

92 *regist.*

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



---

**EFFECTO DEL PASO DE SEMEN DE CONEJO  
EN COLUMNAS DE SEPHADEX SOBRE LA  
PROPORCION DE ESPERMATOZOIDES X e Y**

**T E S I S      P R O F E S I O N A L**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A**

**AGUSTIN MIGUEL GUERRERO CRUCES**

**BAJO EL ASESORAMIENTO DEL M. V. Z.  
ARTURO DUCHATEAU BARRAGAN**

**MEXICO. D. F.**

**JULIO DE 1981**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE.

- I.- RESUMEN
- II.- INTRODUCCION
- III.- MATERIAL Y METODOS
- IV.- RESULTADOS
- V.- DISCUSION Y CONCLUSION
- VI.- BIBLIOGRAFIA.

"EFECTO DEL PASO DE SEMEN DE CONEJO  
EN COLUMNAS DE SEPHADEX, SOBRE LA PROPORCION  
DE ESPERMATOZOIDES X e Y" .

I.- RESUMEN.

El objetivo de éste trabajo es separar del eyaculado de conejo las fracciones ricas en espermatozoides X e Y, queriendo sentar precedentes para futuras investigaciones y experimentos sucesivos al traspolar los resultados que se obtuvieran en dicho trabajo -- hacia otras especies. Con ésta finalidad se recolectó semen de conejo y se inseminó a 12 conejas después de procesar el semen mediante la técnica de filtración con el Sephadex G-15-120. Para tal efecto se utilizaron tres grupos a saber: Al primero y segundo grupo se les efectuó una doble filtración de semen. De el primer grupo se utilizó la fracción inicial para inseminar y en el segundo grupo se utilizó la fracción final, el grupo tercero fué inseminado sin filtrar.

La hipótesis de trabajo que se tenía era que al -- filtrar el semen en dos ocasiones se separarían más rápidamente los espermatozoides "Y" y al inseminar a éste grupo se esperaba obtener una diferencia significativa en mayor número de machos al igual que se esperaba por la menor velocidad y mayor peso de los esper

matozoides "X" que al inseminar el segundo grupo la diferencia al obtener mayor número de hembras fuera significativa. El grupo número tres sirvió como control.

Al efectuar dicho proceso se encontró que la diferencia entre los tres grupos fué mínima. En el grupo número uno, se encontró una proporción similar de hembras y machos, así mismo se repitió el resultado en el grupo número dos, lo que indica que la presencia de variables controlables (filtración de semen) no alteró el curso de los nacimientos esperados, quedando de tal manera disprobada la hipótesis inicial.

## II.- INTRODUCCION.

En años recientes ha existido gran interés por varios grupos de investigadores para encontrar un método eficaz que permita la separación de fracciones ricas en espermatozoides X e Y en semen de distintas especies. (2) (3) (6) (11) . Esto tendría muchas aplicaciones.

Para el hombre sería de gran importancia que tuviera la oportunidad de escoger de acuerdo a su -- preferencia y necesidades el sexo de su progenie -- antes de la concepción, hecho que actualmente solo depende del azar. (9)

Entre las repercusiones indirectas que podría llegar a tener dentro del plano político y social, sería que al aumentar la producción de carne y leche, de acuerdo a las necesidades; habría mayor -- cantidad de proteína animal y como consecuencia, el consumo per cápita se vería aumentado considerablemente (10), de ésta forma el nivel de vida social -- de nuestro pueblo al estar alimentado en la forma a decuada tendría muchas más posibilidades para alcan

zar un óptimo desarrollo integral, puesto que al dejar de ser un pueblo subdesarrollado y subalimentado se está en condiciones de producir (13), de ésta manera la población económicamente pasiva, que en este momento es la mayoría de nuestra población, pasaría a formar parte de las filas de la población económicamente activa y esto repercutiría en grandes beneficios para el país. (17) (21)

Además en la ganadería su importancia sería de gran envergadura, particularmente en las especies en las que el sexo de la cría obtenida sea la variable de la cual dependa en gran parte el ingreso económico de la explotación. Como ejemplo tenemos el caso de las explotaciones ganaderas en donde su mayor fuente de ingresos es obtenida por la venta de leche producida y no por la venta de animales para el abasto(8), en éstos casos es de mucho mayor utilidad obtener crías hembras que sirvan de reposición a las hembras que se encuentran en producción. En dichas explotaciones es práctica común desechar a las crías machos dos o tres días después de nacidos, pues realmente no reportan ninguna utilidad; si acaso en algunas ocasio



nes, uno de éstos machos nacidos es mantenido en la explotación con el fin de utilizarlo en monta natural cuando en algún animal se presentan problemas de fertilidad con la inseminación artificial, o también para dar el primer servicio o -- monta a las novillonas. Dicha práctica representa para la empresa ganadera una merma económica, ya que después de los meses de gestación, el único beneficio que se obtiene es debido a la venta de la leche producida y no a consecuencia de la venta de una hembra que ya adulta sea capaz de ingresar a un hato productor.

En las empresas ganaderas dedicadas a la producción de animales para el abasto ocurre exactamente lo contrario y tienen mayor aceptación los machos para la engorda debido principalmente a que su desarrollo es más precóz y alcanzan un mayor peso en menor tiempo que las hembras. (7)

En el caso de una persona que se dedica a criar ganado de registro no importando la especie ni el tipo de raza, ésta técnica sería de gran utilidad para su explotación y en cierta forma mediante ella

se llegarían a alcanzar las metas que se haya fijado un criador más rápidamente y con menor costo; simplemente porque si se deseara fijar cierta característica especial en determinados animales y ésta característica dependiera del sexo, ésto se podría conseguir en forma más rápida y directa, - por ejemplo: Una persona dedicada a criar animales de raza Holstein, podría reunir las características deseadas para su raza que en éste caso es la de - producción de leche, y en ésta forma su selección sería unicamente con hembras. (15)

Distintos métodos han sido utilizados con algunas especies intentando la separación del semen en fracciones ricas de espermatozoides X e Y.

Bhattacharya (4), reportó que al congelar hasta la inmovilidad en medios de determinada viscosidad los espermatozoides X de conejo parecen sedimentar a una mayor velocidad que los espermatozoides Y. El mismo autor (3) en 1962 obtuvo 72% de crías hembras y 77% de crías machos al inseminar conejas con semen tratado y separado con un método de sedimentación en el cual los espermato-

zoides X sedimentan más rápidamente que los espermatozoides Y.

Posteriormente Schilling (18) reportó haber - obtenido 70% de crías hembras con semen de bovino tratado en forma similar al método utilizado por Bhattacharya; sin embargo otros autores (5) no han podido obtener los mismos resultados.

Bedford (2) utilizando también una técnica de sedimentación con semen de conejo no logró la separación del semen y aunque los espermatozoides - sedimentaron a diferentes velocidades , la separación no correspondió a la anteriormente efectuada de acuerdo al cromosoma sexual que posee.

Krzanowski (14) aunque de acuerdo a sus resultados obtenidos con estudios de sedimentación, reporta que es muy probable que ésta diferencia en velocidad de sedimentación se deba principalmente a la aglomeración que sufren los espermatozoides en el medio, principalmente los espermatozoides X debido a propiedades diferentes en la superficie de los espermatozoides X e Y.

More et. al. (16) utilizando también métodos -

de sedimentación, reporta no haber obtenido diferencias en la proporción de crías machos y hembras con semen de conejo.

Otros experimentos en los que se utilizó electroforésis con semen de conejo demostraron que -- los espermatozoides X e Y tienen diferentes cargas eléctricas (11) y (19); sin embargo, Vasselinovitch reportó no haber conseguido lograr la separación de espermatozoides usando micro electroforésis, -- sin embargo cuando utilizó macro electroforésis, los espermatozoides migraron indistintamente al -- ánodo o al cátodo.

Subsecuentemente al inseminar con éste semen, no se presentaron diferencias en la proporción de crías machos y hembras nacidas.

Ericsson (9), descubre otro método para la separación del semen de bovino que consiste en hacer pasar el semen a través de un medio conteniendo -- diferentes concentraciones de albúmina sérica de bovino u ovoalbúmina, pero obtiene resultados variables.

Recientemente ha sido utilizado un método para

la separación de espermatozoides móviles e inmóviles en semen diluido (12) y (6). El método consiste en hacer pasar el semen diluido a través de columnas de Sephadex, por las cuales los espermatozoides móviles solamente son capaces de pasar, permaneciendo los inmóviles en las capas superiores de las columnas.

El objetivo de éste trabajo es separar del eyaculado de conejo las fracciones ricas en espermatozoides X e Y para sentar bases y establecer un mecanismo de selección del sexo.

III.- MATERIAL Y METODOS.

Material: 14 animales (conejos)  
12 hembras  
2 machos  
Vaginas artificiales  
Jeringas desechables  
Sephadex G-15-120  
Citrato de Sodio  
Leche en polvo  
Gasa

### Preparación de columnas.

Seis columnas de Sephadex se prepararon de la siguiente manera:

20 grs. de Sephadex G-15-120 fueron mezcladas en 100 ml. de Citrato de Sodio.

Las columnas de Sephadex se hicieron en los barriles de jeringas desechables de 10 ml. En el fondo de los barriles se colocó una pequeña cantidad de gasa para detener la suspensión de Sephadex en los barriles.

### Preparación del semen.

El semen fué colectado de dos conejos adultos y mezclado para obtener un mayor volumen de semen.

Inmediatamente después el semen se diluyó con un diluyente a base de leche descremada y Citrato de Sodio al 2.9 % .

### Procedimiento.

Se realizó una doble filtración del semen de la siguiente manera:

3 cm<sup>3</sup> de semen se colocaron en cada una de las tres columnas iniciales para su filtración, la primer fracción colectada de aproximadamente 1 cm fué recolectada sobre otra columna de Sephadex del mismo espesor, y nuevamente se colectó la primer fracción que pasó por la columna, esperando - de ésta manera que en los dos pasos a través de - las columnas fueran los espermatozoides Y los primeros en pasar.

De la misma manera se filtró en otras columnas semen, desechando la fracción inicial y conservando la fracción secundaria para un segundo paso - por las columnas de Sephadex. Se tenía la expectativa de que en la fracción segunda o final del -- filtrado fuera mayor la proporción de espermatozo*i*des X.

Para probar la efectividad de ésta doble filtración se formaron tres grupos con conejas sexualmente maduras cada una.



El primer grupo fué inseminado con la fracción inicial del semen doblemente filtrado.

El grupo número dos de conejas se inseminó con la fracción final del semen filtrado; y el tercer grupo se utilizó como grupo de control. Estas conejas fueron inseminadas con semen diluido de la misma manera pero sin filtrar.

El sexo de las crías fué determinado a su nacimiento.

IV.- RESULTADOS.

En el cuadro número 1 se muestra la proporción de crías hembras y machos nacidos de cada grupo.

En el primer grupo (fracción inicial) se obtuvo de las cuatro conejas inseminadas un total de 11 crías, de las cuales 6 fueron hembras y 5 fueron machos.

En el grupo número dos (fracción final) se obtuvieron un total de 15 crías, de las cuales 9 -- fueron hembras y 6 machos.

De el tercer grupo o grupo de control (semen diluido sin filtrar), se obtuvieron un total de 17 crías, siendo de éstas 9 hembras y 8 machos.

Cuadro No. 1

Número de crías hembras y machos nacidos de cada grupo.

	HEMBRAS	MACHOS
GRUPO 1	6	5
GRUPO 2	9	6
GRUPO 3	9	8

V.- DISCUSION Y CONCLUSION.

Por el número tan bajo de crías obtenidas en los diferentes grupos, no fué posible realizar un análisis estadístico que nos permitiera determinar la significancia de los resultados obtenidos. Sin embargo, éstos demostraron algunos datos de interés.

En el grupo número 1 (fracción inicial) en el cual esperábamos obtener una mayor proporción de crías machos, no se cumplió tal expectativa, ya que se obtuvo un número mayor de hembras que de machos.

En el grupo número 2 se esperaba llegar a tener una mayor proporción de hembras, y efectivamente fueron más hembras las nacidas que los machos.

En el grupo número 3 que se utilizó como control, la diferencia entre crías hembras y machos nacidos fué mínima; habiendo nacido nueve hembras y ocho machos, lo cual puede representar una pro

porción perfectamente normal y natural.

Por los datos mencionados anteriormente se puede concluir que a la fecha, los distintos métodos que han sido utilizados para lograr la separación de espermatozoides X e Y , no han dado los resultados esperados.

VI.- BIBLIOGRAFIA.

1. Austin and Short.  
Reproduction in mammals. Germ cells and Ferti-  
lization.  
Vol. 1 pp 150-151 (1972)
2. Bedford, J.M. and Bibeau, A.M.  
Failure of sperm sedimentation to influence -  
the sex ratio of rabbits.  
J. Rep. Fert. 14: 167-170 (1967)
3. Bhattacharya, B. CH.  
Sex Control in Mammals.  
Z. Tierzucht. Zucht Biol. 72: 250 (1958)
4. Bhattacharya, B. CH.  
Die Verchiedene Sedimentations Gesch Windigke-  
itder, X und Y spermien und die frage der wi-  
llkurlichen geschlechts bestimmung.  
Z. Wiss. Zool. 166: 203 (1962)
5. Bhattacharya, B. CH., Bangham, A.D., CRO, RJ,  
Keynes, R.D. and Rowson, L.E.A.  
An attempt to predetermine the sex of calves  
by artificial insemination with spermatozoa -  
separated by sedimentation.  
Nature, Lond. 211: 863 (1966)
6. Duchateau, A.B., Graham, E.F., Evensen, B.K.,  
Schmehl, MKL.  
Separación de espermatozoides móviles e inmó-  
viles en semen de bovino por medio de su fi-  
tración en columnas de Sephadex.  
Proc. X World Congress of Buiatrics.  
pp 187 Méx. D.F. (1978)
7. Ensminger, M.E.  
Producción bovina para carne.  
Edit. Ateneo pp 410 (1975)

8. Ensminger, M.E.  
Producción bovina para leche.  
Edit. Ateneo pp 312-313 (1977)
9. Ericsson, R.S. Langevin, C.N. and Nishino, M  
Insolation and fracction in Human Sperm.  
Nature, 246: 421-424 (1973)
10. Garreau Gerard.  
El Negocio de los Alimentos.  
Edit. Nueva Imagen pp 217-267 (1980)
11. Gordon, M.J.  
Control of sex ratio in rabbits by electro -  
phoresis of spermatozoa.  
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 43: 913 (1957)
12. Graham, E.F., Vázquez, I.A., Schmel, M.K.L.  
and Evensen, B.K.  
An assay of semen quality by use of Sephadex  
filtration.  
VIII th International Congress on Animal Re -  
production and A.I.  
Krakow Proc. pp 95 (1976)
13. Hansen D. Roger  
La Política del Desarrollo Mexicano.  
Siglo XXI Edit. pp 98-103 (1975)
14. Krzanowski, Macies  
Dependence of primary and secondary sex ratio  
on the rapidity of sedimentation of bull semen  
J. Reprod. Fert. 23: 11-20 (1970)
15. Lasley F. John  
Genética del mejoramiento del ganado.  
Edit. UTEHA pp 346-349 (1970)
16. More, G.J. Meacham, T.N., and Foreman, W.E.  
Attempts to separate rabbit spermatozoa by  
means of froth flotation and the sex ratio -  
of offspring born.  
J. Reprod. Fert. 16: 243-252 (1968)

17. Padilla Aragón Enrique  
México Desarrollo con Pobreza.  
Edit. Siglo XXI (1975)
18. Schilling, E.  
Experiments in sedimentation and centrifugation of bull spermatozoa and the sex ratio of -  
born calves.  
J. Reprod. and Fert. II: 469 (1966)
19. Schroeder, V.N.  
Physico-Chemical Analysis in some questions  
of the physiology of spermatozoa. V. Artificial -  
control of sex in mammals.  
Amin. Br. Abstr. 3: 166 (1934)
20. Shastri, P.R., Hedge, U.C., RAO, S.S.  
Use of ficoll-sodium metrizoate density gra -  
dient to separate human X and Y bearing sper -  
matozoa.  
Nature Vol. 269: 58-60 (1977)
21. Solís Leopoldo  
Alternativas para el Desarrollo  
Edit. Joaquín Mortiz S.A. pp 105 (1980)