0.05	300
<b>TOTAL</b>			<b>S/ 660</b>
Reparaciones y mantenimiento Denominación	%	Costo (USD)	Valor Total (USD)
Maquinaria y equipo	1.0	S/ 4,377.50	S/ 43.78
<b>TOTAL</b>			<b>S/ 43.78</b>

Denominación			Valor Total
			(USD)
Aprox. 2% de todos los rubros anteriores			S/ 56.44
<b>TOTAL GENERAL (anual)*</b>			<b>S/ 2,878</b>
<b>TOTAL GENERAL (trimestral)*</b>			<b>S/ 488</b>

\* Sin depreciación ni amortización ni seguros

Elaborado por: El autor

## 3.2. COSTOS DE ACOPIO Y PROCESAMIENTO

### 3.2.1. PRESUPUESTO DE INVERSIÓN

Las inversiones efectuadas antes de la puesta en marcha del proyecto se agrupan en tres tipos: activos fijos, activos intangibles y capital de trabajo. Las inversiones necesarias en activos fijos e intangibles que se necesita para el desarrollo del proyecto, se presenta a continuación:

#### 3.2.1.1. Activos fijos

Se entienden como activos fijos o tangibles, a los bienes de propiedad de la empresa, tales como: terrenos, construcción, maquinaria, equipo, mobiliario, vehículos de transporte, herramientas y otros. Estos bienes tienen una permanencia más duradera dentro de la empresa. En la tabla 3.6, se muestra el costo por concepto de maquinaria y equipo implementado. En el punto 3.1.2, se describe los costos por terreno e infraestructura mientras que en la Tabla 3.7, se muestra los costos de otros activos.

Tabla 3.6  
Costos de maquinaria y equipo

Denominación	Cantidad	Precio (USD)
Balanza 30 Kg.	1	265
Mezcladora 80 Kg.	1	3.800
Phmetro	1	65
Implementos laboratorio	varios	120
<b>Total maquinaria y equipo</b>		<b>4.250</b>

Instalación y montaje 3 %		128
<b>TOTAL USD</b>		<b>4.378</b>

Elaborado por: El autor

Tabla 3.7  
Otros activos

<b>Denominación</b>	<b>Valor total (USD)</b>
Equipos y muebles de oficina	300
Equipos de computación	600
Stock de repuestos	100
Otros equipos	150
Imprevistos 3%	131
<b>TOTAL USD</b>	<b>1.281</b>

Elaborado por: El autor

Los activos fijos están sujetos a depreciaciones para recuperar el valor que estos han perdido a través del tiempo y el uso con relación al precio que antes tenían. En la Tabla 3.8 se presenta las depreciaciones de los mismos, calculadas con la siguiente fórmula donde el valor residual para cada uno de estos se considera cero:

$$\text{Depreciación} = \frac{\text{Valor de compra} - \text{Valor residual}}{\text{número de años}}$$

[3.1]

Tabla 3.8  
Depreciación de Activos

<b>Denominación</b>	<b>Vida Útil (años)</b>	<b>Valor de compra (USD)</b>	<b>Valor residual (10%) (USD)</b>	<b>Depreciación anual (USD)</b>
Maquinaria y equipo	10	4.378	438	393,98
Computadoras	3	600	0	200,00
Repuestos y accesorios	10	100	0	10,00
Otros equipos	10	150	0	15,00
Imprevistos de la inversión fija	10	131	0	13,13
Imprevistos inversión total 5%	10	388	0	38,79

<b>TOTAL USD</b>				670,90
------------------	--	--	--	--------

Elaborado por: El autor

### 3.2.1.2. Activos intangibles

Las inversiones en activos intangibles o diferidos mostrados en la Tabla 3.9, son aquellas que se realizan sobre activos constituidos por servicios adquiridos y gastos pagados por anticipado necesarios para la puesta en marcha del proyecto. Estas inversiones están sujetas a amortización, y para el presente proyecto se señalan en la Tabla 3.10.

Tabla 3.9

#### Activos intangibles

Denominación	Valor total (USD)
Gastos de Constitución	800
Registro de marca	500
Costos de permisos sanitarios	800
<b>TOTAL USD</b>	<b>S/ 2.100</b>

Elaborado por: El autor

Tabla 3.10

#### Amortizaciones

Denominación	Vida Útil (años)	Valor de Compra (USD)	Amortización Anual (USD)
Gastos de Constitución	10	800	80
Registro de marca	10	500	50
Costos de permisos sanitarios	10	800	80
<b>TOTAL USD</b>			<b>S/ 210</b>

Elaborado por: El autor

### 3.2.1.3. Capital de trabajo

El capital de trabajo está representado por el capital adicional con que la empresa debe contar antes de empezar a funcionar, se debe financiar la primera producción antes de recibir ingresos, por lo que se debe comprar materia prima, pagar mano de obra directa, otorgar crédito en las primeras ventas. Es decir, que capital de trabajo es el capital con que hay que contar

para empezar a trabajar. Para el presente proyecto se ha considerado contar con un capital de trabajo de 11.904 USD, mismo que corresponde a los costos de producción directos e indirectos, considerados para el primer trimestre de producción, los que se detallan en la Tabla 3.11, cuyos datos provienen de las Tablas 3.2, 3.3 y 3.5.

Tabla 3.11  
Capital de trabajo (Trimestral)

Denominación	Tiempo (meses)	(USD)
Materiales Directos	3	10,806
Mano de Obra Directa	3	610
Carga Fabril*	3	488
<b>TOTAL</b>		<b>S/ 11,904</b>

\* Sin depreciación ni amortización ni seguros

Elaborado por: El autor

#### 3.2.1.4. Inversión Total

Para determinar la inversión total necesaria para ejecutar el proyecto se suman todos los activos que se muestra en la Tabla 3.12.

Tabla 3.12  
Inversión Total

<b>ACTIVOS FIJOS</b>	<b>(USD)</b>
ACT. TANGIBLES	6,046.77
ACT. DIFERIDOS	2,100.00
<b>TOTAL</b>	<b>8,146.77</b>
<b>CAPITAL DE TRABAJO</b>	
COSTOS DE PRODUCCIÓN	
C. PROD. DIRECTOS	11,416.01
C. PROD. INDIRECTOS	488.43
<b>TOTAL CAPITAL DE TRABAJO</b>	<b>11,904.44</b>
<b>INVERSION TOTAL *</b>	<b>20,051.21</b>

\* Sin Depreciaciones

Elaborado por: El autor

### 3.2.2. COSTOS DE OPERACIÓN

Los costos de operación son los costos necesarios para la producción del bien o servicio, los mismos que se relacionan directamente, aquí no se incluye los gastos administrativos, de ventas y financieros.

La Tabla 3.13 muestra los costos de producción totales para la fabricación de los 3 diluyentes.

Tabla 3.13  
Costos de producción

<b>COSTOS DE PRODUCCION DILUYENTE</b>	<b>(USD)</b>
<b>MATERIALES DIRECTOS</b>	
Materia Prima (químicos Kg.) total	42,564.91
Empaques (unidades)	300.00
Etiquetas (unidades)	360.00
<b>TOTAL</b>	<b>43,224.91</b>
<b>MANO DE OBRA DIRECTA</b>	
Personal	2,439.15
<b>TOTAL</b>	<b>2,439.15</b>
<b>COSTOS GENERALES DE FABRICACION</b>	
Materiales Indirectos	406.00
Mano de Obra indirecta	0.00
Depreciación	670.90
Amortización	210.00
Suministros	787.50
Seguro	43.78
Arriendos	660.00
Mantenimiento	43.78
Imprevistos	56.44
<b>TOTAL</b>	<b>2,878.39</b>
<b>TOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN</b>	<b>48,542.44</b>
<b>KG PRODUCIDOS</b>	331
<b>TOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN UNITARIO USD/Kg.</b>	<b>146.49</b>
<b>Total precio de venta USD/Kg.</b>	<b>182.05</b>

Elaborado por: El autor

El costo de producción de diluyentes de semen porcino, corresponde a 48,542.44 USD, lo que representa un costo de producción unitario de 146.49 USD/Kg.

Los costos de producción y precios de venta por unidad de cada Experimento se detallan en las Tablas 3.14, 3.15 y 3.16.

Tabla 3.14  
Costos de producción Experimento 1.2

<b>TOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN EXPERIMENTO 1.2</b>	<b>(USD)</b>
Materia prima	4,583.19
Empaques	60.00
Etiquetas	72.00
<b>MANO DE OBRA DIRECTA</b>	<b>813.05</b>
<b>COSTOS GENERALES DE FABRICACION</b>	<b>959.46</b>
<b>TOTAL</b>	<b>6,487.70</b>
<b>KG PRODUCIDOS</b>	<b>57</b>
<b>TOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN UNITARIO USD/Kg.</b>	<b>114.30</b>
<b>TOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN UNITARIO (USD) / unidad (47.3 gr.)</b>	<b>5.41</b>
<b>Total precio de venta USD/Kg.</b>	<b>183.50</b>
<b>Total precio de venta USD/unidad</b>	<b>8.68</b>

Elaborado por: El autor

El costo de producción del experimento 1.2 es de 6,487.70 USD, con un precio unitario de 5.41 USD y un precio de venta de 8.68 USD.

Tabla 3.15  
Costos de producción Experimento 2.2

<b>TOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN EXPERIMENTO 2.2</b>	<b>(USD)</b>
Materia Prima	18,950.26
Empaques	180.00
Etiquetas	216.00
<b>MANO DE OBRA DIRECTA</b>	<b>813.05</b>
<b>COSTOS GENERALES DE FABRICACION</b>	<b>959.46</b>
<b>TOTAL</b>	<b>21,118.77</b>
<b>KG PRODUCIDOS</b>	<b>218</b>
<b>TOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN UNITARIO USD/Kg.</b>	<b>96.80</b>
<b>TOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN UNITARIO USD/unidad (60.6 gr.)</b>	<b>5.87</b>



<b>Total precio de venta USD/Kg.</b>	114.81
<b>Total precio de venta USD/unidad</b>	6.96

Elaborado por: El autor

El experimento 2.2 presenta un costo de producción de 21,118.77 USD, lo que corresponde a un precio unitario de 5.87 USD y a un precio de venta de 5.87 USD.

Tabla 3.16  
Costos de producción Experimento 3.2

<b>TOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN EXPERIMENTO 3.2</b>	<b>(USD)</b>
Materia prima	19,031.46
Empaques	60.00
Etiquetas	720.00
<b>MANO DE OBRA DIRECTA</b>	813.05
<b>COSTOS GENERALES DE FABRICACION</b>	959.46
<b>TOTAL</b>	<b>21,583.97</b>
<b>KG PRODUCIDOS</b>	56
<b>TOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN UNITARIO USD/Kg.</b>	382.29
<b>TOTAL COSTOS DE PRODUCCIÓN UNITARIO USD/unidad (47.05 gr.)</b>	17.99
<b>Total precio de venta USD/Kg.</b>	451.86
<b>Total precio de venta USD/unidad</b>	21.26

Elaborado por: El autor

La Tabla 3.16 muestra el costo de producción del experimento 3.2 el cual corresponde a 21,583.97 UDS, con un costo unitario de 17.99 USD y un precio de venta de 21.26 USD.

### 3.2.3.COSTOS DE DISTRIBUCIÓN

Los costos de distribución representan a los costos no identificables directamente con el producto, y constituyen los Gastos Administrativos, de Ventas y Financieros, que para el presente proyecto se exponen en la Tabla 3.17.

Tabla 3.17  
Costos de Distribución

<b>GASTOS ADMINISTRATIVOS</b>	<b>(USD)</b>
Nómina del Personal	9,909
Depreciación Muebles y equipos de oficina	60
Gastos de oficina (suministros)	100
Imprevistos	201
<b>Total Gastos Administrativos</b>	<b>10,270</b>
<b>GASTOS DE VENTAS</b>	
Gastos de Comunicación	
Teléfono	300.00
Transporte	240.00
Imprevistos	10.80
<b>Total Gastos de Ventas</b>	<b>550.80</b>
<b>GASTOS FINANCIEROS</b>	962
<b>TOTAL COSTOS DE DISTRIBUCIÓN</b>	<b>11,783.21</b>

Elaborado por: El autor

### 3.3. INGRESOS Y UTILIDADES

Los ingresos constituyen el dinero, o cualquier otra ganancia o rendimiento de naturaleza económica, obtenido durante cierto periodo de tiempo.

Mientras que las utilidades están constituidas por los ingresos de dicho periodo, restado los gastos del mismo realizados para obtener los ingresos.

#### 3.3.1. PROYECCIÓN DE VENTAS

Las proyecciones de las ventas se realizaron para los 10 primeros años, considerándose una tasa de inflación del 4%, dato obtenido del Banco Central del Ecuador. Para la proyección de las ventas se consideró el incremento de la producción que va del 65% hasta el 80% como se muestra en la Tabla 3.18 incluyendo el ingreso por ventas.

Tabla 3.18  
Proyección producción y ventas

Porcentaje	65%	68%	70%	73%	75%	78%	80%	80%	80%
Año	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Experimento 1.2 (Kg.)	57	59	61	64	65	68	70	70	70
Experimento 2.2 (Kg.)	218	262	349	437	524	611	699	786	873
Experimento 3.2 (Kg.)	56	59	61	63	65	68	69	69	69
Precio de venta Experimento 1.2 (Kg.)	158.56	261	347	434	521	608	695	782	869
Precio de venta Experimento 2.2 (Kg.)	148.51	5,158	5,310	5,537	5,689	5,916	6,068	6,068	6,068
Precio de venta Experimento 3.2 (Kg.)	361.32	22,755	30,340	37,925	45,510	53,095	60,680	68,265	75,850
Ingresos por ventas Experimento 1.2	9,000	5,131	5,281	5,508	5,659	5,885	6,036	6,036	6,036
Ingresos por ventas Experimento 2.2	32,400	22,635	30,180	37,725	45,270	52,814	60,359	67,904	75,449
Ingresos por ventas Experimento 3.2	20,400	448,015	461,192	480,958	494,135	513,900	527,077	527,077	527,077
Ingresos por venta totales	61,800	1,976,539	2,635,385	3,294,231	3,953,077	4,611,924	5,270,770	5,929,616	6,588,462

Elaborador por: El autor

### 3.3.2. PROYECCIÓN DE EGRESOS

Los egresos reflejan todas aquellas transacciones que hacen posible que la empresa desarrolle su actividad, por lo que en ellos se incluyen los salarios, los alquileres, el pago de intereses y los impuestos.

El presupuesto de egresos esta compuesto por la provisión de todos los gastos que se deben realizar para el cumplimiento de objetivos y metas de la empresa en un ejercicio financiero.

Los egresos por parte de la empresa para el desarrollo de sus actividades se presentan en la Tabla 3.19.

Tabla 3.19  
Proyección de Egresos

Porcentaje	65%	68%	70%	73%	75%	78%	80%	80%	80%
Año	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Materiales directos	43,224.91	47,028.70	50,348.37	54,606.40	58,346.57	63,107.65	67,314.83	70,007.42	72,807.72
Mano de obra directa	2,439.15	2,536.71	2,638.18	2,743.71	2,853.46	2,967.59	3,086.30	3,209.75	3,338.14
Mano de obra indirecta	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Materiales indirectos	406.00	441.73	472.91	512.90	548.03	592.75	632.27	657.56	683.86
Depreciación	670.90	670.90	670.90	670.90	670.90	670.90	670.90	670.90	670.90
Amortizaciones	210.00	210.00	210.00	210.00	210.00	210.00	210.00	210.00	210.00
Arrendos	660.00	718.08	768.77	833.78	890.89	963.59	1,027.83	1,068.94	1,111.70
Suministros	787.50	856.80	917.28	994.86	1,063.00	1,149.74	1,226.39	1,275.44	1,326.46
Reparación y mantenimiento	43.78	45.53	47.35	49.24	51.21	53.26	55.39	57.60	59.91
Seguros	43.78	45.53	47.35	49.24	51.21	53.26	55.39	57.60	59.91
Imprevistos	56.44	61.41	65.74	71.30	76.18	82.40	87.89	91.41	95.07
<b>Total Costo de Operación</b>	<b>48,542.44</b>	<b>52,615.38</b>	<b>56,186.84</b>	<b>60,742.34</b>	<b>64,761.45</b>	<b>69,851.14</b>	<b>74,367.18</b>	<b>77,306.63</b>	<b>80,363.66</b>

Elaborado por: El autor

### 3.3.3. ESTRUCTURA DE FINANCIAMIENTO

La inversión para la producción de diluyentes de semen es de 211.709,33 USD, cuyo monto se distribuye en el capital propio que corresponde al 60% de la inversión total y el restante es financiado por una entidad bancaria con una tasa de interés del 12%. Los valores del financiamiento de la inversión se presentan en la Tabla 3.20.

Tabla 3.20  
Estructura del Financiamiento de la Inversión.

<b>FINANCIAMIENTO</b>	
<b>INVERSION TOTAL *</b>	<b>20,051.21</b>
CAPITAL PROPIO 60%	12,030.72
FINANCIAMIENTO	8,020.48

\* Sin depreciaciones y amortizaciones

Elaborado por: El autor

El monto requerido para la inversión es de 8,020.48 USD el cual estará financiado por una entidad bancaria, a una tasa de interés del 12% y a un plazo de 5 años. La cuota anual a pagar durante los 5 años se determinó a través de la siguiente fórmula:

$$A = \frac{C (1+i)^n * i}{(1+i)^n - 1}$$

[3.2]

donde:

A = cuota anual

C = monto de inversión inicial

i = tasa de interés anual

n = número de años

Las amortizaciones del crédito se muestran en la tabla 3.21.

Tabla 3.21  
Crédito a largo plazo

Monto inicial USD \$	8,020.48				
Plazo (años)	5.00				
Interés	0.12				
Período	Préstamo (USD \$)	Cuota (USD \$)	Interés (USD \$)	Principal (USD \$)	Saldo (USD \$)
0.00	8,020.48				8,020.48
1.00		2,224.96	962.46	1,262.50	6,757.98
2.00		2,224.96	810.96	1,414.00	5,343.98
3.00		2,224.96	641.28	1,583.68	3,760.30
4.00		2,224.96	451.24	1,773.72	1,986.57
5.00		2,224.96	238.39	1,986.57	0.00
<b>Cuota (USD \$) =</b>	2,224.96				

Elaborado por: El autor

### 3.4. ANÁLISIS FINANCIERO

La evaluación financiera de un proyecto se fundamenta en la verificación y análisis de la información contenida en el estudio financiero, tiene como fin definir la mejor opción de inversión, a través de la aplicación de criterios de evaluación.

A continuación se presentan los principales Estados Financieros, los cuales reflejan la situación económica y financiera futura del proyecto:

- Estado de Resultados
- Flujo Neto de Fondos

### 3.4.1.ESTADO DE PERDIDAS Y GANANCIAS

Según ZAPATA, 2005 el estado de resultados o de pérdidas y ganancias permite observar el resultado de las operaciones provenientes del uso de los recursos en un período determinado. Su análisis tiene como fin el posterior cálculo de la utilidad neta y los flujos netos de efectivo del proyecto.

Es importante debido a que establece la capacidad de la empresa de generar resultados positivos que le permitan continuar en operación.

La Tabla 3.22 presenta el estado de pérdidas y ganancias del proyecto en estudio.

Tabla 3.22  
Estado de pérdidas y ganancias

<b>ESTADO DE RENTAS Y GASTOS</b>	<b>(USD)</b>
<b>VENTAS</b>	
Diluyentes totales	61,800.00
<b>TOTAL</b>	<b>61,800.00</b>
<b>COSTOS DE PRODUCCION</b>	48,542.44
<b>GANANCIA BRUTA</b>	<b>13,257.56</b>
<b>GASTO DE VENTAS</b>	550.80
<b>GASTO ADMINISTRATIVO</b>	10,270.41
<b>GASTO INTERESES</b>	962.46
<b>GANANCIA ANTES DE PARTICIPACIÓN</b>	<b>1,473.88</b>
<b>PARTICIPACIÓN TRABAJADORES 15%</b>	221.08
<b>GANANCIA ANTES DE IMPUESTOS</b>	<b>1,252.80</b>
<b>IMPUESTO A LA RENTA 25%</b>	313.20
<b>UTILIDAD NETA</b>	<b>939.60</b>

Elaborado por: El autor

### 3.4.2.FLUJO DE CAJA

El flujo de caja representa los flujos netos de efectivo del proyecto, que son el beneficio real de la operación de la planta, y que se obtienen restando a los ingresos todos los costos en que incurra la planta y los impuestos que se deba pagar. En los anexos 9, 10 y 11 se presentan los flujos de inversión, operación y el flujo financiero neto, respectivamente.

### 3.4.3.ÍNDICES FINANCIEROS

#### 3.4.3.1. Tasa mínima aceptable de rendimiento (TMAR)

Para tomar la decisión de ejecutar el proyecto, los inversionistas exigen una tasa mínima de ganancia sobre la inversión que se efectúa, por lo que se espera que esta tasa sea por lo menos igual al costo promedio ponderado que establece la institución de crédito. La TMAR puede ser general o ponderada.

La TMAR tiene dos componentes:

- Tasa Activa (tasa que cobra el banco)
- Premio al riesgo (que se expresa en una tasa)

$$TMAR_{GENERAL} = TASA ACTIVA + TASA DE RIESGO$$

[3.3]

Se ha fijado el Costo de Capital en un 12% en función de la tasa activa que cobra actualmente el banco por la prestación de capital.

La dificultad que tiene la tasa de riesgo no se puede calcular dado que no se tienen datos verificables del comportamiento de cada sector económico y del proyecto. En base a esto se ha establecido como una medida práctica el asumir que el inversionista establecerá un riesgo del 2%.

La TMAR del proyecto es:

$$TMAR = 12\% + 2\% = 14\%$$

### 3.4.3.2. Determinación de la tasa de descuento del inversionista.

La tasa de descuento para el inversionista se denomina también costo ponderado de capital, el cuál depende de la estructura de financiamiento del proyecto.

Para determinar la tasa de descuento del inversionista se debe calcular el Costo Promedio Ponderado del Capital, como se muestra a continuación:

La TMAR es la tasa que toma en cuenta los porcentajes de aportación de la estructura del financiamiento, que en este caso son del 60% y 40% de capital propio y crédito bancario respectivamente.

$$TMAR_{PONDERADA} = (TASA\ ACTIVA + TASA\ DE\ RIESGO) * 60\% + (TASA\ ACTIVA * 40\%)$$

[3.4]

La TMAR <sub>PONDERADA</sub> del proyecto es:

$$TMAR_{PONDERADA} = 13\%$$

### 3.4.3.3. Tasa interna de retorno

La tasa interna de rendimiento (TIR) es la tasa de descuento que permite igualar el valor presente de los flujos netos de efectivo con el valor inicial asociado a un proyecto (tasa más alta que un inversionista podría pagar sin perder dinero), que reduce el valor presente, el valor futuro, o el valor anual equivalente de una serie de ingresos y egresos.

La tasa interna de retorno (TIR) representa la rentabilidad obtenida en proporción directa al capital invertido.

$$\begin{array}{ll} TIR < TMAR & \rightarrow \text{RECHAZO} \\ TIR > TMAR & \rightarrow \text{ACEPTADO} \end{array}$$

La TIR del proyecto es de 59.4 % por lo que el proyecto se considera viable a razón de que de que la tasa interna de retorno es superior a la tasa mínima



aceptable de rendimiento (13%) ya que garantiza que el proyecto esta en capacidad de generar mayor rentabilidad que una inversión alternativa.

#### 3.4.3.4. Valor presente neto

El Valor Presente Neto (VAN) debe aceptarse si su valor es igual o superior a cero, este valor es la diferencia entre todos los ingresos y egresos expresados en moneda actual, el mismo que debe aceptarse si su valor es igual o superior a cero.

$$\begin{array}{l} \text{VPN} < 0 \rightarrow \text{RECHAZO} \\ \text{VPN} \geq 0 \rightarrow \text{ACEPTACIÓN} \end{array}$$

La actualización se presenta en la medida en que se tiene que comparar valores monetarios en el tiempo, es decir, se requiere medir los “cambios” entre gastos presentes e ingresos futuros.

Para Calcular el VAN se tiene la siguiente fórmula:

$$VAN = -I_0 + \sum_{t=1}^n \frac{FFP_t}{(1+K)^t}$$

[3.5]

donde:

VAN = valor presente neto

$I_0$  = inversión inicial

t = número del período

$\sum_{t=1}^n$  = sumatoria del primer período (t) hasta el último período (n).

FFP = flujos de fondos del proyecto

K = tasa de descuento (TMAR)

VAN (con financiamiento) = 114,992.02 USD

#### 3.4.3.5. Periodo de recuperación de la inversión o repago

El plazo de recuperación real de la inversión inicial del presente proyecto, se basa en los flujos que genera en cada periodo de su vida útil. El periodo de recuperación del proyecto será en 3.18 años, tiempo en el cual los ingresos justificarán a los egresos.

**PRI del proyecto = 3.1804**

En un periodo aproximado de 3 años y 2 meses se recupera la inversión realizada, lo cual es conveniente pues cumple con los objetivos del proyecto.

#### *3.4.3.6. Relación Beneficio-Costo*

La relación Beneficio / Costo está representada por la relación:

$$B/C = \frac{\text{Inversión Inicial} + VAN}{\text{Inversión inicial}}$$

[3.6]

**B/C = 6.73**

En donde los ingresos y egresos están determinados de acuerdo al Flujo de Caja. Una relación B/C > 1, implica que los ingresos son mayores a los egresos, por lo que el proyecto es aceptable, para el presente proyecto, la relación beneficio/costo es de 6.73 lo que implica que los ingresos exceden a los egresos.

La razón beneficio costo para el proyecto con financiamiento es de 6.73 dólares, es decir que por cada dólar invertido se genera 6.73 dólares de ingresos netos.

#### *3.4.3.7. Punto de equilibrio*

Se calculó el punto de equilibrio con el objeto de determinar en momento que las ventas cubren los costos, además para determinar las utilidades o pérdidas que tendrá la empresa.

Se aplica la siguiente metodología para obtener el punto de equilibrio:

$$\text{Punto de Equilibrio \%} = \frac{\text{Costos Fijos}}{\text{Ventas} - \text{Costos Variables}} * 100\%$$

[3.7]

$$\text{Punto de Equilibrio}_{\text{unidades}} = \frac{\text{Costos Fijos}}{\text{Precio unitario} - \text{Costo Variable unitario}}$$

[3.8]

$$\text{Punto de Equilibrio}_{\text{valores}} = \frac{\text{Costos Fijos}}{1 - \frac{\text{Costos Variables}}{\text{Ingresos}}}$$

[3.9]

El cálculo del punto de equilibrio se realiza con los valores de la Tabla 3.23 y con las fórmulas mencionadas.

Tabla 3.23  
Punto de Equilibrio

	<b>Costos Fijos (USD)</b>	<b>Costos Variables (USD)</b>
Materiales Directos		43,225
Mano de Obra Directa	2,439	
Materiales indirectos	406	
Depreciación	881	
Suministros	788	
Reparaciones y mantenimiento	44	
Seguros	44	
Imprevistos	56	
Gastos de ventas	551	
Gastos administración, generales	10,270	
Gastos financieros	962	
<b>TOTAL</b>	<b>16,441.31</b>	<b>43,224.91</b>
<b>Ventas</b>	<b>61,800.00</b>	
<b>Punto de Equilibrio (%)</b>	<b>88.51</b>	
<b>Punto de Equilibrio (Unidades) Kg.</b>	<b>30.56</b>	
<b>Punto de Equilibrio (Valores)</b>	<b>54,700.82</b>	

Elaborado por: El autor

El punto de equilibrio se encuentra en 88.51 %, donde las ventas se igualan a los costos tanto fijos como variables. Este porcentaje refleja que se debe alcanzar una producción de 30.56 kilogramos de diluyentes totales con un valor de 54,700.82 USD por ingresos anuales de ventas para por lo menos cubrir los costos en que incurre la empresa en su operación.

Estos datos demuestran que se puede trabajar al 88.51 % y no obtener pérdidas, lo que refleja que es un tanto inseguro para el proyecto debido a que este es un valor de alto riesgo.

#### 3.4.4. ANALISIS DE SENSIBILIDAD

El análisis de sensibilidad presentado en la Tabla 3.24, ayuda al proyecto en la realización del análisis de los factores o variables que son sensibles y afectan el proyecto tanto en el TIR, VAN y relación B/C, para de esta forma controlar las variables susceptibles de cambios.

Tabla 3.24  
Resumen de Sensibilidad

Denominación	Variación %	TIR	VAN	C/B	Evaluación
Aumento de costos de operación	10%	50.70	97,136.32	5.84	SENCIBLE
Disminución de ingresos	-10%	45.40	80,426.24	5.01	SENSIBLE
Aumento M.O.D	10%	59.00	114,187.47	6.69	POCO SENSIBLE
Aumento materiales directos	10%	51.60	98,934.30	5.93	SENCIBLE
Aumento en suministros	10%	59.30	114,699.47	6.72	NO SENSIBLE
<b>NORMAL</b>		<b>59.40</b>	<b>114,992.02</b>	<b>6.73</b>	

Elaborado por: El autor

La Tabla 3.25 presenta un resumen de la evaluación financiera del proyecto, misma que es positiva y justifica la implantación del mismo.

Tabla 3.25  
Resumen Evaluación

<b>Evaluación financiera</b>	<b>Criterio de Evaluación</b>	<b>Valor</b>	<b>Resultado</b>
TMAR %		13	
TIR %	$TIR > TMAR$	59.4	Positivo
VAN (USD)	$VAN > 0$	114,992.02	Positivo
B/C	$B/C > 1$	6.73	Positivo
Repago		3.18	Años
Punto de Equilibrio		88.51	Positivo

Elaborado por: El autor

## CAPITULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSION

La siguiente tabla presenta los resultados obtenidos del análisis físico de los diluyentes elaborados.

Tabla 4.1

Resultados del análisis físico de los diluyentes de semen porcino

Diluyente	Peso gr./100 ml	Concentración mM/l	Densidad relativa	Densidad absoluta gr./ cm <sup>3</sup>	Densidad absoluta Kg. / m <sup>3</sup>	pH	Presión osmótica mOms
TESTIGO 1	4,6867	255,2055	1,0170	1,0245	1024,4900	7,288	273,7102
Experimento 1.1	4,6805	254,6869	1,0180	1,0254	1025,4300	7,186	273,3331
Experimento 1.2	4,7372	263,1299	1,0193	1,0268	1026,7500	7,193	282,3089
TESTIGO 2	6,0027	324,0603	1,0107	1,0181	1018,1400	6,945	347,4663
Experimento 2.1	6,0132	324,2085	1,0140	1,0214	1021,4400	7,137	347,5495
Experimento 2.2	6,0695	332,5654	0,9972	1,0045	1004,4800	7,148	356,5159
TESTIGO 3	5,0648	271,0332	1,0151	1,0226	1022,5900	6,665	290,4536
Experimento 3.1	4,5643	239,8686	1,0138	1,0212	1021,2100	6,960	257,2204
Experimento 3.2	4,7379	252,4219	1,0166	1,0240	1024,0400	6,872	269,9136

Elaborado por: El autor

Como puede observarse en la Tabla 4.1 se obtuvo valores de presión osmótica dentro de los rangos aceptables para la tolerancia de los espermatozoides, como cita GADEA, 2004, en donde expresa que el espermatozoide porcino es capaz de tolerar medios isotónicos y ligeramente hipertónicos comprendidos entre 240 a 380 mOsm.

GADEA et al, 2004 indican que el pH de los diluyentes normalmente utilizados oscila entre 6,5 y 7,2. Por lo tanto el valor de pH obtenido en el presente estudio se encuentra dentro de los rangos señalados por los autores.

Tabla 4.2

Resultados del análisis bacteriológico de los diluyentes de semen porcino

Diluyente	Contaje total	Contaje enterobacterias	Contaje coliformes	Contaje hongos y levaduras
TESTIGO 1	0	0	0	0
Experimento 1.1	0	0	0	0
Experimento 1.2	0	0	0	0
TESTIGO 2	0	0	0	0
Experimento 2.1	0	0	0	0
Experimento 2.2	0	0	0	0
TESTIGO 3	0	0	0	0
Experimento 3.1	0	0	0	0
Experimento 3.2	0	0	0	0

Elaborado por: El autor

Los resultados del análisis bacteriológico de los diluyentes como se muestra en la Tabla 4.2 son adecuados para la utilización de estos, ya que no presentan ningún tipo de contaminación, lo que favorecerá a la conservación del semen.

MINITUBE, 1997, afirma que la inocuidad de los diluyentes antes de uso es un factor de éxito en la preservación del semen.

A continuación se presenta los resultados obtenidos de la evaluación del semen al momento de la colecta en función a la recolección del verraco.

Tabla 4.3

Resultados de la evaluación del semen fresco

V (ml)	C	pH	MM (%)	MI (%)	E.V (%)	E.M (%)	E.A (%)	E.N (%)	HOST (%)	ORT (%)	TRR (° C)
240	265.000.000	7	90	95	91	9	7	93		82	12 - 42

Elaborado por: El autor

donde:

V = volumen

C = concentración, espermatozoides / ml

MM (%) = motilidad en masa

MI (%) = motilidad individual

E.V (%) = espermatozoides vivos

E.M (%) = espermatozoides muertos

E.A (%) = espermatozoides anormales

E.N (%) = espermatozoides normales

HOST (%) = test de endosmosis

ORT (%) = test de resistencia osmótica

TRR ° C = test de termoresistencia

Como se puede apreciar en la Tabla 4.3 el volumen de eyaculado es de 240 ml, la concentración espermática de  $265 \times 10^6$ , motilidad en masa 90 %, motilidad individual 95 %, espermatozoides vivos 91 % y normalidad 93 %; lo que corresponde con lo citado por MINITUBE, 1997: para el volumen 100 – 500 ml, concentración espermática mayores a  $100 \times 10^6$  espermatozoides / ml, motilidad en masa 85 %, motilidad individual 70 % y espermatozoides vivos 80 %.

El semen no presento respuesta a la prueba HOST, esto pudo haberse dado por mala preparación del medio o ya sea por falta de incubación según lo investigado por JEYENDRAN et al, 1989.

El valor ORT corresponde a la categoría 1 de la clasificación de los valores ORT según GARCIA, 1994; presentando un porcentaje de fertilidad de 81,3 %.

SCHILLING et al, 1984 encuentra que los verracos con un valor de ORT por encima de 65 %, se puede predecir que tendrían un buen porcentaje de acrosomas normales y una buena motilidad después de la congelación o conservación. Pero si el valor ORT es menor de 50 %, la calidad no será suficiente. Por lo tanto los resultados para ORT obtenidos se ubican dentro de los encontrados por los autores.



Tabla 4.4  
Resultados del análisis bacteriológico

Examen	Cantidad UFC / ml
Contaje total	27.080,00
Contaje enterobacterias	26.650,00
Contaje coniformes	23.000,00
Contaje hongos y levaduras	25.000,00
Hongos identificados	Trichosporum spp. y Bacillus spp.

Elaborado por: El autor

Como se observa en la Tabla 4.4 los resultados del análisis bacteriológico sobrepasa el limite permitido por la OIE, que es de 5,013 UFC / ml en contaje total. (OIE, 2001)

MIRJYN et al., 1999, expresan que la presencia de bacterias ocasionan efectos negativos sobre los espermatozoides al alterar el plasma seminal, constituyéndolo en una fuente de contaminación para el tracto genital de la hembra. Por otro lado, se reconoce que más de 4,000 colonias de bacterias producen una reducción de la calidad del semen y de su capacidad fertilizante.

No existen datos con los que se pueda establecer comparaciones con los resultados obtenidos de contaje enterobacterias, coliformes hongos y levaduras.

Los resultados obtenidos en la calificación del semen fresco se encuentran dentro de los citados por los autores, como aptos para su dilución y conservación, sin tomar en cuenta que la carga microbiana del semen fresco es elevada, ya que los diluyentes elaborados poseen antibióticos que controlan este crecimiento.

FUENTES, 2004, afirma que la contaminación del semen se produce al momento de la recogida, ya que los testículos y las glándulas accesorias se encuentran libres de contaminación, es por eso que se debe tener extrema higiene y cuidado en el momento de la colecta.

Las siguientes tablas muestran los resultados del análisis porcentual postdilución con los diferentes diluyentes elaborados.

Tabla 4.5  
Resultados del análisis porcentual postdilución con diluyente de corta duración  
(Grupo 1)

<b>Semen fresco</b>	<b>TESTIGO 1</b>	<b>c</b>	<b>Experimento 1.1</b>	<b>c</b>	<b>Experimento 1.2</b>	<b>c</b>
Motilidad individual	95,00%	3	95,00%	3	95,00%	3
Espermatozoides vivos	91,00%	3	91,00%	3	91,00%	3
Espermatozoides muertos	9,00%	3	9,00%	3	9,00%	3
Espermatozoides anormales	7,00%	3	7,00%	3	7,00%	3
Espermatozoides normales	93,00%	3	93,00%	3	93,00%	3
<b>Día 1</b>						
Motilidad individual	92,50%	3	92,50%	3	92,50%	3
Espermatozoides vivos	90,25%	3	89,75%	3	94,25%	3
Espermatozoides muertos	9,75%	3	10,25%	3	5,75%	3
Espermatozoides anormales	6,75%	3	5,75%	3	6,50%	3
Espermatozoides normales	93,25%	3	94,25%	3	93,50%	3
<b>Día 2</b>						
Motilidad individual	77,50%	3	82,50%	3	82,50%	3
Espermatozoides vivos	70,00%	2	85,50%	3	86,00%	3
Espermatozoides muertos	30,00%	2	14,50%	3	14,00%	3
Espermatozoides anormales	7,50%	3	8,50%	3	8,00%	3
Espermatozoides normales	92,50%	3	91,50%	3	92,00%	3
<b>Día 3</b>						
Motilidad individual	10,00%	1	75,10%	3	76,25%	3
Espermatozoides vivos	13,00%	1	76,50%	2	80,10%	3
Espermatozoides muertos	87,00%	1	23,50%	2	19,90%	3
Espermatozoides anormales	14,00%	2	11,00%	2	8,50%	3
Espermatozoides normales	86,00%	2	89,00%	2	91,50%	3
<b>Día 4</b>						
Motilidad individual			62,50%	1	70,00%	2
Espermatozoides vivos			57,00%	1	76,40%	2
Espermatozoides muertos			43,00%	1	23,60%	2
Espermatozoides anormales			12,00%	2	10,00%	3
Espermatozoides normales			88,00%	2	90,00%	3
<b>Día 5</b>						
Motilidad individual			50,00%	1	55,00%	1
Espermatozoides vivos			47,00%	1	53,00%	1
Espermatozoides muertos			53,00%	1	47,00%	1
Espermatozoides anormales			15,00%	2	10,50%	2
Espermatozoides normales			85,00%	2	89,50%	2
<b>Día 7</b>						
Motilidad individual						
Espermatozoides vivos						

Espermatozoides muertos						
Espermatozoides anormales						
Espermatozoides normales						
<b>Día 9</b>						
Motilidad individual						
Espermatozoides vivos						
Espermatozoides muertos						
Espermatozoides anormales						
Espermatozoides normales						
<b>Día 11</b>						
Motilidad individual						
Espermatozoides vivos						
Espermatozoides muertos						
Espermatozoides anormales						
Espermatozoides normales						

Elaborado por: El autor

Durante las 24 horas de conservación el semen diluido con el testigo 1 mantuvo una motilidad de 77,5 % mientras que los experimentos 1.1 y 1.2 presentaron una motilidad de 82,5 %.

Al tercer día se observa un descenso brusco en la motilidad del testigo 1 llegando a un 10 %, siendo este un indicador de mala calidad seminal, por otro lado los experimentos 1.1 y 1.2 siguen presentando una motilidad muy buena con valores de 75,1 % y 76,25 % respectivamente, como se observa en el anexo 4.

A las 96 horas de conservación el experimento 1.2 mantuvo una motilidad buena del 70 %, con una mortalidad del 76,4 %, no siendo así el experimento 1.1 que tuvo un descenso en motilidad alcanzando un 62,5 %, con un total de 57 % de espermatozoides vivos.

MINITUBE, 1997, afirma que valores de motilidad y espermatozoides vivos por encima del 70%, con 10 al 15 % de espermatozoides anormales son aceptables para considerarse un semen diluido de buena calidad.

SERNIENE, 2002, revela que la adición de albúmina bovina reduce las aglutinaciones espermáticas, los daños acrosomales e incrementa su motilidad.

Como se observa en la Tabla 4.5 el diluyente testigo tiene una duración de 2 días con resultados bueno y muy bueno, en lo que se refiere a calificación seminal, mientras que el experimento 1.1 y 1.2 presentan estos mismos resultados al 3 y 4 día respectivamente.

Por lo tanto, se observa que los diluyentes del grupo 1 son aceptables dentro de los rangos de motilidad, espermatozoides vivos y anormales, pero en diferentes tiempos de duración no mayor a 4 días.

No existen datos con los cuales se pueda establecer comparaciones con los resultados obtenidos.

Tabla 4.6

Resultados del análisis porcentual postdilución con diluyente de larga duración  
(Grupo 2)

<b>Semen fresco</b>	<b>TESTIGO 2</b>	<b>C</b>	<b>Experimento 2.1</b>	<b>C</b>	<b>Experimento 2.2</b>	<b>C</b>
Motilidad individual	95,00%	3	95,00%	3	95,00%	3
Espermatozoides vivos	91,00%	3	91,00%	3	91,00%	3
Espermatozoides muertos	9,00%	3	9,00%	3	9,00%	3
Espermatozoides anormales	7,00%	3	7,00%	3	7,00%	3
Espermatozoides normales	93,00%	3	93,00%	3	93,00%	3
<b>Día 1</b>						
Motilidad individual	95,00%	3	95,00%	3	95,00%	3
Espermatozoides vivos	94,25%	3	94,50%	3	94,75%	3
Espermatozoides muertos	5,75%	3	5,50%	3	5,25%	3
Espermatozoides anormales	6,50%	3	7,00%	3	7,25%	3
Espermatozoides normales	93,50%	3	93,00%	3	92,75%	3
<b>Día 2</b>						
Motilidad individual	90,00%	3	92,50%	3	90,00%	3
Espermatozoides vivos	93,50%	3	92,50%	3	94,50%	3
Espermatozoides muertos	6,50%	3	7,50%	3	5,50%	3
Espermatozoides anormales	7,50%	3	6,00%	3	5,50%	3
Espermatozoides normales	92,50%	3	94,00%	3	94,50%	3
<b>Día 3</b>						
Motilidad individual	87,50%	3	85,00%	3	87,50%	3
Espermatozoides vivos	90,50%	3	87,50%	3	88,00%	3
Espermatozoides muertos	9,50%	3	12,50%	3	12,00%	3
Espermatozoides anormales	6,50%	3	6,50%	3	6,00%	3

Espermatozoides normales	93,50%	3	93,50%	3	94,00%	3
<b>Día 4</b>						
Motilidad individual	82,50%	3	82,50%	3	85,00%	3
Espermatozoides vivos	85,50%	3	79,50%	2	85,50%	3
Espermatozoides muertos	14,50%	3	20,50%	2	14,50%	3
Espermatozoides anormales	10,00%	3	8,00%	3	7,00%	3
Espermatozoides normales	90,00%	3	92,00%	3	93,00%	3
<b>Día 5</b>						
Motilidad individual	62,50%	1	77,50%	3	82,50%	3
Espermatozoides vivos	51,00%	1	72,50%	2	83,00%	3
Espermatozoides muertos	49,00%	1	27,50%	2	17,00%	3
Espermatozoides anormales	15,00%	2	9,00%	3	8,00%	3
Espermatozoides normales	85,00%	2	91,00%	3	92,00%	3
<b>Día 7</b>						
Motilidad individual			55,00%	1	72,50%	2
Espermatozoides vivos			54,50%	1	67,00%	1
Espermatozoides muertos			45,50%	1	33,00%	1
Espermatozoides anormales			18,00%	1	11,00%	2
Espermatozoides normales			82,00%	1	89,00%	2
<b>Día 9</b>						
Motilidad individual					56,00%	1
Espermatozoides vivos					51,00%	1
Espermatozoides muertos					49,00%	1
Espermatozoides anormales					20,00%	1
Espermatozoides normales					80,00%	1
<b>Día 11</b>						
Motilidad individual					34,00%	1
Espermatozoides vivos					28,00%	1
Espermatozoides muertos					72,00%	1
Espermatozoides anormales					23,00%	1
Espermatozoides normales					77,00%	1

Elaborado por: El autor

Como puede verse en la Tabla 4.6, los resultados del testigo 2 y de los experimentos 2.1 y 2.2 a los 4 días de conservación, se encuentran de los rangos de calificación buena y muy buena a lo que se refiere a calificación seminal.

Durante los 5 días de conservación el resultado obtenido para los experimentos 2.1 y 2.2 se encuentra dentro de lo descrito por RILLO, 1992, donde expresa que la motilidad del esperma declinó del 79,5 % a un 55, 8 % desde el día de la colecta hasta 7 días después.

GABUNO et al., 1991, demostraron que el semen mantuvo una motilidad por encima del 60 % durante 7 días de conservación.

El promedio total de anomalías en este estudio (7,71 %) durante los 5 días de conservación se mantiene dentro de los rangos descritos por MINITUBE, 1997, donde manifiesta que estos valores no deben ser mayores al 15 %.

Por lo tanto, se observa que los diluyentes del grupo 2 son aceptables dentro de los rangos de motilidad, espermatozoides vivos y anormales, pero en diferentes tiempos de duración superiores a 4 días.

Tabla 4.7

Resultados del análisis porcentual postdilución con diluyente de larga duración  
(Grupo 3)

<b>Semen fresco</b>	<b>TESTIGO 3</b>	<b>c</b>	<b>Experimento 3.1</b>	<b>c</b>	<b>Experimento 3.2</b>	<b>c</b>
Motilidad individual	95,00%	3	95,00%	3	95,00%	3
Espermatozoides vivos	91,00%	3	91,00%	3	91,00%	3
Espermatozoides muertos	9,00%	3	9,00%	3	9,00%	3
Espermatozoides anormales	7,00%	3	7,00%	3	7,00%	3
Espermatozoides normales	93,00%	3	93,00%	3	93,00%	3
<b>Día 1</b>						
Motilidad individual	95,00%	3	95,00%	3	92,50%	3
Espermatozoides vivos	94,00%	3	96,25%	3	94,50%	3
Espermatozoides muertos	6,00%	3	3,75%	3	5,50%	3
Espermatozoides anormales	7,25%	3	4,50%	3	7,00%	3
Espermatozoides normales	92,75%	3	95,50%	3	93,00%	3
<b>Día 2</b>						
Motilidad individual	92,50%	3	90,00%	3	90,00%	3
Espermatozoides vivos	94,00%	3	92,00%	3	93,50%	3
Espermatozoides muertos	6,00%	3	8,00%	3	6,50%	3
Espermatozoides anormales	5,00%	3	5,00%	3	6,00%	3
Espermatozoides normales	95,00%	3	95,00%	3	94,00%	3
<b>Día 3</b>						
Motilidad individual	85,00%	3	87,50%	3	87,50%	3
Espermatozoides vivos	89,00%	3	88,00%	3	87,50%	3
Espermatozoides muertos	11,00%	3	12,00%	3	14,50%	3
Espermatozoides anormales	5,00%	3	9,00%	3	7,00%	3
Espermatozoides normales	95,00%	3	91,00%	3	93,00%	3

<b>Día 4</b>						
Motilidad individual	85,00%	3	82,50%	3	82,50%	3
Espermatozoides vivos	84,00%	3	81,00%	3	84,00%	3
Espermatozoides muertos	16,00%	3	19,00%	3	16,00%	3
Espermatozoides anormales	5,00%	3	8,00%	3	7,00%	3
Espermatozoides normales	95,00%	3	92,00%	3	93,00%	3
<b>Día 5</b>						
Motilidad individual	82,50%	3	80,00%	3	80,00%	3
Espermatozoides vivos	81,00%	3	80,00%	3	82,00%	3
Espermatozoides muertos	19,00%	3	20,00%	3	18,00%	3
Espermatozoides anormales	7,50%	3	8,50%	3	8,50%	3
Espermatozoides normales	92,50%	3	91,50%	3	91,50%	3
<b>Día 7</b>						
Motilidad individual	75,00%	3	75,00%	3	75,00%	3
Espermatozoides vivos	71,00%	2	68,50%	1	73,50%	2
Espermatozoides muertos	29,00%	2	31,50%	1	26,50%	2
Espermatozoides anormales	11,50%	2	13,50%	2	12,50%	2
Espermatozoides normales	88,50%	2	86,50%	2	87,50%	2
<b>Día 9</b>						
Motilidad individual	63,75%	1	70,00%	2	72,50%	2
Espermatozoides vivos	59,00%	1	62,50%	1	70,40%	2
Espermatozoides muertos	41,00%	1	37,50%	1	29,60%	2
Espermatozoides anormales	20,00%	1	18,00%	1	15,00%	2
Espermatozoides normales	80,00%	1	82,00%	1	85,00%	2
<b>Día 11</b>						
Motilidad individual	39,00%	1	53,00%	1	55,00%	1
Espermatozoides vivos	38,30%	1	49,60%	1	50,70%	1
Espermatozoides muertos	61,20%	1	50,40%	1	49,30%	1
Espermatozoides anormales	23,50%	1	20,00%	1	20,00%	1
Espermatozoides normales	76,50%	1	80,00%	1	80,00%	1

Elaborado por: El autor

La Tabla 4.7 muestra los resultados de calificación seminal para el testigo 3 donde muestra que el porcentaje de motilidad, espermatozoides vivos, muertos, anormales y normales hasta el día 5 se encuentran dentro de los rangos muy buenos establecidos en la Tabla 2.5.

Durante los 7 días de conservación se obtuvo variaciones en mortalidad para el experimento 3.1 donde muestra un 31,5 % lo cual es un indicativo de mala calidad seminal, mientras que el testigo 3 y el experimento 3.2 mantienen porcentajes de

29 % y 26,5 % respectivamente, presentando una calificación aceptable para su uso.

PAQUIGNON et al., 1994, utilizando un diluyente de larga duración obtuvo un porcentaje de espermatozoides móviles del 69 % después de 7 días de conservación.

Como puede observarse el porcentaje de motilidad obtenido en el presente estudio (75 %) a los 7 días es superior al porcentaje obtenido por PAQUIGNON et al., 1994 de 69%, con todos los diluyentes del grupo 3.

A los 9 días el experimento 3.2 se mantiene dentro de los límites aceptables de calificación, mientras que el testigo 3 y el experimento 3.1 han decaído de estos.

DEL TORO, et al., 1995, consideran que un 15,2 % de espermatozoides anormales en una muestra de semen diluido son aptos para uso en la inseminación.

Por lo tanto el experimento 3.2 a los 9 días de conservación demuestra ser efectivo para su uso.



## 4.1. DISCUSIÓN GENERAL DE RESULTADOS

Los espermatozoides una vez que son eyaculados requieren de diversos factores para mantenimiento de las estructuras celulares como para la motilidad y la composición de iones intramoleculares. Para cumplir este requerimiento los espermatozoides maduros de cerdo pueden utilizar varios sustratos que ayuden a su conservación.

La práctica comercial habitual, es la de mantener semen de cerdo diluido a temperaturas de 15 a 17 ° C hasta se utilizado en la inseminación artificial.

Los centros de inseminación porcina están muy interesados en la consecución de un diluyente que permita un periodo de preservación del semen más largo que el obtenido con los diluyentes comerciales encontrados en el mercado.

MEDRANO, 2005, expone que los diluyentes de larga duración deben preservar no sólo la viabilidad de la célula, sino además, mantener la motilidad ya que ambos parámetros son muy importantes para que puede efectuarse la fecundación.

Este trabajo se basó en el estudio de la viabilidad del semen manteniendo en 6 diferentes diluyentes optimizados, con diversos cambios en las formulaciones con relación a los diluyentes comerciales, para lograr un periodo de utilización del semen durante 4 a 9 días, que permita un máximo aprovechamiento de los recursos existentes.

Partiendo del conocimiento de que la motilidad espermática está directamente relacionada con la funcionalidad de dichas células y por tanto el patrón de movimiento del espermatozoide puede relacionarse con pruebas convencionales de calidad seminal.

En este estudio, la medición de parámetros generales como: motilidad, porcentaje de espermatozoides vivos, muertos, normales y anormales, así como también el control del pH, arrojaron resultados bastantes similares a los obtenidos por varios autores.

RILLO, 1997, señala que el pH ligeramente ácido de los diluyentes favorece a la conservación por más tiempo debido a que reduce la actividad celular y por que produce la disociación del bicarbonato de sodio en CO<sub>2</sub> que actúa como inhibidor del metabolismo oxidativo.

Por lo que se observa en el presente trabajo que los diluyentes del grupo 3 al presentarse ligeramente más ácidos que los diluyentes del grupo 2 tiene un tiempo de conservación mayor de 2 a 3 días.

GADEA, 2004, destaca que para poder conservar los espermatozoides durante periodos prolongados es necesario que se reduzca la actividad metabólica de estos, mediante la dilución en un medio adecuado y la reducción de la temperatura. El efecto de esta dilución lleva a que determinados compuestos presentes en el plasma seminal estén en muy bajas concentraciones y alteren la viabilidad espermática, es por ello que estas deben ser compensadas con la adición de albúmina sérica bovina, ya que se ha demostrado que esta estimula la motilidad y mejora las tasas de fertilidad del semen conservado.

Los resultados del presente estudio muestran claramente que la adición de albúmina sérica bovina en los experimentos, mantiene niveles de motilidad y porcentaje de acrosomas intactos superiores, tanto en calidad como en tiempo de duración, que los que no contienen dicha proteína. Por lo que lo expuesto coincide con lo citado por GADEA, 2004.

MAQUEDA, 2006, señala que la contaminación bacteriana principalmente produce una serie de alteraciones entre las que se encuentran disminución de la motilidad, aglutinaciones espermáticas, aumento del porcentaje de acrosomas

alterados y una reducción del pH hasta niveles ácidos, que conducen a una reducción de en el tiempo de conservación de las dosis seminales.

Los resultados del presente trabajo muestran claramente que la adición de antibiótico en un 10% extra en los experimentos 1.1, 1.2, 2.1 y 2.2 reduce las alteraciones producidas por contaminación bacteriana.

De nuestros resultados se desprende que la adición de albúmina sérica bovina se ve complementada con el uso de antibiótico, como se puede observar en los experimentos 1.2 y 2.2 los cuales presentan una calificación seminal superior que los experimentos 1.1 y 2.1 que solo contienen un 10 % de antibiótico extra en su formulación.

Con los resultados arrojados en este estudio, se puede comprobar que el experimento 3.1 que tuvo un descenso de un 40 % en HEPES y BSA en su formulación, es significativo para el tiempo de conservación del semen (7 días), en relación al experimento 3.2 que tuvo un descenso del 30% de HEPES y un 20 % BSA, el cual presentó mejor calidad seminal al día 9.

Con estos resultados se pudo establecer que las cantidades de HEPES y BSA en el diluyente testigo 3 son excesivas, puesto que a pesar de la reducción de HEPES, BSA y neomicina sulfato en los experimentos 3.1 y 3.2 estos presentan mejores resultados en calidad seminal y en tiempo de duración que el diluyente comercial.

## **CAPITULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **5.1. CONCLUSIONES**

- El reemplazo de las importaciones de diluyentes de semen de verraco es factible.
- La adición de albúmina sérica bovina en las formulaciones de los diluyentes es un factor clave en el tiempo de duración del semen diluido, obteniendo niveles óptimos de motilidad y porcentaje de normalidad en los espermatozoides.
- Las cantidades de antibiótico utilizadas son suficientes para contrarrestar el efecto de las alteraciones causadas por la contaminación bacteriana.
- La conservación del semen de verraco por más de 4 días permite que la inseminación llegue a lugares de distantes e incluso a sitios de difícil acceso posibilitándose así el intercambio genético por el uso de reproductores probados.

#### **5.2. RECOMENDACIONES**

- Escoger el tipo de diluyente que se va a utilizar dependiendo de la relación entre su precio y calidad, tiempo de transporte y tiempo entre la producción del mismo y la inseminación.

- Realizar estudios sobre la obtención de cristales de albúmina sérica bovina para reemplazar la importación de este y disminuir los costos de producción de los diluyentes.
- Probar los diluyentes en inseminación artificial en cerdas para comprobar tasa de fertilidad y prolificidad de estos.
- Realizar exámenes bacteriológicos seriados después de la dilución del semen para determinar carga bacteriana de estos y eficacia del antibiótico utilizado.

## **BIBLIOGRAFIA**

### **Libros consultados**

- ANDERSON, L.L, Swine, In Reproduction In Farm Animals, De E.F.E. Hafez, 5th edition, Lca. Febiger, Philadelphia, 1999.
- BOIXO, J.C, Valoración Laboratorial de la Calidad Seminal: Correlación con fertilidad. 7mas Jornadas Internacionales de Reproducción Animal, Holanda, 1994.
- CALDERON, O, Primer curso de Inseminación Artificial y Reproducción del Ganado Porcino, Asociación de Ganaderos de la Sierra y Oriente, 1998.
- CASTELLANOS, J, Semen Porcino, Producción, conservación y resultados, Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza, España, 1992.
- COLE, H & CUPPS, P, Reproducción de los animales domésticos, Traducido del francés por Dr. José Gómez Piquei. 8va edición, Suibia, España, 1998.
- CUNNINGHAM, J, Fisiología Veterinaria, 2da edición, Philadelphia, USA, Interamericana-McGraw-Hill, 1997.
- GARCIA, P, El Test de Resistencia Osmótica en Porcinos, I.N.I.A, Área de reproducción animal, España, Séptimas jornadas Internacionales de Reproducción Animal, 1994.
- HAFEZ, E.S.E, Reproducción e Inseminación Artificial en animales, 6ta edición, México, Interamericana-McGraw-Hill, 1993.
- HERMANN, H.A, The Artificial Inseminations and Embryo Transfer of Dairy and Beef Cattle, 8th edition, Interstate Publishers, Illinois, 1994.
- HUGHES, P.E. Y VARLEY, M.A. Reproducción del cerdo, España, Acribia Zaragoza, 1984.
- JARA, Centro de Inseminación Artificial de la Universidad Austral de Chile, tercer curso Internacional sobre producción animal, Universitaria, Chile, 2000.
- KUBUS, Manual de Inseminación Artificial Porcina, Equipo técnico de Kubus, Madrid, España, 1993.
- MANUAL OF BBL, Products and Laboratory Procedures, new edition, 2001.
- MARTINEZ, Roberto, Diplomado en Producción Porcina, Módulo en Reproducción Porcina, Profesor del Departamento de Producción Animal:

- Cerdos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, México, 2006.
- MERCK, SHARP AND DOWN, El manual merck de veterinaria, 4ta edición, Centrum Moyam, Cuba, 1993.
  - MINITUBE, Spermnotes, Volumen III, Issue 2, summer 1999.
  - MINITUBE, Spermnotes, Volumen XI, Issue 4, summer, 2006.
  - PEREZ, Marcos, Conferencias sobre producción espermática, Curso de reproducción porcina, I.N.I.A, España, 1991.
  - PEREZ y PEREZ, F, Reproducción Animal, Inseminación Artificial y Transplante de embriones. 1era edición, España, Científico medica, 1990.
  - RILLO, Martín, Curso Superior de Reproducción Animal, Centro Internacional de altos estudios agronómicos mediterráneos, España, 1994.
  - RODRIGUEZ, H, Niveles de Resistencia de los espermatozoides de Verraco a Condiciones de Stress Osmótico, VI jornadas sobre producción animal, tomo I, España, 2000.
  - SORENSEN, A.M, Reproducción Animal, principios y prácticas, México, Interamericana-McGraw-Hill, 1991.
  - TAKAHASHI, K, UCHIDA, A Kitao, M, Hipoosmotic Swelling Test of Sperm, Department of Obstetrics and Gynecology, Shimane Medical University, Japan, 1990.
  - ZAPATA, Edmundo, Probabilidad y Estadística Aplicadas a la Ingeniería, McGRAW-HILL, México, 2005.

### **Tesis consultadas**

- CAICEDO y PEREZ, Sincronización de Celo e Inseminación Artificial en Cerdas, Quito, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 1992.
- CAMACHO, Diego y MOREJON, Edison, Valoración de la Calidad de Semen Porcino Utilizando el Test de Endósmosis y Test de Resistencia Osmótica, Quito, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2000.

- DEL ÁLAMO, Montserrat, Efecto del Fotoperíodo sobre la Calidad Seminal de Verraco Destinados a Inseminación Artificial, Barcelona, Universidad Autónoma de Barcelona, Departamento de Cirugía y Medicina Animal, 2003.
- MEDRANO, Antonio, Estudio del Metabolismo Energético de los Espermatozoides Porcinos y su Repercusión en el Diseño de Diluyentes Optimizados para la Conservación de Semen Refrigerado, Bellaterra, Universidad Autónoma de Barcelona, Facultad de Veterinaria, 2005.
- MORENO García, David Francisco, Comparación de 3 Diferentes Catéteres en Inseminación Artificial en Porcinos, Quito, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2000.
- MUÑOZ y PAUCAR, Comparación de tres Diluyentes para Semen Bovino, Quito, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2005.
- RIVERA Villalba, Ruth Elizabeth, Evaluación de 3 diluyentes en semen porcino para uso a 96 y 129 horas posteriores a la colecta, Quito, Universidad Central del Ecuador, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 1997.

### **Paginas Web consultadas**

- BADILLO, M, Normas existentes para la congelación de semen en Colombia, [en línea], 2005, Facultad de Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Tolima, [fecha de consulta: 11 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.unicordoba.edu.co/revistas/revistamvz/mvz102/1027.pdf+Normas+existentes+para+la+congelaci%C3%B3n+de+semen+en+Colombia&hl=es&gl=ec&ct=clnk&cd=1&lr=lang\\_es](http://www.unicordoba.edu.co/revistas/revistamvz/mvz102/1027.pdf+Normas+existentes+para+la+congelaci%C3%B3n+de+semen+en+Colombia&hl=es&gl=ec&ct=clnk&cd=1&lr=lang_es)>
- CALLE, Jonathan, [en línea], Inseminación Intrauterina Profunda en Cerdos, 1998, [fecha de consulta: 17 de junio del 2006]. Disponible en: <[kogi.udea.edu.co/talleres/Produccion%20porcina/inseminacion%20intrauterina%20profunda.doc](http://kogi.udea.edu.co/talleres/Produccion%20porcina/inseminacion%20intrauterina%20profunda.doc)>
- CMA, Colegio María Auxiliadora, [en línea], Partes de un espermatozoide, Ecuador, 2006, [fecha de consulta: 2 de junio del 2006]. Disponible en: <[cma.aldeae.net/mauxiliadora/aldea/fotos.asp?which=/images/espermatozoide.jpg&which1=Partes%20de%20un%20espermatozoide](http://cma.aldeae.net/mauxiliadora/aldea/fotos.asp?which=/images/espermatozoide.jpg&which1=Partes%20de%20un%20espermatozoide)>



- FUENTES, Armando, [en línea], Resultados Experimentales en el Manejo Reproductivo del Verraco, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias (CENIAP) e Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), [fecha de consulta: 25 de octubre del 2006]. Disponible en: <[www.ceniap.gov.ve/public/verraco/verracomonografia.htm](http://www.ceniap.gov.ve/public/verraco/verracomonografia.htm)>
- GADEA, Joaquín, [en línea], Los Diluyentes de Inseminación Artificial Porcina, España, 2004, Departamento de Fisiología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia, [fecha de consulta: 21 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.agroinformacion.com/leer-contenidos.aspx?articulo=1055](http://www.agroinformacion.com/leer-contenidos.aspx?articulo=1055)>
- GUIDO, María Carolina, [en línea], Morfología Espermática, 2003, [fecha de consulta: 10 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.mcguido.vet.br/morfologia\\_espermatca.htm](http://www.mcguido.vet.br/morfologia_espermatca.htm)>
- HANSEN, De-cuadro, [en línea], Agrupación de Consultores en Tecnologías del cerdo, Avances en Inseminación Artificial Porcina, 1999, [fecha de consulta: 10 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.acontece.com.ar/0125.htm](http://www.acontece.com.ar/0125.htm)>
- INTA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, [en línea], Reproducción, 2003, [fecha de consulta: 16 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.inta.gov.ar/pergamino/investiga/grupos/porcinos/reprod.htm](http://www.inta.gov.ar/pergamino/investiga/grupos/porcinos/reprod.htm)>
- LE COZ, Philippe, Inseminación Artificial, [en línea], La página del cerdo, 2005, [fecha de consulta: 23 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.3tres3.com/inseminacion\\_artificial/index.php?id\\_ficha=37&PHPSESSID=6602e46eea83941fb0056330e0ae0a4f](http://www.3tres3.com/inseminacion_artificial/index.php?id_ficha=37&PHPSESSID=6602e46eea83941fb0056330e0ae0a4f)>
- MAQUEDA, Lourdes, Engormix, [en línea], Conservación de la calidad del semen: diluyentes, empaques, temperatura y transporte, 2006, [fecha de consulta: 2 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.engormix.com/s\\_articles\\_view.asp?AREA=POR&art=113](http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?AREA=POR&art=113)>
- MOISA, Sonia, [en línea], Inseminación Artificial Porcina, 2001, [fecha de consulta: 19 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.manant.unt.edu.ar/Departamentos/pro\\_animal/General\\_I/Monografias/Monograf%C3%ADa\\_SoniaMoisa.pdf+TECNICA+DE+INSEMINACION+ARTIFICIAL+PORCINA&hl=es&gl=ec&ct=clnk&cd=51&lr=lang\\_es](http://www.manant.unt.edu.ar/Departamentos/pro_animal/General_I/Monografias/Monograf%C3%ADa_SoniaMoisa.pdf+TECNICA+DE+INSEMINACION+ARTIFICIAL+PORCINA&hl=es&gl=ec&ct=clnk&cd=51&lr=lang_es)>
- OIE, Organización Mundial de Sanidad Animal, [en línea], Semen de bovinos y pequeños rumiantes, Parte 3, Capítulo 3.2, Anexo 3.2.1, 2006, [fecha de

consulta: 25 de octubre del 2006]. Disponible en: <[www.oie.int/esp/normes/chapitre\\_3.2.1.pdf](http://www.oie.int/esp/normes/chapitre_3.2.1.pdf)>

- RAGUE, Pedro, Estudio de la pareja estéril, [en línea], Servicio de Medicina de la Reproducción , Departamento de Obstetricia y Ginecología, Universidad de Dexeus, Barcelona, 1999, [fecha de consulta: 2 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.schering.com](http://www.schering.com)>
- RODRIGUEZ-MARTINEZ, [en línea], Evaluación del semen congelado: Métodos tradicionales y de actualidad, 2000, [fecha de consulta: 4 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.ivis.org](http://www.ivis.org)>
- ROJAS, Alejandra, [en línea], Inseminación Artificial, Gobierno de Chile, INIA, 2000, [fecha de consulta: 19 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.inia.cl/intihuasi/index\\_archivos/inseminacion.pdf](http://www.inia.cl/intihuasi/index_archivos/inseminacion.pdf)>
- SCIELO, The Scientific Electronic Library Online, [en línea], Morfología do Espermatozóiide, Brasil, 2004, [fecha de consulta: 2 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.scielo.br/img/fbpe/jbpml/v38n1/a07fig02.gif](http://www.scielo.br/img/fbpe/jbpml/v38n1/a07fig02.gif)>
- VILLA, María, [en línea], Inseminación Artificial en cerdas, Argentina, 2005, [fecha de consulta: 17 de junio del 2006]. Disponible en: <[www.agrobit.com/Info\\_tecnica/Ganaderia/insem\\_artif/GA000001in.htm](http://www.agrobit.com/Info_tecnica/Ganaderia/insem_artif/GA000001in.htm)>

## ANEXOS

### ANEXO 1

#### UNIDADES

##### Masa

- **Kg.** = kilogramos
- **gr.** = gramos

##### Concentración

- **mol** = molécula gramo, (g / peso molecular)
- **mmol** = milimol
- **M** = molaridad, (moles / L)
- **mM** = milimolar (milimoles / L)
- **mOsm / Kg** = osmolalidad
- **N** = normalidad

##### Volumen

- **L** = litro
- **ml** = mililitro
- **mm<sup>3</sup>** = milímetro cúbico
- **ul** = microlitro

##### Temperatura

- **° C** = grado Centígrado
- **° F** = grado Fahrenheit

##### Presión

- **atm** = atmósfera
- **osmol** = unidad de presión osmótica, ( 1 osmol = 22,4 atm)
- **mOsm** = miliosmol

**Ángulos**

- ° = grado

**Velocidad**

- rpm = revoluciones por minuto

**Carga microbiana**

- UFC = unidades formadoras de colonias

## ANEXO 2

## FORMATO DE HOJAS DE REGISTRO PARA CALIFICACION SEMINAL

<b>EXAMEN DE SEMEN FRESCO</b>
-------------------------------

<b>FECHA:</b>	<b>HORA:</b>	<b>SEMEN:</b>
<b>MACHO #</b>	<b>NOMBRE:</b>	<b>RAZA:</b>
<b>CODIGO:</b>	<b>PESO:</b>	<b>PROPIETARIO:</b>

**Control macroscópico**

<b>Volumen</b>	
<b>Color</b>	
<b>Olor</b>	
<b>Ph</b>	

**Control microscópico**

	<b>#</b>	<b>%</b>
<b>Motilidad en masa</b>		
<b>Motilidad individual</b>		
<b>Concentración</b>		
<b>Espermas vivos</b>		
<b>Espermas muertos</b>		
<b>Total formas anormales</b>		
<b>Total formas normales</b>		

<b>Test de endósmosis HOST</b>		
<b>Test de resistencia osmótica ORT</b>		
<b>Termoresistencia</b>		

## ANEXO 3

**FORMATO DE HOJAS DE REGISTRO PARA EXAMEN CONVENCIONAL DE  
SEMEN POSTDILUCIÓN**

<b>EXAMEN DE SEMEN POSTDILUCION</b>
-------------------------------------

<b>FECHA:</b>	<b>HORA:</b>	<b>DILUYENTE:</b>
---------------	--------------	-------------------

**Control macroscópico**

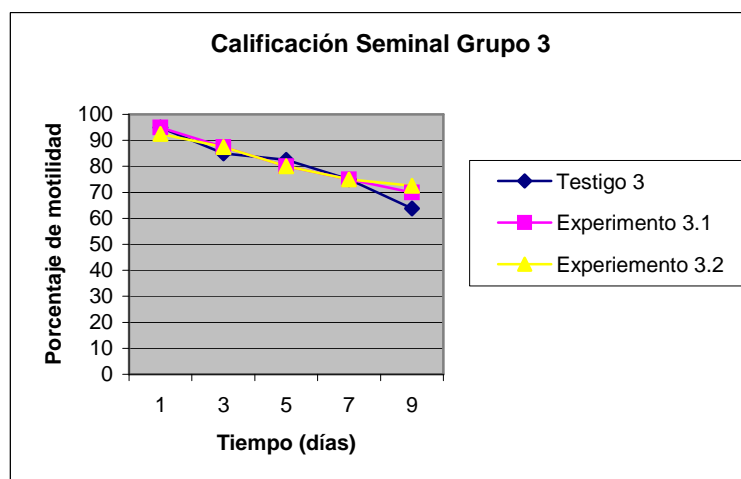
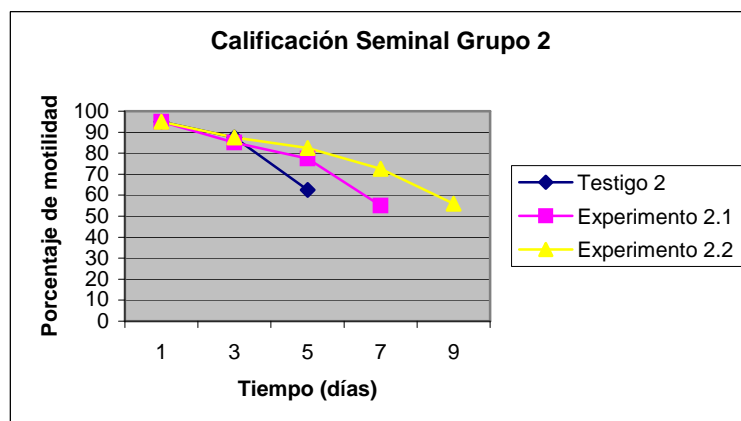
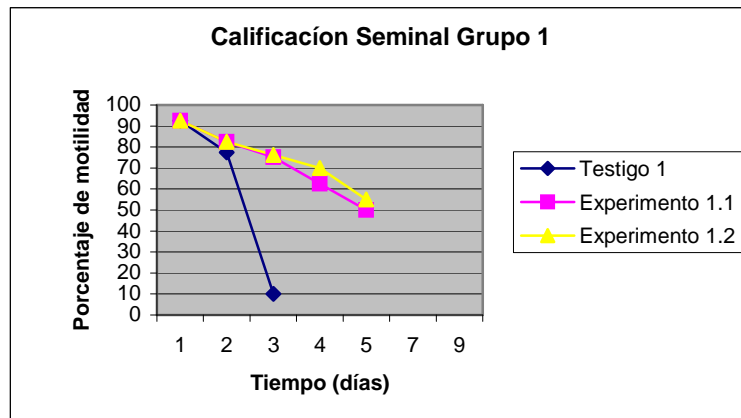
<b>Olor</b>	
<b>pH</b>	

**Control microscópico**

	<b>#</b>	<b>%</b>
<b>Motilidad individual</b>		
<b>Espermas vivos</b>		
<b>Espermas muertos</b>		
<b>Total formas anormales</b>		
<b>Total formas normales</b>		

## ANEXO 4

## CALIFICACIÓN DE SEMEN POSTDILUCIÓN



## ANEXO 7 ELABORACIÓN DEL DILUYENTE

### Pesaje



### Mezcla



## ANÁLISIS FÍSICO

### pH



### Densidad absoluta y relativa





### Presión osmótica



## ANEXO 8

### COLECTA Y EVALUACIÓN DEL SEMEN

#### Colecta



### CALIFICACIÓN SEMINAL

#### Exámenes microscópicos



## Concentración



## pH



## Termoresistencia



## HOST y ORT





ANEXO 10  
FLUJO DE OPERACIÓN

Tasa de inflación anual (BCE)	4.00%									
	Años									
Concepto	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Materiales directos		43,224.91	47,028.70	50,348.37	54,606.40	58,346.57	63,107.65	67,314.83	70,007.42	72,807.72
Mano de obra directa		2,439.15	2,536.71	2,638.18	2,743.71	2,853.46	2,967.59	3,086.30	3,209.75	3,338.14
Materiales indirectos		406.00	441.73	472.91	512.90	548.03	592.75	632.27	657.56	683.86
Depreciación		670.90	670.90	670.90	670.90	670.90	670.90	670.90	670.90	670.90
Amortizaciones		210.00	210.00	210.00	210.00	210.00	210.00	210.00	210.00	210.00
Arriendos		660.00	718.08	768.77	833.78	890.89	963.59	1,027.83	1,068.94	1,111.70
Suministros		787.50	856.80	917.28	994.86	1,063.00	1,149.74	1,226.39	1,275.44	1,326.46
Reparación y mantenimiento		43.78	45.53	47.35	49.24	51.21	53.26	55.39	57.60	59.91
Seguros		43.78	45.53	47.35	49.24	51.21	53.26	55.39	57.60	59.91
Imprevistos		56.44	61.41	65.74	71.30	76.18	82.40	87.89	91.41	95.07
<b>Total Costo de Operación</b>		<b>48,542.44</b>	<b>52,615.38</b>	<b>56,186.84</b>	<b>60,742.34</b>	<b>64,761.45</b>	<b>69,851.14</b>	<b>74,367.18</b>	<b>77,306.63</b>	<b>80,363.66</b>
Ventas										
Experimento 1.2		57	59	61	64	65	68	70	70	70
Experimento 2.2		218	262	349	437	524	611	699	786	873
Experimento 3.2		56	59	61	63	65	68	69	69	69
Precio de venta Experimento 1.2 / Kg.		158.56	164.90	171.50	178.36	185.50	192.92	200.63	208.66	217.00
Precio de venta Experimento 2.2 / Kg.		148.51	154.46	160.63	167.06	173.74	180.69	187.92	195.44	203.25
Precio de venta Experimento 3.2 / Kg.		361.32	375.77	390.80	406.43	422.69	439.60	457.18	475.47	494.49
Ingresos por ventas Experimento 1.2 (USD)		9,000.00	9,792.00	10,483.20	11,369.78	12,148.53	13,139.85	14,015.84	14,576.48	15,159.53

Ingresos por ventas Experimento 2.2 (USD)		32,400.00	40,462.57	56,108.10	72,940.53	91,029.79	110,449.47	131,277.09	153,594.19	177,486.62
Ingresos por ventas Experimento 3.2 (USD)		20,400.00	22,195.20	23,761.92	25,771.50	27,536.67	29,783.66	31,769.24	33,040.01	34,361.61
<b>Ingresos por ventas</b>		<b>61,800.00</b>	<b>72,449.77</b>	<b>90,353.22</b>	<b>110,081.81</b>	<b>130,714.99</b>	<b>153,372.99</b>	<b>177,062.17</b>	<b>201,210.68</b>	<b>227,007.77</b>
Utilidad Bruta		13,257.56	19,834.40	34,166.38	49,339.47	65,953.53	83,521.85	102,694.99	123,904.05	146,644.11
Gasto de ventas		550.80	572.83	595.75	619.58	644.36	670.13	696.94	724.82	753.81
Gasto administrativo		10,270.41	10,681.23	11,108.48	11,552.82	12,014.93	12,495.53	12,995.35	13,515.16	14,055.77
Gasto intereses		962.46	810.96	641.28	451.24	238.39	0.00	0.00	0.00	0.00
Utilidad antes de participación e impuestos		1,473.88	7,769.38	21,820.88	36,715.84	53,055.86	70,356.18	89,002.70	109,664.07	131,834.53
Participación trabajadores 15%		221.08	1,165.41	3,273.13	5,507.38	7,958.38	10,553.43	13,350.41	16,449.61	19,775.18
Impuesto a la renta 25%		313.20	1,650.99	4,636.94	7,802.12	11,274.37	14,950.69	18,913.07	23,303.61	28,014.84
<b>Utilidad Neta</b>		<b>939.60</b>	<b>4,952.98</b>	<b>13,910.81</b>	<b>23,406.35</b>	<b>33,823.11</b>	<b>44,852.07</b>	<b>56,739.22</b>	<b>69,910.84</b>	<b>84,044.51</b>
(+) Depreciación y Amortización		940.90	940.90	940.90	940.90	940.90	940.90	940.90	940.90	940.90
(-)Financiamiento										
Cuota periódica		2,224.96	2,224.96	2,224.96	2,224.96	2,224.96	0	0	0	0
Principal		1,262.50	1,414.00	1,583.68	1,773.72	1,986.57	0	0	0	0
<b>EXCEDENTE</b>		<b>618.00</b>	<b>4,479.88</b>	<b>13,268.03</b>	<b>22,573.53</b>	<b>32,777.44</b>	<b>45,792.97</b>	<b>57,680.12</b>	<b>70,851.74</b>	<b>84,985.41</b>

ANEXO 11  
FLUJO FINANCIERO NETO

Concepto	Años									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>TOTAL INVERSIÓN</b>	20,051.21	0.00	0.00	600.00	0.00	300.00	600.00	0.00	0.00	13,573.99
<b>EXCEDENTE</b>		618.00	4,479.88	13,268.03	22,573.53	32,777.44	45,792.97	57,680.12	70,851.74	84,985.41
<b>FLUJO NETO</b>	-20,051.21	618.00	4,479.88	12,668.03	22,573.53	32,477.44	45,192.97	57,680.12	70,851.74	98,559.41



## LISTA DE TABLAS

### TABLA

- 1.1 Clasificación en función al grado de reacción en la cola
- 1.2 Clasificación de los valores ORT
- 1.3 Composición de los diluyentes de inseminación artificial porcina más utilizados
- 2.1 Formulas de diluyentes de semen porcino
- 2.2 Porcentajes de variación en diluyentes testigos
- 2.3 Medios de cultivo utilizados para enumeración de microorganismos
- 2.4 Calificación de movimiento en masa y motilidad individual
- 2.5 Códigos y calificaciones para el semen diluido
- 3.1. Descripción de equipo
- 3.2 Cantidad de materia prima
- 3.3 Mano de obra directa
- 3.4 Personal administrativo
- 3.5 Carga fabril
- 3.6 Costos de Maquinaria y Equipo
- 3.7 Otros Activos
- 3.8 Depreciación de Activos
- 3.9 Activos Intangibles
- 3.10 Amortizaciones
- 3.11 Capital de trabajo (Trimestral)
- 3.12 Inversión Total
- 3.13 Costos de Producción
- 3.14 Costos de producción Experimento 1.2
- 3.15 Costos de producción Experimento 2.2
- 3.16 Costos de producción Experimento 3.2
- 3.17 Costos de Distribución
- 3.18 Proyección producción y ventas
- 3.19 Proyección de Egresos
- 3.20 Estructura del Financiamiento de la Inversión.
- 3.21 Crédito a largo plazo
- 3.22 Estado de pérdidas y ganancias
- 3.23 Punto de Equilibrio
- 3.24 Resumen de Sensibilidad
- 3.25 Resumen Evaluación
- 4.1 Resultados del análisis físico de los diluyentes de semen porcino
- 4.2 Resultados del análisis bacteriológico de los diluyentes de semen porcino
- 4.3 Resultados de la evaluación del semen fresco
- 4.4 Resultados del análisis bacteriológico
- 4.5 Resultados del análisis porcentual postdilución con diluyente de corta duración (Grupo 1)
- 4.6 Resultados del análisis porcentual postdilución con diluyente de larga duración (Grupo 2)
- 4.7 Resultados del análisis porcentual postdilución con diluyente de larga duración (Grupo 3)

## LISTA DE FIGURAS

### FIGURA

- 1.1 Partes de un espermatozoide
- 1.2 Diferentes formas de endosmosis
- 1.3 Grados de reacción endosmótica
- 1.4 Técnica de inseminación artificial