

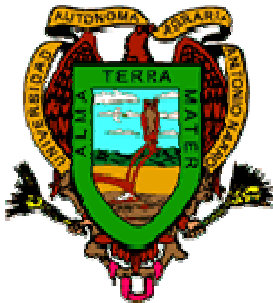
**CALIDAD ESPERMÁTICA POSCONGELACION DE CAPRINOS SAANEN
EN DOS DIFERENTES EPOCAS DEL AÑO**

MIGUEL ANGEL NIETO ESCORCIA

T E S I S

**Presentada como requisito parcial para
Obtener el grado de**

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN ZOOTECNIA**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
DIRECCIÓN DE POSTGRADO
PROGRAMA DE ZOOTECNIA**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Octubre de 2010

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIRECCION DE POSGRADO

CALIDAD ESPERMATICA POSCONGELACION DE CAPRINOS SAANEN
EN DOS DIFERENTES EPOCAS DEL AÑO

TESIS
POR

MIGUEL ANGEL NIETO ESCORCIA

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y aprobada como
requisito parcial, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EN ZOOTECNIA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor Principal _____

Dr. Fernando Ruiz Zarate

Asesor _____

Dr. Ramiro López Trujillo

Asesor _____

Dr. Roberto García Elizondo

Dr. Jerónimo Landeros Flores
Director de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. 14 de Octubre de 2010

AGRADECIMIENTOS

A DIOS:

Agradezco a Dios por darme la oportunidad de continuar mis estudios.

A mi Familia:

Agradezco a mis Familia, Esposa e Hija por su apoyo incondicional y motivación para seguir adelante.

A mis Asesores

Por su amistad y por aceptar trabajar conmigo y apoyarme en el transcurso de esta investigación.

Dr. Fernando Ruíz Zarate

Dr. Ramiro López Trujillo

Dr. Roberto García Elizondo

A los Técnicos Académicos

Gracias por su ayuda y amistad para el desarrollo de esta investigación.

LCN Laura Marisela Lara López – Laboratorio Producción Animal

Carlos Alberto Arévalo Sanmiguel – Laboratorio Nutrición Animal

IAF Ma. De Lourdes Hernández Hernández – Laboratorio Fisiotecnia

A la Unión de Caprinocultores del Estado de Guanajuato.

Quesos Oly, Familia Oliveros (Apaseo el Grande, Guanajuato)

DEDICATORIA

A mis Padres:

MIGUEL ANGEL NIETO M.

Y

MARIA LUISA ESCORCIA G.

A mis Hermanos:

SERGIO EDUARDO

Y

MARISSA NALLELY

A mi Esposa:

LEIZZA DOLORES DE NIETO

A mi Hija:

LEIZZA AMELIE

COMPENDIO

CALIDAD ESPERMATICA POSCONGELACION DE CAPRINOS SAANEN EN DOS EPOCAS DEL AÑO.

Por

Miguel Ángel Nieto Escorcía

MAESTRIA EN CIENCIAS EN ZOOTECNIA

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO COAHUILA. 14 OCTUBRE 2010

Fernando Ruiz Zarate -Asesor Principal-

Palabras clave: Caprinos, calidad seminal, congelación, semen, época.

Se colectó eyaculado con vagina artificial de cinco machos caprinos de raza Saanen durante dos épocas del año: E1 (Abril, días crecientes) y E2 (Diciembre, días decrecientes). En cada eyaculado se evaluaron: volumen, concentración, viabilidad, motilidad masal y progresiva en estado fresco (EF) y poscongelado (EP). El diluyente utilizado fue a base de Tris (Hidroximetil-Aminometano), glucosa, ácido cítrico, yema de huevo, glicerol, penicilina y estreptomycin. El envasado del semen fue en pajillas de 0.5 ml a 200 millones de espermatozoides. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial, 2 épocas de colección de semen (abril y diciembre) X 2 estados físicos

de eyaculado (fresco y postcongelado), para detectar diferencia ($P < 0.05$) entre época para semen fresco y poscongelado, obteniendo mayor volumen 2 ml, E2 vs. 1.1 ml, E1, mayor concentración 322.5, E2 vs. 216.8, E1 ($\times 10^7$). La viabilidad espermática no fue afectada por la época 55.7%, E1 vs. 53.3%, E2; pero si por el estado 83.3%, EF vs. 25.7% EP, en estado fresco 84.6%, E2 vs. 82% E1; en estado poscongelado 27.1%, E2 vs. 24.6% E1. La motilidad masal presento efecto de época 57.5%, E2 vs. 54.6%, E1 y efecto de estado 84.4%, EF vs. 27.7%, EP, en estado fresco 85.6%, E2 vs. 83.1%, E1, en estado poscongelado 29.3%, E2 vs. 26.9%, E1. La motilidad progresiva presento efecto de época 52.9%, E2 vs. 49.8%, E1 y efecto de estado 80.7%, EF vs. 22%, EP, en estado fresco 82.6%, E2 vs. 78.8%, E1, en estado poscongelado 23.2%, E2 vs. 20.8%, E1. Se concluyo que en la latitud 20° N, la época y el estado físico determinan la calidad seminal del macho cabrío.

ABSTRACT

FREEZING QUALITY OF SAANEN GOAT SPERMATOZOA IN TWO REPRODUCTIVE SEASONS OF THE YEAR

By

Miguel Angel Nieto Escorcía

MASTER OF SCIENCE IN ZOOTECHNY

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO COAHUILA. 14 OCT 2010

Fernando Ruiz Zarate -Advisor-

Key Words: Goat, semen quality, frozen, semen, season.

Ejaculates from five male Saanen goats were collected by artificial vagina for two seasons: S1 (April-increasing days) and S2 (December- decreasing days). Volume, concentration, viability, mass motility and progressive motility in fresh and after freezing ejaculate were evaluated. Tris (hydroxymethyl-aminomethane), glucose, citric acid, egg yolk, glycerol, penicillin and streptomycin diluents were used. A completely random design with factorial arrangement, 2 periods of semen collection (April and December) X 2 physical stages (fresh and freezing) was used for significant ($P < 0.05$) among season for fresh semen and freezing, obtaining greater volume 2 ml, S2 vs. 1.1 ml, S1; the

greatest concentration 322.5, S2 vs. 216.8, S1 (x10⁷); sperm viability is not affected by the season 55.7%, S1 vs. 53.3%, S2, but if it is affected by the stage 83.3% EF vs. 25.7% PE, fresh 84.6%, S2, vs. 82%, S1 and freezing stage 27.1%, S2 vs. 24.6% S1. Mass motility presented a season effect 57.5%, S2 vs. 54.6%, S1 and effect of stage 84.4%, FE vs. 27.7%, PE, fresh 85.6%, S2 vs. 83.1%, S1, freezing stage 29.3%, S2 vs. 26.9%, S1. Motility has a season effect 52.9%, S2 vs. 49.8%, S1 and effect of stage 80.7% FE vs. 22%, PE, Fresh 82.6%, S2 vs. 78.8%, S1 and freezing stage 23.2%, S2 vs. 20.8%, S1. At latitude 20 ° N, the season and physical condition determine goat semen quality.

ÍNDICE

1.INTRODUCCION.....	1
2.-REVISION DE LITERATURA.....	3
Pubertad.....	3
Estacionalidad.....	3
Nutrición.....	5
Factores sociales.....	5
Estrés.....	6
Temperatura.....	6
La inseminación artificial y la importancia de la calidad espermática.....	6
El Método de recolección afecta la calidad espermática.....	7
Evaluación de las características seminales.....	8
El Volumen.....	8
La Densidad.....	9
El Color.....	9
Análisis de motilidad de los espermatozoides.....	9
Movilidad individual de los espermatozoides.....	10
La viabilidad espermática.....	12
Concentración espermática.....	12
Dilución de semen de caprino.....	14
Congelación de semen.....	15
Descongelación.....	18
Hipótesis.....	18
3. ARTICULO.....	19
Resumen.....	19
Introducción.....	21
Materiales y Métodos.....	22
Resultados y Discusión.....	27
Conclusiones.....	31
4. LITERATURA CITADA.....	35

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
2.1	Evaluación para Motilidad Espermática Masal	11
2.2	Evaluación para Motilidad Espermática Individual	11
2.3	Referencia entre consistencia y Concentración Espermática	14
3.1	Volumen, concentración espermática, motilidad masal, motilidad progresiva, viabilidad de semen fresco y poscongelado en dos épocas del año, abril (fotoperiodo creciente) y diciembre (fotoperiodo decreciente) en machos cabríos adultos Saanen en corral	27
3.2	Efecto de Época y Estado sobre las características seminales	28

1. INTRODUCCION

En los caprinos la inseminación artificial comenzó a desarrollarse alrededor de 1930, a la par con métodos de congelación de semen, sin embargo; en la década de los 60's y a pesar de que ya existían técnicas para congelar semen, esta opción aun no se consideraba conveniente para la reproducción caprina con fines productivos (Fraser, 1962).

En la actualidad la utilización de semen congelado es vital para un programa de mejoramiento genético así como de la explotación intensiva de machos con características físicas y productivas superiores, los cuales deben ser seleccionados, evaluados y comparados para su mejor aprovechamiento (Gibbons, 2002).

La congelación o criopreservación de semen, tiene gran relevancia ya que permite mejorar la sanidad, optimizar el uso de los machos, acelerar el programa de mejora genética, homogeneidad en las producciones y la disponibilidad de los registros genealógicos (Hafez, 1996).

En los caprinos, la utilización de la criopreservación es limitada en comparación con otras especies, debido, entre otros factores al porcentaje de pérdida entre 10% y 50% en la motilidad progresiva y el número de espermatozoides vivos poscongelación (Valencia *et al.*, 1994). La estacionalidad de los caprinos está relacionada con la latitud del lugar donde se originó la raza y donde actualmente se encuentra. Entre más alta sea la latitud (más alejada del ecuador), más estacional será la raza o tipo racial y por lo tanto será más sensible a los cambios del fotoperiodo (Hafez, y Hafez, 2002). Cuando los caprinos se encuentran en una latitud menor a 30°, los machos no presentan variaciones en la producción de células espermáticas (Vázquez, 1998).

Por lo anterior, se plantearon los siguientes objetivos:

General. Evaluar la calidad seminal de caprinos Saanen en dos épocas del año con fotoperiodo creciente (abril) y fotoperiodo decreciente (diciembre); dos estados físicos, fresco y poscongelado

Específico

1. Evaluar los efectos de época y estado físico del semen sobre la concentración espermática, porcentaje de motilidad masal, motilidad progresiva y viabilidad espermática.
2. Determinar la mejor época de criopreservación del semen caprino.

2. REVISION DE LITERATURA

Los factores más importantes que afectan la calidad seminal de los machos caprinos son: la pubertad, la estacionalidad, la nutrición, los factores sociales, el estrés y la temperatura ambiental.

Pubertad

El termino pubertad se refiere al comienzo de la vida reproductiva. En los machos cabrios, la pubertad o inicio de la actividad sexual depende de la raza, la época de nacimiento, bioestimulación y el régimen alimenticio. En buenas condiciones de alimentación, la edad a la pubertad fluctúa entre 4 a 8 meses. En algunas razas la estación del año puede modificar la edad de la primera eyaculación. Los machos cabrios de zonas templadas muestran una marcada estacionalidad reproductiva. En algunas razas como Alpina y Saanen, la actividad sexual se presenta durante el otoño y el invierno (Delgadillo, 1999).

En los machos cabrios la producción de espermatozoides es continua, pero presenta modificaciones cuantitativas y cualitativas a través del año. El volumen del eyaculado se incrementa durante la estación sexual, pero disminuye la concentración de espermatozoides. En consecuencia el número de espermatozoides por eyaculado (concentración por volumen) varía de 2.8×10^9 en marzo a 4.6×10^9 en octubre (Hafez, 1996).

La calidad del semen está determinada por el porcentaje de espermatozoides vivos y su motilidad progresiva. La libido disminuye durante la primavera y el verano, pero se incrementa durante el otoño y el invierno (Delgadillo, 1999).

Estacionalidad

En machos cabríos la estacionalidad reproductiva es controlada principalmente por el fotoperiodo. Bajo las variaciones naturales de la duración del día, la actividad sexual de los machos inicia durante los días decrecientes del otoño y termina durante los días crecientes de la primavera. En condiciones controladas en las que se manipula la duración del día, los días cortos estimulan la actividad sexual y los días largos la inhiben (Galina, 2006). Sin embargo, días largos deben de preceder a los cortos para estimular machos cabríos a la actividad sexual durante descanso estacional (Delgadillo *et al.*, 2002).

La luz es el factor ambiental más potente que afecta los ciclos reproductores de los animales con apareamiento estacional. La glándula pineal es la responsable de este fotoperiodo. La información fótica se trasmite de las células retínales del ojo, a lo largo de los nervios ópticos, a los núcleos supraquiasmáticos, que se localizan en el hipotálamo anterior. La información de este núcleo se transmite por el núcleo paraventricular a los ganglios cervicales superiores, mediante conductos del sistema nervioso autónomo y después finalmente a la glándula pineal. (Swenson y Reece, 1999).

La respuesta a la señal en la glándula pineal es la liberación de la hormona melatonina, la cual tiene una función importante en la modificación de la actividad hipotálamo-hipófisis-gónada. La melatonina indica la duración del fotoperiodo y la respuesta del sistema reproductor varía de acuerdo a la especie (Swenson y Reece, 1999).

El fotoperiodo controla la secreción de la melatonina, hormona que es secretada por la glándula pineal solamente durante la fase oscura. La melatonina estimula la secreción de la GnRH, hormona responsable de la estimulación de las gónadas a través de la hormona luteinizante (LH) y el folículo estimulante (FSH). Sin embargo, ya que los animales poseen un ritmo

endógeno de reproducción, no existe ninguna duración del día que tenga efectos estimulantes o inhibidores permanentes. El papel del fotoperíodo es sincronizar este ritmo de reproducción (Swenson y Reece, 1999).

La estacionalidad en la reproducción es uno de los factores limitantes en la producción caprina. Los machos caprinos localizados en zonas mayores a 35° latitud norte muestran una marcada estacionalidad. En razas como la Saanen y la Alpina la actividad sexual se presenta en otoño y en invierno (Galina, 2006).

Las variaciones en la calidad espermática son marcadas según la latitud en que se encuentran ubicadas. Por encima de los 40° latitud norte las variaciones son muy marcadas (Pérez, 1992). Entre 30° y 40° latitud norte se aprecian variaciones estacionales; con mayor producción en verano y otoño, aunque ya no son tan evidentes en zonas situadas en menos de 30° de latitud norte (Delgadillo, 1999).

En las latitudes de 25° y 30° norte existen diferencias en cuanto a la duración y la época del año en la que ocurre la actividad sexual. En machos criollos de la Comarca Lagunera en el norte de México que se encuentra localizada a 26° latitud norte se manifiesta una moderada estacionalidad de la actividad sexual y la producción espermática. En el norte de México la estación sexual de los machos inicia en mayo y termina en diciembre (Galina, 2006).

Nutrición

La nutrición esta íntimamente relacionada con la reproducción. La reproducción comparada con otras funciones fisiológicas como la termorregulación, la locomoción, el crecimiento, el mantenimiento celular, ocupa escasa prioridad para el organismo. Por lo tanto, cuando el consumo de energía es restringido, la función reproductiva se interrumpe antes de comprometer a otras funciones vitales (Galina, 2006).

Factores sociales

Las interacciones sociales son capaces de modificar el inicio de la actividad reproductiva. Las relaciones sociales entre machos y hembras tienen

un papel importante en el inicio y mantenimiento de la actividad sexual. En los animales que están alojados unisexualmente existe un incremento en el tiempo para eyacular, una completa inhibición del libido pueden ser observados en algunos machos (Galina, 2006).

Estrés

El estrés puede bloquear la ciclicidad, debido a que un incremento de las concentraciones de corticosteroides causan una reducción en la respuesta de la pituitaria a la GnRH (Galina, 2006).

Temperatura

Las altas temperaturas ambientales disminuyen la libido, la producción espermática e incrementan las anomalías de los espermatozoides. Estos efectos pueden ser más marcados en las razas transferidas a los climas calidos y húmedos que las razas locales (Galina, 2006).

La inseminación artificial y la importancia de la calidad espermática

La inseminación artificial (IA) es una tecnología comúnmente utilizada en todo el mundo debido a su simplicidad y la relación costo beneficio. Actualmente en los programas de IA en pequeños rumiantes se utiliza tanto semen fresco diluido como semen congelado. El uso de semen congelado ofrece numerosas ventajas tales como el mejoramiento genético del rebaño, la diversidad de sementales, mayor control de bioseguridad, facilidad de transporte y un ingreso económico por la venta de material genético (Cabrera, 2008).

Es de suma importancia evaluar la calidad espermática de los espermatozoides en cada uno de los sementales para determinar la capacidad reproductiva de los machos, pero estos exámenes solo pueden realizarse en explotaciones intensivas con ayuda de la infraestructura. La heredabilidad de los rasgos reproductivos en las caprinos es baja (.08 a 20%), por lo que el mejoramiento de la eficiencia reproductiva a través de la selección resulta impracticable. La alternativa más viable para incrementar la eficiencia reproductiva

vía la manipulación genética de los animales es la explotación del vigor híbrido (Mellado, 2008).

La IA puede ser con semen fresco, refrigerado o congelado. Cada dosis de semen debe contener una cantidad mínima indispensable de espermatozoides para poder fecundar al o los óvulos de cada cabra, esta concentración es de 100×10^6 y de 200×10^6 de espermatozoides para semen congelado. Considerado que la calidad espermática varía, se puede obtener unas 10 o 20 dosis de un eyaculado (Evans y Maxwell, 1987).

El Método de recolección afecta la calidad espermática

Para colectar el semen es necesario contar con un área destinada específicamente con este fin, de manera que los sementales se habitúen al trabajo que se realiza en ellas (Cebón, 1998).

Existen dos técnicas en la recolección de semen siendo estas el electroeyaculador y la vagina artificial; utilizadas tanto en caprinos como en otras especies. En el ganado caprino el método de recolección de semen debe ser siempre la vagina artificial, siendo este un método sencillo y no estresante para el animal, ya que el macho establece su ritmo sexual normal y esto varía con cada individuo. La utilización del electroeyaculador deberá reservarse para situaciones imprevistas o en animales con alto valor genético (García *et al*, 1993).

La vagina artificial es un instrumento que proporciona el estímulo térmico (temperatura) y mecánico (presión) necesarios para producir la eyaculación. La vagina artificial consiste de un tubo externo rígido aislante con una funda interna de látex flexible la cual debe sobresalir para ser sujeta al tubo rígido, de tal manera que se forme una cavidad para que sea llenada de aire y agua entre 48°C y 50°C de tal forma que la temperatura en las paredes de látex flexible se mantengan a temperatura 42°C para estimular al macho. En el otro extremo de la vagina artificial se coloca un tubo cónico que está graduado en mililitros, el eyaculado debe ser protegido de los rayos solares y mantenida a temperatura de 37.5°C para evitar el choque térmico sobre los espermatozoides. No es

recomendable un segundo eyaculado del mismo macho en el mismo tubo colector debido al efecto negativo del plasma seminal sobre la supervivencia de los espermatozoides caprinos (Chemineau *et al.*, 1991).

El electroeyaculador puede ser utilizado cuando los machos rechazan la vagina artificial, o por que no pueden ser adiestrados a ella o bien cuando se encuentran imposibilitados para la monta. El volumen del eyaculado mediante esta técnica es mayor que con la vagina artificial, sin embargo su concentración es menor (Cebón, 1998).

El semen colectado por medio del electroeyaculador puede ser contaminado con orina durante la colección y algunos machos no pueden responder a una segunda o tercera estimulación, además la elevada cantidad de plasma seminal obtenida por este método provoca una disminución de la viabilidad de los espermatozoides poscongelación (Evans y Maxwell, 1987).

Evaluación de las características seminales

El objetivo de evaluar el semen es determinar la utilidad de un eyaculado y el valor reproductivo de un semental (Chemineau *et al.*, 1991).

Dentro de las pruebas para determinar la capacidad fertilizante del semen se encuentran la estimación del volumen, pH, olor, color, el porcentaje de motilidad, concentración, porcentaje de espermatozoides sin alteraciones morfológicas y el porcentaje de viabilidad. El volumen del eyaculado varía según el individuo, la edad y la raza a la que pertenecen. Junto con la concentración y la motilidad espermática se determinan los títulos de dilución a utilizar (Milanes *et al.*, 2002).

El Volumen

La medición del volumen del eyaculado se realiza directamente en el tubo cónico colector. El rango normal de volumen de un eyaculado se encuentra entre 0.8 ml y 2 ml. En general los animales jóvenes y los de menor talla producen menos volúmenes de semen. La elevada frecuencia de eyaculación reduce el volumen promedio y cuando se obtienen dos eyaculados

consecutivamente el segundo suele tener menor volumen. El que este sea reducido no es perjudicial, pero si se acompaña de baja concentración espermática (Evans y Maxwell, 1987).

El volumen se puede medir gracias a que los tubos de recolecta pueden ser de vidrio y graduados o con mas seguridad utilizando una pipeta graduada. El volumen promedio depende de la edad y condición del animal, frecuencia de recolecciones. El volumen de cada eyaculado disminuye con la frecuencia de las recolecciones dentro del mismo día o a lo largo de varias fechas. Cuando el semen se obtiene por electroeyaculación el volumen es dependiente de la frecuencia y de la intensidad administrada (Hafez, 1996).

La Densidad

La consistencia del semen depende de la relación de contenido con sus constituyentes, espermatozoides y plasma seminal. Las muestras de semen de alta consistencia contienen más espermatozoides que las que contienen menor consistencia o son más acuosas (Hafez, 1996).

El Color

El semen normal tiene un color desde blanco hasta amarillo, con una apariencia cremosa. El color puede ayudar a determinar alguna patología o anomalía como la presencia de sangre o pus (Chemineau *et al.*, 1991).

El semen debe tener aspecto opaco y relativamente uniforme, indicativo de la alta concentración de células espermáticas. Las muestras translucidas contienen pocos espermatozoides. La muestra debe de estar libre de pelo, suciedad y otros contaminantes. Debe desecharse el semen con aspecto lechoso o con fragmentos de otros materiales (Evans y Maxwell, 1987).

Análisis de motilidad de los espermatozoides

Es un procedimiento fácil y rápido de obtener, requiere de una observación microscópica del semen con un aumento de 10X colocando una gota del semen en un portaobjetos tan pronto como este sea colectado, para

obtener una buena apreciación del movimiento en masa del semen. El movimiento de masa disminuye rápidamente en los 15 a 20 segundos después dependiente de la temperatura ambiente. Para evitar la influencia de la temperatura ambiental deben precalentarse los portaobjetos utilizados a una temperatura entre 37°C a 38°C (Evans y Maxwell, 1987).

La motilidad se valora mediante la característica onda de movimiento del semen o según la proporción de la motilidad progresiva de los espermatozoides en una muestra. La valoración de la onda sirve para determinar la motilidad del semen fresco (Hafez, 1996).

La evaluación se realiza tomando en cuenta una escala subjetiva desde cero hasta cinco; también puede usarse una escala en porcentaje desde cero hasta cien por ciento correspondiendo los valores en el Cuadro 2.1.

Se coloca una gota de semen sobre un portaobjetos templado (37°C) y se observa con pocos aumentos. La estimación de la motilidad de los espermatozoides se hace sobre la potencia de onda según si está o no presente dicho movimiento. En base a una clasificación de 0 a 5 puntos: Cuadro 2.1 (Hafez, 1996).

Movilidad individual de los espermatozoides

Se determina utilizando una gota de semen colocada en un portaobjetos y un cubreobjetos para examinarse en un microscopio. El aumento debe ser de 200X y el portaobjetos debe calentarse entre 37°C a 38°C. Se cuentan 150 espermatozoides realizando una apreciación visual del movimiento, se deben de tomar en cuenta el desplazamiento lineal y los movimientos laterales y el resultado se expresa en porcentaje. Como referencia de movimiento se utiliza el cuadro 2.2 tomando la escala de 0 a 5; el 0, es sin movimiento y el 3 es aceptable y 5 excelente.

Cuadro 2.1.- Evaluación para Motilidad Espermática Masal

Valor	Clase	Descripción
5	Muy Buena	Es una muestra densa, con ondas de movimiento muy rápidas. El 90% o más de los espermatozoides son activos.
4	Buena	La muestra es buena cuando tiene movimientos vigorosos, pero las ondas y los remolinos no son tan rápidos como los de valor 5. Alrededor del 70%-85% son activos.
3	Regular	Son muestras de clase regular solo aparecen ondas de movimiento lento. El 45%-65% son espermatozoides activos.
2	Pobre	Son de clase pobre cuando no aparecen ondas, aunque se observan movimientos de espermatozoides. Solo viven el 20%-40% de las células espermáticas
1	Muy pobre	Se presentan muy pocos espermatozoides (alrededor de un 10%) presentan signos de vida, pero con movimientos débiles.
0	Muertos	Ningún espermatozoide presenta movimiento. Análisis si existió una posible contaminación o posible patología.

(Hafez, 1996)

Cuadro 2.2- Evaluación para Motilidad Espermática Individual

Valor	Descripción
5	Desplazamiento recto y rápido de los espermatozoides.
4	Desplazamiento rápido, algunos espermatozoides presentan trayectoria recta, otros presentan trayectoria circular.
3	Los espermatozoides presentan un movimiento curvilíneo sin temblores.
2	Desplazamiento lento, temblor, movimientos desorganizados, algunos espermatozoides se mueven muy rápido.
1	Desplazamiento muy lento o ausente, temblor del espermatozoide, oscilación de la cola.
0	Sin desplazamiento de los espermatozoides

(Hafez, 1996)

La viabilidad espermática

El examen morfológico del semen es una prueba de control de calidad. Cada eyaculado posee una serie de espermatozoides anormales, pero si la porción de estos es muy alta entonces es un semen de baja calidad (Evans y Maxwell, 1987).

El examen rutinario de morfología es una tinción de eosina-nigrosina, compuesto por: Eosina (soluble en agua) 1.67 g, Nigrosina (soluble en agua) 10.0 g, Citrato sódico 2.90 g y agua destilada 100 ml.

Concentración espermática

El propósito de esta medición es determinar el número de espermatozoides por mililitro de semen, usando la mínima cantidad de semen posible durante el proceso. La concentración de semen en el caprino varía de 2 a 6 miles de millones por mililitro (Hafez, 1996).

Existen varios métodos para medir la concentración de un eyaculado:

- Conteo exacto de los espermatozoides en un hemocitómetro.

El hemocitómetro o contador de células sanguíneas está formado por una cámara de conteo, un cubre objetos y dos pipetas. El diseño de la cámara de conteo contiene 16 cuadros divididos por líneas dobles o triples. Cada pipeta posee una parte capilar y un bulbo. La pipeta tiene una perla de vidrio, de color rojo, dentro del lóbulo. La pipeta tiene graduaciones de 0.5 y 0.1 en la parte capilar y la marca 101 por encima del bulbo (Evans y Maxwell, 1987).

- Conteo por medio de densidad óptica con el espectrofotómetro.

Esta es una técnica efectiva pues reúne rapidez y sencillez. El principio general es medir la densidad óptica (a una longitud de onda de 550 nanómetros) de la solución salina con formol conteniendo los espermatozoides y comparándola con un control sin espermatozoides. Antes de realizar la primera medición, es necesario calibrar el espectrofotómetro mediante la obtención de una curva estándar usando de 20 a 25 muestras de diferentes

concentraciones conocidas de espermatozoides, previamente determinadas por medio del conteo del hemocitómetro (Chemineau *et al.*,1991).

- Conteo por medio de aparatos especializados como lo son el Spermacue™ o el sistema CASA (*Sperm Class Analyzer, SCA*®)

Son medios por los cuales se puede obtener la concentración espermática rápidamente y de diferentes especies animales. Al mismo tiempo puede determinar el porcentaje de espermatozoides vivos, porcentaje de espermatozoides muertos, daño acrosomal y tipos de movimientos del espermatozoide (Dorado, 2007).

- Conteo por medio de la relación que existe entre concentración y la consistencia del semen.

El examen de la consistencia es un método rápido y simple que estima la concentración del semen (Cuadro 2.3).

La determinación exacta del número de espermatozoides por mililitro de semen es importante, en virtud de tratarse de una característica seminal muy variable. Cuando se combina con el volumen de eyaculado, esta cantidad de espermatozoides determina cuantas hembras pueden ser inseminadas con el numero optimo de células espermáticas. El recuento se realiza por medio de un hemocitometro (Hafez, 1996)

La concentración de espermatozoides puede ser evaluada por la apariencia del semen o el método que se encuentre disponible. El método del hemocitometro es lento pero seguro (Hafez, 1996).

Cuadro 2.3.- Referencia entre consistencia y Concentración Espermática

Valor	Consistencia	No. Espermatozoides($\times 10^9$) por ml	
		Media	Valores Extremos
	Cremosa		
5	Espesa	5	4.5-6.0
4	Cremosa	4	3.5-4.5
3	Cremosa Tenue	3	2.5-3.5
2	Lechosa	2	1.0-2.5
1	Nebulosa	0.7	0.3-1.0
0	Clara Acuosa		Insignificante

(Hafez, 1996)

Dilución de semen de caprino

En la IA el semen puede ser utilizado en forma fresca, refrigerada o congelada. Sin embargo el semen en forma fresca mantenido a 30°C sea diluido o no debe ser empleado inmediatamente después de su colección ya que la motilidad y viabilidad de los espermatozoides bajo esas condiciones se reduce drásticamente en corto tiempo. Mientras el semen conservado en refrigeración puede mantenerse por más de 48 horas (Evans y Maxwell, 1987).

La dilución de semen en el ganado caprino se realiza de forma general en un medio fisiológico o tampón fosfato. El plasma seminal del macho cabrio contiene una enzima fosfolipasa o lecitinasa, producida por las Glándulas de Cowper o Glándulas Bulbouretrales, que al contacto con los fosfolípidos de la yema de huevo utilizada como crioprotector, produce una hidrólisis de los mismos con incremento de ácidos grasos y lisolecitina responsable durante la refrigeración de la disminución de la motilidad de los espermatozoides (Vázquez, 1998).

Los diluyentes de semen mas utilizados son a base de Tris (Hidroximetil-Aminometano) o citrato como buffer, glucosa o fructuosa como fuente de energía y penicilina o estreptomicina como agentes antimicrobianos; además deben contener agentes protectores de las membranas celulares durante el enfriamiento a 5°C para posteriormente realizarse el proceso de congelación (Gibbons *et al.* 2002).

Congelación de semen

El semen de los caprinos puede ser conservado en fresco hasta 72 horas con 60.1% de motilidad y un porcentaje de espermatozoides vivos de 71.1%, en refrigeración puede durar hasta 6 días con buenos parámetros de fecundación (Evans y Maxwell, 1987), pero la técnica más utilizada es el congelamiento con resultados aceptables. Las tres formas de conservación de semen: fresco, refrigerado y congelado cumplen con un objetivo principal, el de mantener las características fecundantes del espermatozoide; la decisión de seleccionar un método para conservar el semen depende de las necesidades de cada hato, del equipo y de la tecnología disponible, así como el personal capacitado (Valencia *et al.*, 1994).

La congelación o criopreservación del semen en caprinos es un proceso complejo debido a todas las interacciones entre los factores como son el método de congelación, la composición del diluyente, la dilución o proporción del semen en el diluyente, la conservación de la temperatura para evitar choque térmico y el método de empajillado (Farshad, 2009).

La congelación del semen es en nitrógeno líquido el cual tiene una temperatura de -196 °C; esto detiene las reacciones metabólicas de los espermatozoides, así el semen se puede conservar por mucho tiempo y asegurar así la disponibilidad del semental. El problema en la criopreservación no es la habilidad de mantener el espermatozoide viable a -196 °C, sino el daño que ocurre durante el congelamiento, al pasar la célula espermática por una zona de temperatura crítica entre -15 °C y -60 °C durante la cual se producen fenómenos como son la formación de cristales intracelularmente y

extracelularmente, deshidratación y distorsión de la membrana (Vázquez *et al.*, 1998).

Una de las dificultades en la congelación del semen de caprino que encontró Roy (1957) es la presencia de una fosfolipasa en el plasma seminal que hidroliza la lectina de la yema del huevo produciendo una lisolectina que es tóxica para los espermatozoides. El eyaculado puede ser sometido a centrifugación con un medio fisiológico de lavado, para eliminar el plasma seminal; pero con una serie de desventajas en el proceso de centrifugación por los efectos claramente negativos en la viabilidad del espermatozoide y sobre todo la pérdida del 10% de células espermáticas por cada centrifugación (Dunner y Vázquez, 1991).

Gracia *et al.* (1998) analizaron tres períodos de recolección coincidiendo en la calidad del semen caprino congelado y posteriormente descongelado. Se mejoró en todos los aspectos conforme aumentó la proporción de yema de huevo en el diluyente de congelación. Esto concuerda con otros estudios en los que se ha comprobado que los beneficios que reporta la adición de yema de huevo en los diluyentes de congelación, superan con creces los inconvenientes que podrían derivarse de ello (Dunner, 1993).

En cuanto a la tolerancia de la proporción de yema de huevo en los diluyentes de congelación varía en función del período de recolección, la raza y la cantidad de líquido seminal (Gracia *et al.*, 1997).

Durante el período de congelación-descongelación existe una disminución importante del 20% al 50% en la viabilidad espermática, debido principalmente al efecto de la temperatura mejor conocido como choque térmico, a la presión osmótica; debido a que ocurren cambios intracelulares y extracelulares importantes además, de que se altera la permeabilidad de la membrana. El daño causado a los espermatozoides en el proceso de congelación afecta disminuyendo la motilidad progresiva y la viabilidad del semen esto afecta su capacidad fecundante (Thomas *et al.* 1998).

La refrigeración del semen a 5°C reduce el metabolismo de los espermatozoides con el subsiguiente ahorro de reservas energéticas, siempre y cuando se proteja a las células contra bajas temperaturas mediante la adición de compuestos orgánicos como la yema de huevo o la leche descremada, que aumentan la resistencia de la membrana a los cambios de permeabilidad e impiden que los espermatozoides acumulen calcio al alterarse el sistema de intercambio de membrana (Palomino, 2007).

Esta comprobado que al reducir la temperatura por debajo de 20°C el espermatozoide comienza a presentar cambios biofísicos, principalmente en la membrana plasmática pero no es sino cuando se somete a temperaturas entre 0°C y los -60°C que el espermatozoide sufre los efectos de descompensación iónica y de líquidos suficientemente grave para causar choque térmico (Palacios, 1994).

La yema de huevo presenta alto peso molecular y una baja densidad de la fracción lipoproteína, lo que brinda protección al espermatozoide contra el choque por frío, además reduce la pérdida de enzimas acrosomales y previene cambios degenerativos en el acrosoma durante el almacenamiento líquido (Cabrera, 2008).

Al iniciar la criopreservación de semen se deben tener claros que el objetivo es mantener los siguientes requerimientos y propiedades de un espermatozoide para fertilizar.

- 1.- El Metabolismo para llevar acabo la producción de energía para sus funciones.
- 2.- Las proteínas necesarias para la sobrevivencia dentro del aparato reproductor femenino y para la adhesión al ovocito en el momento de la fertilización.
- 3.- Las enzimas acrosomales útiles para la penetración al ovocito.
- 4.- La capacidad de movimientos progresivos (Palacios, 1994).

Durante el proceso de criopreservación se produce una disminución aproximada de hasta un 50% en la viabilidad espermática, debido

principalmente al efecto de la temperatura y a la presión osmótica, ocurriendo cambios en la organización morfológica de las células, tales como la permeabilidad, composición lipídica de las membranas espermáticas y el líquido intracelular (Cabrera, 2008).

La temperatura del nitrógeno líquido es de -196°C a estas temperaturas no hay reacciones bioquímicas, ni energía térmica dentro de la célula, aun más, no hay evidencia de que existan cambios de índole genético. Estas reacciones solo pueden ser detenidas a temperaturas menores de -130°C (Palacios, 1994).

Descongelación

La descongelación de las pajillas debe realizarse de forma rápida, en baño María a 60°C durante 6 segundos, dejándolas a continuación a temperatura ambiente para que adquieran grados de recuperación del cambio de estado (Vázquez, 1998).

La forma lenta y más utilizada para descongelar el semen es en baño María a 37.5°C por 15 segundos (Lebouf, 2000).

Hipótesis

En Apaseo El Grande, Guanajuato en la parte central de México, situado a 20°N , la fotosensibilidad en pequeños rumiantes es mínima, a tal grado de que no hay cambios en la calidad espermática del macho cabrío. Además, las variables que determinan calidad serán mayores en semen fresco que en semen poscongelado, pues con este proceso se pierde viabilidad espermática.

3. ARTICULO

CALIDAD ESPERMATICA POSTCONGELACION DE CAPRINOS SAANEN EN DOS DIFERENTES EPOCAS DEL AÑO.

POST FREEZING QUALITY OF SAANEN GOAT SPERMATOZOA IN TWO
DIFERENT SEASONS OF THE YEAR

Miguel Angel Nieto Escorcía¹, Fernando Ruiz Zarate², Ramiro López Trujillo³,
Roberto García Elizondo².

RESUMEN

Se colectaron eyaculados de 5 sementales de raza Saanen por medio de vagina artificial y se evaluó la calidad espermática en estado fresco y postcongelación; en dos épocas del año: abril (días crecientes) y diciembre (días decrecientes) tomando en cuenta las siguientes

¹ Estudiante de postgrado, Programa zootecnia. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Saltillo, Coah., 25315. nietodeer@hotmail.com.

² Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Saltillo, Coah., 25315. Departamento de Producción Animal.

³ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro 1923, Saltillo, Coah., 25315. Departamento de Nutrición y Alimentos.

características: volumen, concentración, viabilidad, motilidad masal y progresiva. Se utilizo un diluyente de base Tris-Yema de huevo y el semen se diluyo en una proporción de 1:4. Se envaso en pajillas de 0.5 ml con una concentración promedio de 200 millones de espermatozoides moviles. Las pajillas se congelaron en vapores de nitrógeno líquido y se descongelaron a 37°C/15 seg. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial (colección en 2 épocas de año y 2 estados físicos del semen), para detectar diferencia ($P < 0.05$) entre época para semen fresco y poscongelado, obteniendo mayor volumen 2 ml, E2 vs. 1.1 ml, E1, mayor concentración 322.5, E2 vs. 216.8, E1 ($\times 10^7$). La viabilidad espermática no fue afectada por la época 55.7%, E1 vs. 53.3%, E2; pero si por el estado 83.3%, EF vs. 25.7% EP, en estado fresco 84.6%, E2 vs. 82% E1; en estado poscongelado 27.1%, E2 vs. 24.6% E1. La motilidad masal presento efecto de época 57.5%, E2 vs. 54.6%, E1 y efecto de estado 84.4%, EF vs. 27.7%, EP, en estado fresco 85.6%, E2 vs. 83.1%, E1, en estado poscongelado 29.3%, E2 vs. 26.9%, E1. La motilidad progresiva presento efecto de época 52.9%, E2 vs. 49.8%, E1 y efecto de estado 80.7%, EF vs. 22%, EP, en estado fresco 82.6%, E2 vs. 78.8%, E1, en estado poscongelado 23.2%, E2 vs. 20.8%, E1. Se concluyo que en la latitud 20° N, la

época y el estado físico determinan la calidad seminal del macho cabrío.

Palabras clave: Calidad seminal, semen, caprinos, diluyente, periodo, congelación.

INTRODUCCION

La criopreservación o congelación de semen, tiene gran relevancia ya que permite mejorar la sanidad, optimizar el uso de los machos, acelerar el programa de mejora genética, homogeneidad en las producciones y la disponibilidad de los registros genealógicos (Hafez, 1996).

El semen de los caprinos puede ser conservado en fresco hasta 72 hr con 60.1% de motilidad y un porcentaje de espermatozoides vivos de 71.1%, en refrigeración puede durar hasta 6 días con buenas características para la fecundación (Evans y Maxwell, 1987), pero la técnica más utilizada es el congelamiento con resultados aceptables (Valencia *et al.*, 1994).

El problema en la criopreservación es el daño que ocurre durante el congelamiento, al pasar la célula espermática por una zona de temperatura crítica entre -15°C y -60°C durante la cual se producen fenómenos como son la formación de cristales intracelularmente y

extracelularmente, deshidratación y distorsión de la membrana (Dunner, 1991).

En los caprinos la criopreservación es de uso limitado en comparación con otras especies, debido, entre otros factores el porcentaje de pérdida del 10% al 50% en la motilidad progresiva y el número de espermatozoides vivos poscongelación (Valencia *et al.*, 1994).

En Apaseo El Grande, Guanajuato a 20° N, donde se llevó a cabo el presente trabajo, la estacionalidad en pequeños rumiantes es mínima o no se presenta. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es evaluar las características de la calidad seminal en dos épocas del año y dos estados físicos seminales, la calidad espermática postcongelación en verano cuando existe mayor exposición de horas luz y en invierno cuando existe menor exposición a la horas luz. Se comparó el volumen, concentración, porcentaje de motilidad masal, porcentaje de motilidad progresiva y porcentaje de viabilidad para determinar si existe una mejor época de criopreservación del semen.

MATERIALES Y METODOS

Localización

La investigación se desarrolló en el municipio de Apaseo el Grande (100° 41' 07'' O y 20° 32' 37'' N) en el

estado de Guanajuato, con altitud de 1,767 m. El clima es templado, con temperatura máxima de 37.1 °C y mínima de 0.9 °C. La precipitación anual es de 606.1 mm (INEGI, 2000).

Manejo de los sementales

Se utilizaron cinco machos de raza Saanen de 3.5 a 4.5 años de edad en condición corporal de 3.5 a 4 (escala 1 a 5). Los animales fueron desparasitados internamente y confinados en corrales individuales de 3x3 m² provisto de sombras, comedero, bebedero. La alimentación fue a base de heno de alfalfa y ensilaje de maíz. Además, se les proporcionó, a libre acceso, minerales comerciales.

Recolección y evaluación del semen

La recolección de semen se hizo con vagina artificial (IMV, Francia), previo estímulo por hembras en celo. Previamente se realizó una revisión del pene y testículos en busca de alguna posible patología (Chemineau *et al.*, 1991) y una limpieza del área prepucial de material contaminante y de pelos circundantes, una vez que el macho eyaculo en la vagina artificial, la muestra de semen se recibió en un tubo cónico graduado y se agregó una tercera parte de diluyente (Evans y Maxwell, 1987). En el laboratorio se colocaron las muestras en baño María a 36.5 °C. Evaluándose: volumen espermático (ml), motilidad masal

(%), motilidad progresiva (%) y espermatozoides vivos (%) (Gracia *et al.*, 1998).

El volumen del eyaculado se evaluó directamente en el tubo cónico colector. La concentración del semen (número de espermatozoides por mililitro, en una dilución de 1:10) se realizó con un contador de células espermáticas automático (Spermacue™). La motilidad masal (%) se evaluó colocando en una gota de semen sobre un portaobjetos templado (37°C) y se observó con un objetivo de 10X; la estimación de la motilidad espermática se hizo observando la potencia de onda de acuerdo si estaba o no presente dicho movimiento, en base a la clasificación de 0 a 5 puntos del Cuadro 2.1 (Hafez, 1996).

La motilidad progresiva individual (%) se determino microscópicamente en una gota de semen con citrato de sodio al 2.8%. Se utilizo un aumento de 200X y el portaobjetos se calentó a 37-38 °C. La apreciación visual se realizo en 150 espermatozoides en movimiento, tomando en cuenta el desplazamiento la lineal constante.

La viabilidad espermática (%) se estimo vía morfológica con tinción de eosina-nigrosina, compuesta por: 1.67 g de eosina (soluble en agua), 10 g de nigrosina (soluble en agua), 2.9 g de citrato sódico y 100 ml de agua destilada (Evans y Maxwell, 1987).

Se colocaron 1-2 gotas de colorante y una gota de semen, sobre el extremo del portaobjetos. Se mezclaron y por medio de un barrido se extendió, observaron y contaron 150 espermatozoides de diferentes campos tomando en cuenta la cabeza del espermatozoide (Evans y Maxwell, 1987).

Dilución y congelación del semen

El diluyente que se utilizo fue Tris (Hidroximetil-Aminometano, FERMONT) en una proporción 1-4 una parte de semen por 4 de diluyente. El contenido del diluyente fue de Tris 3.786 g., glucosa de 0.625 g (FERMONT), ácido cítrico (monohidratado) 2.172 g (FERMONT), yema de huevo 12 ml, glicerol 5 ml (FERMONT), penicilina 0.125 g, estreptomina 0.1 g (Evans y Maxwell, 1987).

La inactivación de la yema del huevo se realizo una vez disueltos los componentes en el vaso precipitado; se colocaron en el baño María a 56°C durante 30 minutos para posteriormente mantenerlo a 37° C para diluir el semen.

Para obtener el número de dosis de semen por eyaculado se siguió el procedimiento de:

$$N = (C \times V \times M) / DR$$

Donde N = numero de pajillas totales; C = cantidad de espermatozoides por mililitro; V = volumen total recolectado; M = porcentaje total de espermatozoides con

movilidad masal y DR = dosis requerida por pajilla (Hafez, 1996).

El proceso de empajillado se realizo de manera manual por medio de succión en pajillas de 0.5 ml, siendo un promedio de 200 millones de espermatozoides. Las pajillas se colocaron en un vaso precipitado con agua a 37°C en el interior de un refrigerador donde se bajo la temperatura hasta 5°C en un transcurso de 2.5 horas siendo este un periodo de equilibrio (Valencia, 1994).

Para el proceso de congelación se vació el nitrógeno líquido en una caja de poliestireno hasta obtener un nivel de 15 cm, después se expusieron las pajillas identificadas a vapores de nitrógeno (-75°C) colocadas en posición horizontal a 5 cm sobre el nivel del mismo durante 15 minutos. Posteriormente se sumergieron en el nitrógeno liquido para su congelación a -196°C y conservarlas en ese estado durante una semana (Valencia, 1994).

Para la evaluación poscongelación de las dosis, la descongelación del semen se realizo en Baño María a 37°C por 15 seg y se evaluó la motilidad masal (%), la motilidad progresiva (%) y el porcentaje de espermatozoides vivos (%) (Holt, 2000).

RESULTADOS y DISCUSION

Cuadro 3.1.- Volumen, concentración espermática, motilidad masal, motilidad progresiva, viabilidad de semen fresco y poscongelado en dos épocas del año, abril (fotoperiodo creciente) y diciembre (fotoperiodo decreciente) en machos cabríos adultos Saanen en corral.

Características Espermáticas	Época 1 (Abril)			Época 2 (Diciembre)			
	Media	EE	Min-Max %	Media %	EE	Min-Max	%
ESTADO FRESCO							
Volumen (ml)	1.153 B	0.06	(.7-1.6)	2.01 A	0.05	(1.7-2.4)	
Concentración Espermática (10 ⁷ /ml)	216.8 B	3.52	(198-248)	322.5 A	3.79	(289-344)	
Viabilidad (10 ⁷ /ml)	82.06% A	0.933	(78-90)	84.6% A	1.14	(80-95)	
Motilidad masal (10 ⁷ /ml)	83.1% A	1.279	(78-90)	85.6% A	0.959	(80-90)	
Motilidad Progresiva (10 ⁷ /ml)	78.8% A	1.562	(70-90)	82.6% A	1.278	(75-90)	
ESTADO POSCONGELADO							
Concentración Espermática (10 ⁶ /ml)	El Empajillado a 400 X10 ⁶ /ml						
Viabilidad (10 ⁶ /ml)	24.6% A	1.63	(15-34)	27.1% A	1.192	(20-35)	
Motilidad masal (10 ⁶ /ml)	26.96% A	1.61	(17-35)	29.3% A	1.686	(20-40)	
Motilidad Progresiva (10 ⁶ /ml)	20.8% A	0.625	(18-25)	23.2% A	0.857	(18-30)	

* De acuerdo a Tukey. Nivel de significancia (P<0.05).

Cuadro 3.2.- Efecto de Época y Estado sobre las características seminales.

Características Espermáticas	Época-Media %		Estado-Media %	
	Abril	Diciembre	Fresco	Poscongelado
Viabilidad Espermática	55.7 A	53.3 A	83.3 A	25.7 B
Motilidad Masal Motilidad	54.6 B	57.5 A	84.4 A	27.7 B
Progresiva	49.8 B	52.9 A	80.7 A	22 B

*De acuerdo a Tukey. Nivel de Significancia ($P < 0.05$)

Volumen

El volumen tiene un efecto de época en diciembre se obtuvo un valor de 2 vs. 1.1 ml en abril. El rango normal de volumen de un eyaculado es de .1 a 1.5 ml según lo referido por Hafez (1996). Evans y Maxwell (1987) mencionan que rango normal de volumen de un eyaculado esta entre .8 y 2 ml; a diferencia de Gibbons (1992) que obtuvo .77 ml en machos de raza Angora durante la primavera.

El volumen en estado poscongelado es manipulado a .5 ml por pajilla lo cual es una constante.

Concentración

La concentración espermática presenta un efecto de época en diciembre fue mayor $322.53 \times 10^7/\text{ml}$ vs. 216.8

$\times 10^7/\text{ml}$ en abril. Estos valores son considerados normales de acuerdo a la época de recolección. Los parámetros de un eyaculado es de 280×10^7 en marzo a 460×10^7 en octubre de acuerdo con Hafez (1996). Silvestre (2004) obtuvo resultados semejantes con rangos entre $223 \times 10^7/\text{ml}$ y $282 \times 10^7/\text{ml}$ pero en verano.

Gibbons (1992) obtuvo en abril un promedio $439 \times 10^7/\text{ml}$ en machos de raza Angora pero a una latitud de 41° sur siendo esta una época reproductiva natural.

La concentración en estado poscongelado esta manipulada a 200×10^6 por .5 ml.

Viabilidad espermática

La viabilidad espermática no esta afectada por la época siendo en diciembre 55.7% vs. 53.3% en abril, pero si esta afectada por el estado en fresco 83.3% vs. 25.7% en poscongelado.

En estado fresco el se obtuvo un promedio de diciembre 84.6% vs. 82% en abril. Farshad (2009) obtuvo un promedio 88.56% en invierno en machos de 2 a 4 años de edad. También Silvestre (2004) obtuvo un promedio de 75% en verano en machos de raza Murciana-Granadina de 3 años de edad.

En estado poscongelado se obtiene en diciembre 27.1% vs. 24.6% en abril; Vera (2007) obtuvo promedios de 35% en

machos Saanen y 40.7% en machos criollos; Gracia (1998) obtuvo un promedio de 30.3% en abril y 31.55% en diciembre y Gibbons (1992) que obtuvo un 60% en machos de raza Angora.

Motilidad masal

La motilidad masal presenta un efecto de época en diciembre 57.5% vs. 54.6% en abril y también un efecto de estado en fresco 84.4% vs. 27.7% en estado poscongelado.

En estado fresco se obtuvo un promedio en diciembre 85.6% vs. 83.1% en abril. Farshad (2009) obtuvo un promedio de 86.13% en invierno en machos de 2 a 4 años. Vázquez (1998) obtuvo rangos entre 76% y 82% en razas autóctonas españolas.

En estado poscongelado se obtuvo un promedio en diciembre 29.3% vs. 26.9% en abril. Estos resultados son similares a los de Gracia (1998) que obtuvo un promedio de 24.75% en abril y 23.97% en diciembre.

Motilidad Progresiva

La motilidad progresiva presenta un efecto de época en diciembre 52.9% vs. 49.8% en abril y también un efecto de estado en fresco 80.7% vs. 22% en estado poscongelado.

En estado fresco se obtuvo en diciembre 82.6% vs. 78.8% en abril. Los porcentajes obtenidos por Silvestre

(2004) fueron de 69.8% en verano. Los valores son cercanos a los obtenidos por Farshad (2009) encontrando 80.35% en machos de 2 a 4 años de edad.

En estado poscongelado se obtuvo en diciembre 23.2% vs. 20.8% en abril. Vera (2007) obtuvo promedios de 39.6% en machos Saanen en otoño, en comparación con Grajales (1990) que obtuvo resultados superiores (59%); Ritar y Salomón (1991) obtuvieron un promedio de 66%, Valencia (1994) con un rango de 73% a 78.6% . Gibbons (1992) obtuvo en machos de raza Angora un promedio de 74% en marzo.

CONCLUSIONES

Se detectó que en el lugar donde se llevó a cabo el estudio considerado de baja latitud (20° N), los machos cabríos Saanen presentaron fotosensibilidad ya que existe variabilidad en la calidad espermática en fresco con respecto a la época del año en la que se realice la colecta de semen. El semen colectado en diciembre resultó con mayor calificación en las variables que determinan la calidad.

El proceso completo de congelación-descongelación se puede realizar con parámetros aceptables. Con una observación ya que el volumen colectado en abril es menor en el momento de la dilución y empajillado el número total

de pajillas será menor que las que se pudieran elaborar en diciembre pero con la misma calidad.

LITERATURA CITADA

- Chemineu P., Cagnie Y., Orgeur P., Vallet JC. 1991. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. FAO Animal Production and Health Paper. Rome Italy. Food and agriculture Organization of the United Nations.
- Dunner S., Vázquez I. 1991. Efectos del medio de conservación a base de sustancias amino-orgánicas sobre la calidad del semen de macho cabrío medida "in vitro" después de conservación a +5°C o +15°C. Archivos de Zootecnia. 40 (149): 391-401.
- Evans G., Maxwell WM. 1987. Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Ed. Acribia, S. A. 192.
- Farshad A., khalili B., Fazeli P. 2009. The effect of different concentrations of Glycerol and Domsos on viability of Markhoz goat spermatozoa during different freezing temperatures steps. Pakistan Journal of Biological Sciences. 12(3): 239-245.
- Gibbons A., Cueto M., Willems P. 1992. Inseminación artificial con semen congelado en cabras de raza Angora, sobre los celos concentrados post incorporación del

- efecto macho. Revista de medicina veterinaria. 73(3): 122-128.
- Gracia A., Cabrera F., González F., Batista M., Forga J., Calero P. 1998. Efecto de la proporción de yema sobre la conservación de semen congelado en la agrupación caprina canaria (Variedad Majorera). Producción Ovina y caprina. XXIII 517-520.
- Hafez ESE. 1996. Reproducción e inseminación artificial en animales, Ed. Mc. Graw Hill. 542 p.
- Holt WV. 2000. Basic aspects of frozen storage of semen. Animal Reproduction Science. 62: 3-22.
- INEGI, 2000. XII Censo General de Población y Vivienda.
- Ritar AJ., Salamon S. 1991. Effects of month of collection, method of processing, concentration of egg yolk and duration of frozen storage on viability of Angora goat spermatozoa. Small Ruminant Research 4: 1, 29-37.
- SAS Institute. 1999. The SAS System for Windows. V. 8. SAS Institute. Inc. Cary, N. C. USA.
- Silvestre MA., Salvador I., Sanchez JP., Gómez EA. 2004. Effect of changing female stimulus on intensive semen collection in young Murciano-Granadina male goats. Journal of Animal Science. 82: 1641-1645.

- Valencia J., González G., González M., Trejo, A. 1994. Motilidad y daño acrosomal del semen caprino congelado en pajillas de 0.25 ml y .5 ml y descongelado de 2 diferentes ritmos de temperatura. Vet. Mex, 25 (2).
- Vázquez I., Cortes S., Borque C.1998. Conservación del semen de macho cabrio. Producción caprina y ovina 1998. XXIII: Ponencia 2, 31-36.
- Vera T., Alberio R., Hozbor F., Sanchez E., Aguilar D., Aller J. 2007. Viabilidad posdescongelación de espermatozoides caprinos congelados con diferentes diluyentes. Revista Argentina de Producción Animal. Vol 27 Supl. 1.

4. LITERATURA CITADA

- Cabrera P., Pantoja C. 2008. Influencia de los diluctores tris y ovine freezing sobre la integridad de la membrana citoplasmatica durante la congelación de semen de ovinos en pajillas de 0.5 ml. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 19(2):152-159.
- Cerbón G.J.1998. Evaluación del semental caprino. Memorias del curso manejo reproductivo e Inseminación Artificial en caprinos. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. 9-12 de noviembre 1998. México. D.F.
- Chemineau P., Cagnie Y., Orgeur P., Vallet JC. 1991. Training manual on artificial insemination in sheep and goats. FAO Animal Production and Health Paper. Rome Italy. Food and agriculture Organization of the United Nations.
- Córdova I.A., Córdova J.M., Córdova J.C., Guerraliera J.E. 2008. Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras. *Rev. Vet.* 19:1,67-79.
- Delgadillo J. A., Canedo G. A., Chemineau P. ; Guillaume D. ; Malpaux B. 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male Creole goats in subtropical northern Mexico. *Theriogenology*, 52,727-737.
- Delgadillo, J. A., J. A. Flores, F. G. Véliz, H. F. Hernández, G. Duarte, J. Vielma, P. Poindron, P. Chemineau, and B. Malpaux. 2002. Induction of sexual activity in lactating anovulatory female goats using male goats traeted only with artificially long days. *J. Anim. Sci.* 80: 2780-2786.
- Dorado J., Rodríguez I., Hidalgo M. 2007. Cryopreservation of goat spermatozoa: Comparison of two freezing extenders based on post-thaw sperm quality an fertility rates alter artificial insemination. *Theriogenology* 68:168-177.
- Dunner S., Vázquez I. 1991. Efectos del medio de conservación a base de sustancias amino-orgánicas sobre la calidad del semen de macho cabrío medida "in vitro" después de conservación a +5°C o +15°C. *Archivos de Zootecnia.* 40 (149): 391-401.
- Dunner S. 1993. Freezing buck semen diluted in amine-organic buffers. *Animal Production* 56: 387-391.
- Evans G., Maxwell WM. 1987. Salamon's artificial insemination of sheep and goats. Ed. Acribia, S. A. 192.
- Farschad A., Khalili B., Fazeli P. 2009. The effect of different of Glycerol and DMSO on viability of Markhoz Goat spermatozoa during different freezing temperatures steps. *Pakistan journal of biological Sciences* 12(3):239-245.

- Fraser A.F. 1962 A technique for freezing goat semen and results of a small breeding trial. *Canadian Vet.* 3:133-144.
- Galina C., Valencia J. 2006. Reproducción de los animales domésticos. 2da. Edición. Limusa, México. 577 p.
- García A.C., Vázquez I., Martínez E. 1993. Inseminación artificial en pequeños rumiantes. *Mundo Ganadero.* 6:40-44.
- Gibbons A. 2002. Inseminación artificial con semen congelado en cabras de raza angora. *Taurus* 4, 24-32.
- Gracia A., Cabrera F., González F., Batista M., Forga J., Calero P. 1998. Efecto de la proporción de yema sobre la conservación de semen congelado en la agrupación caprina canaria (Variedad Majorera). *Producción Ovina y caprina.* XXIII 517-520.
- Gracia M.A., Cabrera M.F., González V.F., Batista A.M., Forga M.J. 1997. Estacionalidad en la producción seminal de la Agrupación Caprina Canaria. *Jornadas Científicas de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Avances en Alimentación y Mejora Animal,* 4-5: 26.
- B. Hafez y E. S. E. Hafez. 2002. Reproducción e inseminación artificial en animales. McGraw-Hill Interamericana Editores S. A. de C. V. México, D. F. p 177.
- Hafez, E.S.E. 1996. Reproducción e inseminación artificial en animales, Ed. Mc. Graw Hill. 542 p.
- INEGI, 2000. XII Censo General de Población y Vivienda.
- Lebouf B., Restall B., Salomón S. 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 62:113-141.
- Mellado M. 2008. Técnicas para el manejo reproductivo de las cabras en agostadero. *Tropical and Subtropical Agroecosystem,* 9: 47-63
- Milanes C.S., Martínez J., Lima T., Denis R.G. 2002. Influencia de diferentes descongelantes y temperaturas de descongelación sobre patologías espermáticas en semen caprino congelado. I Congreso Internacional sobre mejoramiento animal. XXX Aniversario. 460 p.
- Palacios AA. 1994. Aspectos fisiológicos acerca del congelamiento de semen. *Vet. Méx.* 25 (3).
- Palomino J. M., Cervantes M., Rodríguez A., Cisneros F., Huanca W. 2007. Efecto de dos dilutores y tiempos de refrigeración sobre la motilidad individual de semen refrigerado de caprinos. APPA - ALPA - Cusco, Perú.
- Pérez B. 1992. Estudio de los parámetros de valoración del rendimiento reproductivo en macho cabrío de las razas Verata y Malagueña. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Veterinaria. 196 p.
- Ritar AJ., Salomon S. 1991. Effects of month of collection, method of processing, concentration of egg yolk and duration of frozen storage on viability of Angora goat spermatozoa. *Small Ruminant Research* 4: 1, 29-37.

- Roy, A., 1957. Egg yolk coagulating enzyme in the semen and Cowper's gland of the goat. *Nature* 179: 318-319.
- SAS Institute. 1999. The SAS System for Windows. V. 8. SAS Institute. Inc. Cary, N. C. USA.
- Swenson J., Reece O. 1999 .Fisiología de los Animales Domésticos de Dukes. Ed. Uteha. 925 p.
- Thomas CA., Garner DL., Dejarnette JM., Marshall C.E. 1998. Effect of cryopreservation on bovine sperm organelle function and viability as determined by flow cytometry. *Biol. Reprod.* 58: 786-793.
- Valencia J., Gonzalez G., Gonzalez M., Trejo A. 1994. Motilidad y daño acrosomal del semen caprino congelado en pajillas de 0.25 ml y .5 ml y descongelado de 2 diferentes ritmos de temperatura. *Vet. Mex*, 25 (2).
- Vázquez I., Cortés S., Borque C. 1998. Conservación del semen de macho cabrio. *Producción Ovina y Caprina*. XXIII. Ponencia 2. 31-36.