

75
2ij



*Universidad Nacional Autónoma
de México*

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán



**COMPARACION DE LAS CARACTERISTICAS
SEMINALES IN VITRO Y LA FERTILIDAD DEL SEMEN
CAPRINO UTILIZANDO DOS DILUYENTES
Y EL LAVADO SEMINAL.**

T E S I S

*Que para obtener el Titulo de:
Médico Veterinario Zootecnista*

presenta

VICTOR MANUEL MORENO MERCADO

Cuautitlán Izcalli, Estado de México. 1987



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 está 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.

I N D I C E

Introducción	1
Objetivos	6
Material y Métodos	7
Resultados y discusión	11
Cuadros	14
Conclusiones y Recomendaciones	20
Literatura Citada	21

I N T R O D U C C I O N

La inseminación artificial es una técnica que nos permite introducir el semen en los órganos genitales de la hembra sin la intervención del macho, además facilita una mejor utilización del material genético de los machos cuyas características son superiores a la mayoría de los animales de su especie, ésto trae como consecuencia una mayor presión de selección sobre los sementales y como resultado de todo ésto, un avance genético más acelerado (NORIEGA, 1984).

La inseminación artificial es uno de los avances en materia de producción animal que más beneficios le ha dado al hombre, esto es gracias al mejoramiento genético rápido que se ha logrado en las especies domésticas (FOOTE, 1980) y que ha dado como resultado un aumento en los productos pecuarios como son: pelo, lana, leche, carne, huevo, etc..., también gracias a ella se puede tener un programa de mestizaje y mejoramiento genético con lo cual se puede satisfacer la demanda de proteína de origen animal e incrementar su rentabilidad, ya que no se necesitaría de muchos machos de razas puras como sería en el caso de la monta natural.

Ventajas de la Inseminación Artificial:

1. Mejoramiento genético.- Esto es mediante el uso de sementales probados.
2. Una mejor utilización del semental.
3. Evita la transmisión de enfermedades venéreas.
4. Facilidad de transporte y distribución de semen.
5. No requiere de la presencia del macho en el hato, evitando gasto de manutención y eliminando el peligro que representa.

6. Estimula el uso de registros.
7. Facilidad para la implementación de programas de sincronización y cruzamientos.
8. Posibilita la adquisición de dosis de animales valiosos por parte de ganaderos de escasos recursos (DE LUCAS, 1982).

Desventajas de la Inseminación Artificial:

1. Se requiere de la detección de estro.
2. Puede diseminar características indeseables (DE LUCAS, 1982).

La inseminación artificial en caprinos es una técnica en la cual los franceses son los pioneros y actualmente ésta se encuentra difundida en todo el mundo (RODRIGUEZ, 1978).

La cabra es una de las especies domésticas a la que su explotación se realiza en lugares semiáridos o en medios socioeconómicos de bajo desarrollo, olvidando que puede ser una alternativa de aporte proteico de buena calidad para la alimentación humana, así como otros subproductos que también producen (leche, pelo, piel), ésto es aún más favorable si se toma en cuenta que su productividad en ciertos ambientes es más alta que la de otros rumiantes domésticos más exigentes (SANTIESTEBAN, 1974).

Por lo tanto hay que olvidar los prejuicios que contra esta especie se tienen y buscar técnicas y métodos que permitan realizar una crianza y explotación más eficientes.

Considerando lo anterior podemos utilizar a la inseminación artificial que es una técnica que aporta ventajas en diferentes espe-

cies con muy buenos resultados, con lo cual nos es útil realizar un estudio de la técnica en el ganado caprino.

Además la cabra ha demostrado que es una especie de gran adaptación y buenas posibilidades de producción y ésto lo puede lograr en condiciones que son difíciles o imposibles para otras especies. Esto ha dado pauta a que se desarrollen investigaciones y que haya bastante información sobre esta especie (MORENO, 1984).

Las posibilidades que brinda la inseminación artificial se potenciaban con el empleo de semen conservado en anabiosis, mediante técnicas de congelación profunda que favorecen el mantenimiento de su poder fecundante por un prolongado lapso de tiempo y sin límites de espacio (GONZALEZ, 1975-a).

Además con la inseminación artificial en carpinos sería una versátil solución para el mejoramiento masivo del animal nativo, siempre y cuando se difundan al máximo las características óptimas de los sementales seleccionados (GONZALEZ 1975-b).

En la inseminación artificial de los caprinos se han obtenido resultados contradictorios adaptando o modificando ligeramente las técnicas utilizadas en el toro (CORTEEL, 1972).

Esto ha hecho que en los caprinos se tenga una mejor técnica de inoculación, un buen manejo de los espermatozoides ya que son más sensibles que los del toro, ésto nos hace revisar las variantes relacionadas con el tipo de diluyente, gradiente y velocidad de refrigeración del semen, el glicerolado de la muestra, tiempo de equilibración, diagrama de congelación, temperatura de conservación y tiempo de descongelación de la muestra (CORTELL, 1972).

INSEMINACION ARTIFICIAL EN CAPRINOS:

Diluentes y Resultados:

Los espermatozoides solo pueden vivir fuera del organismo por un tiempo limitado, es por ésto que existen los diluentes que son sustancias que se agregan al eyaculado para conservar su metabolismo, viabilidad y fertilidad.

En la inseminación artificial en caprinos gran parte del éxito depende en gran media del desarrollo de dilientes satisfactorios para el semen.

Las técnicas de dilución almacenamiento usadas para el espermatozoide del toro, no pueden ser utilizadas en el espermatozoide de la cabra, por lo tanto fueron necesarias más investigaciones para preveer un mejor conocimiento del espermatozoide de la cabra y desarrollar técnicas específicas para su preservación (CORTELL, 1981).

Con la Dilución se Persigue:

1. Añadir al semen sustancias nutritivas, protectoras y amorguadoras.
2. Aumentar el volumen del semen para poder inseminar un mayor número de hembras.
3. Reducir el metabolismo de los espermatozoides al mínimo al descender la temperatura del semen diluido.
4. Restringir el crecimiento de microorganismos por medio de adición de antibióticos.

El semen de caprino tiene un volumen bajo sin embargo, su concentración de espermatozoides es alta y si se utiliza como tal se complica mucho su manejo, además se reduce la posibilidad de inseminación a un mayor número de hembras.

Los tipos de diluentes que se han utilizado en la inseminación artificial caprina son múltiples pero los más comunes son los que llevan citrato de sodio, yema de huevo, tris yema de huevo-leche a los cuales se les agrega glicerina, estos diluentes han probado su eficacia al permitir su preservación por varios años con buenos niveles de fertilidad (MORENO, 1984).

Los diluentes con yema de huevo han sido utilizados con resultados de fertilidad muy irregulares, los diluentes con base de leche descremada han obtenido mejores índices de fertilidad (CORTEEL, 1981).

Los mejores resultados con semen congelado caprino se han obtenido cuando antes de congelarse se centrifuga y se diluye para concentrar el paquete espermático y así eliminar la mayor cantidad de plasma seminal, con este procedimiento se han aumentado las tasas de fertilidad del semen congelado. Estos resultados han sido por que las lecitinas que contiene la yema de huevo al ponerse en contacto con el plasma seminal se pueden transformar en lisolecitinas que en altas concentraciones son tóxicas para los espermatozoides - - (CORTEEL, 1981).

Para evitar la cristalización se utiliza el glicerol en una concentración final entre 6 y 9 por ciento.

El semen caprino para su congelación requiere un manipuleo cuidadoso, una adecuada protección contra los cambios bruscos de temperatura, así como evitar una agitación innecesaria que pueda lesionar los espermatozoides.

O B J E T I V O S

- a) Comparar dos diluentes sobre sus características in vitro y la fertilidad para congelar semen caprino.

- b) Evaluar las características in vitro del semen congelado en dos diluentes a base de leche o TRIS (Dihidroxiamino-metano).

- c) Comparar la motilidad progresiva y el daño acrosomal del semen congelado con y sin centrifugación.

- d) Evaluar la fertilidad del semen congelado en dos diluentes sin centrifugar.

MATERIAL Y METODO

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se utilizaron para este trabajo 3 machos adultos y 26 hembras adultas de raza alpina, pertenecientes al módulo caprino de esta Facultad, a los cuales se les alimentó con silo de maíz, alfalfa achicalada, así como un concentrado alimenticio para complementar la dieta.

El experimento se efectuó en los meses de agosto a diciembre en los cuales se procesaron 20 eyaculados que se obtuvieron mediante vagina artificial.

Los machos fueron trabajados de 2 a 3 veces por semana con 1 a 2 eyaculados por día.

Se les dejaron hacer de 2 a 3 intentos de montas frustradas por eyaculado para obtener una mejor motilidad y concentración (GONZALEZ, 1975).

El reconocimiento de las hembras en celo se realizó de las 8:00 A.M. a las 9:00 A.M. y de las 15:00 a 16:00 P.M., en el corral ~~de~~ante la utilización de un macho vasectomizado para tal efecto.

A cada eyaculado se le dividió en 4 alicuotas para asignarles a cada una los siguientes tratamientos.

1. Diluyente de leche que consiste en leche descremada al 15% disuelta en una solución de lactosa al 11%.
2. Diluyente de leche más lavado y centrifugado (MEMON et al, 1982).
3. Diluyente de TRIS (FUKUI, 1979).
4. Diluyente de TRIS más lavado y centrifugado.

Para lavar el semen se diluyó 1:3 (V/V) en solución ringer-lactato y se centrifugó a 3000 RPM/15 minutos.

La motilidad progresiva se estimó en el semen fresco y en el semen descongelado diluyendo 1:100 (V/V) en citrato de sodio al 2.9% después de lo cual se observó el microscopio con aumento de 100x y se expresó el resultado en porcentaje.

Se calculó la concentración por medio de un espectrofotómetro (MARTINEZ, 1985).

Se calculó el número de dosis por eyaculado de acuerdo a la siguiente fórmula:

Volumen X Concentración X Motilidad X 1.39 (FC)*

400

* FC: Factor de Corrección para después de centrifugar.

El semen se congeló en pajillas de 0.5 ml. con 400×10^6 espermatozoides las cuales se sellaron con alcohol polivinílico.

Posteriormente se congelaron en vapor de nitrógeno líquido durante media hora para luego acomodarlas en bastones y gobelletes para así sumergirlas en nitrógeno líquido.

Todas las evaluaciones del semen se realizaron manteniendo el material de cristalería a una temperatura entre 37°C y 40°C .

Las anomalías de acrosoma se evaluaron realizando frotis con tinción de Wells-Awa (WELLS-AWA, 1970) y se observaron al microscopio con aumento de 1000 X.

De las muestras de semen diluido en leche sin centrifugar (sin lavar) y de las muestras de semen diluido sin centrifugar (sin lavar) TRIS se inseminaron las cabras comparándose contra cabras que fueron inseminadas con semen fresco diluido en leche fluída ultrapasteurizada y que fueron envasados en la misma forma y con el mismo número de espermatozoides que el semen congelado.

Todas las cabras fueron inseminadas en forma pericervical después de 12 horas de detectado el estro.

Antes de la congelación se sometieron las pajillas a un período de equilibrio en refrigeración a 5°C durante dos horas, lapso en el cual la temperatura del semen bajó de 37°C a 5°C.

Los resultados se evaluaron estadísticamente mediante análisis de variancia con el método de mínimos cuadrados y pruebas de ji cuadrada, con transformación al arcoseno (STEEL Y TORRIE, 1980).

RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro uno se presenta la media y la desviación estandar para las características del semen fresco y descongelado en los cuatro tratamientos.

Para la motilidad progresiva existieron diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.005$) (cuadros 1 y 2).

La motilidad progresiva del semen fresco ($75.2 \pm 7.9\%$) fue más alta que la reportada por TREJO (1984): Muhuyi et al., (1982) Zertas y Steinbach (1982).

Sin embargo estos dos últimos reportan un efecto de estación y raza, además el semen utilizado en el presente trabajo se recolectó en plena estación reproductiva. La motilidad progresiva del semen fresco fue significativamente mayor que la del semen descongelado ($P < 0.01$). Para la motilidad del semen descongelado se observa que el TRIS lavado alcanzó un $30.2 \pm 22.5\%$ y fue superior a los otros tres tratamientos ($P < 0.05$), ésto coincide con lo encontrado por MEMON et al., (1982) en un trabajo similar aunque sus porcentajes de motilidad fueron más altos, siguió el TRIS sin lavar con $17.7 \pm 18.0\%$ similar a los reportes de Muhuyi et al., (1982) y Drobnis et al., (1982).

El semen diluido en leche tuvo valores bajísimos tanto lavada $4.9 \pm 9.4\%$ como sin lavar $6.0 \pm 6.0\%$. Esto quizá pudo deberse a

la concentración de leche utilizada del 15%.

La recuperación de la motilidad progresiva siguió un patrón similar a la motilidad existiendo un efecto del diluyente ($P < 0.005$) (cuadros 1 y 3) y una interacción diluyente centrifugación siendo los valores:

$38.5 \pm 25.6\%$; $22.3 \pm 20.1\%$; 8.6 ± 6.0 ; $5.2 \pm 3.9\%$ para TRIS lavado y sin lavar, y para leche lavada y sin lavar respectivamente (cuadros 1 y 3).

Las anomalías acrosómicas no fueron afectadas ni por la centrifugación ni por el tipo de diluyente, pero fueron menores en el semen fresco $6.2 \pm 4.2\%$ ($P < 0.05$) que en el descongelado y para el TRIS lavado fueron mayores que para el resto de las muestras descongeladas $19.33 \pm 9.4\%$, lo que sugiere que este tipo de anomalías no afectan la motilidad en esta especie (cuadros 1, 4 y 5).

En el cuadro 6 se presentan los resultados obtenidos en el uso de semen congelado en pajillas de 0.5 ml. con 400×10^6 espermatozoides utilizando los dos diluyentes y semen fresco. Se puede apreciar que el semen fresco tuvo una fertilidad del 58.3% en un solo estro, lo que es menor a los resultados de Loubster *et al.*, (1983) pero se acerca a lo encontrado por TERVIT Y GOALD (1981) quienes publican de 60 a 70%. Este semen fresco no mostró diferencias con el semen congelado en TRIS, pero sí con el congelado en leche ($P < 0.01$). El semen congelado en TRIS, tuvo una fertilidad del 50%, que resulta

inferior a los resultados obtenidos por TERVIT Y GOALD (1981), pero coincide con CORTEEL (1981), bajo algunas circunstancias, encontrando como principales causas de variación de los resultados las siguientes:

- a) Tipo de diluyente empleado;
- b) Número de servicios y tiempo de aplicación después del estro, y
- c) Sitio de colocación del semen en el aparato reproductor femenino.

CUADRO 1.

EFFECTO DE LA CENTRIFUGACION Y EL LAVADO DE ESPERMATOZOIDES SOBRE LA MOTILIDAD PROGRESIVA, LA RECUPERACION DE LA MOTILIDAD Y LAS ANORMALIDADES ACROSOMICAS EN SEMEN CAPRINO CONGELADO EN DOS DILUYENTES

CARACTERISTICA	SEMEN FRESCO	LECHE ⁽¹⁾ LAVADO	LECHE SIN LAVAR	TRIS ⁽¹⁾ LAVADO	TRIS SIN LAVAR
Motilidad Progresiva n = 17	75.2 ± 7.9 a*	4.9 ± 9.4 d	6.0 ± 6.0 d	30.2 ± 22.5 b	17.7 ± 18.0 c
Recuperación de la motilidad progresiva n = 17	-----	5.2 ± 3.9 c	8.6 ± 6.0 c	38.5 ± 25.6 a	22.3 ± 20.1 b
Anormalidades Acrosómicas n = 17	6.2 ± 4.2 a	10.4 ± 5.7 b	12.8 ± 4.0 b	19.3 ± 9.4 c	14.3 ± 10.0 b

n = Número de eyaculados

(1) Dilución 1:3 (v/v) en solución Ringer-Lactato y centrifugación 3000 rpm/15 minutos.

Letras diferentes en los renglones representan diferencias significativas (P 0,05) y *(P 0,01).

CUADRO 2.

ANDEVA PARA LA MOTALIDAD PROGRESIVA EN
SEMEN CAPRINO CONGELADO EN DOS DILUENTES

FUENTE V	GL	SC	CM	F	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
TOTAL	84	39675.81	472.33		
TRAT.	4	14233.98	3558.49	11.18	0.005
ERROR	80	25441.83	318.02		

CUADRO 3.

ANDEVA PARA LA RECUPERACION DE LA MOTILIDAD
EN SPHEM CAPRINO CONGELADO EN DOS DILUYENTES

FUENTE V.	GL	SC	CM	F	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
TOTAL	67	24792.09	370.88		
TRAT.	3	7078.83	2359.61	8.52	0,005
A DIL.	1	5317.79	5317.79	19.21	0.005
B CEN.	1	366.14	366.14	1.32	NS*
A X B	1	1394.90	1394.90	5.04	0.005
ERROR	64	17713.26	276.76		

* NS = P 0.05

CUADRO 4.

ANDEVA PARA ANORMALIDADES ACROSOMICAS EN
SEMEN CAPRINO CONGELADO EN DOS DILUENTES

FUENTE V	GL	SC	CM	F	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
TOTAL	44	2228.62	50.6		
TRAT.	4	738.32	184.58	4.9	0.005
ERROR	40	1490.30	37.25		

CUADRO 5.

ANDEVA PARA ANORMALIDADES ACROSOMICAS
EN SEMEN CAPRINO CONGELADO EN DOS DILUYENTES

FUENTE V	GL	SC	CM	F	NIVEL DE SIGNIFICANCIA
TOTAL	35	1416.92	40.48		
TRAT.	3	245.91	81.97	2.24	NS*
A DIL.	1	141.64	141.64	3.87	NS*
B CEN.	1	4.1	4.1	0.11	NS*
A X B	1	100.17	100.17	2.73	NS*
ERROR	32	1171.01	36.59		

* NS = P 0.05

CUADRO 6.

RESULTADOS OBTENIDOS CON EL USO DE SEMEN CONGELADO EN PAJILLAS
(0.5 ML) CON 400×10^6 ESPERMATOZOIDES UTILIZANDO DOS DILUYENTES

TRATAMIENTO	n	F E R T I L I D A D	
		n	%
SEMEN CONGELADO TRIS	6	3	50.0 (a)
SEMEN CONGELADO LECHE	8	1	12.5 (b)
SEMEN FRESCO	12	7	58.3 (a)

Letras diferentes en las columnas representan diferencias significativas (P 0.01) Ji cuadrada.

$$\text{FERTILIDAD} = \frac{\text{Cabras Paridas}}{\text{Cabras Inseminadas}} \times 100$$

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Analizando los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluyó lo siguiente:

- La motilidad progresiva se vió afectada significativamente por la congelación.
- Bajo las condiciones de este trabajo el tratamiento que tuvo mejor recuperación de la motilidad fue el TRIS,
- El lavado de los espermatozoides favoreció la recuperación de la motilidad progresiva en el diluyente a base de TRIS.
- El semen descongelado presentó más anomalías acrosómicas y éstas parece que no influyen en la motilidad progresiva de los espermatozoides.
- El semen congelado en TRIS con los resultados aquí obtenidos podría ser utilizado con éxito en explotaciones comerciales.
- Se recomienda realizar experimentos futuros probando diluentes diferentes a base de leche.
- Para reforzar los resultados aquí presentados es necesario incrementar en los próximos trabajos la cantidad de cabras e inseminar.

LITERATURA CITADA:

- CORTELL J.M. (1972) L'Insemination Artificielle Caprine; Bases Physiologiques. Etat actuel et Perspectives d'avenir. ELEV. INSEM. 132, 3.
- CORTELEL J.M. (1981) Collection procesing and artificial insemination of goat semen. in:Goat Production Academic Press. U.K.: 171-191.
- DE LUCAS T.J. (1982) Inseminación Artificial en ovinos y caprinos. Memorias Tercer Curso Teórico Práctico de Inseminación Artificial. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. U.N.A.M.:75-110.
- DROBNIS E.Z. NELSON E.A. AND LIN. T.Y., (1982). The effect of freezing rate on motility and GOT release of frozen goat spermatozoa. Proc. 3rd. Int. Conf. Goat Prod. Dis. January 10-15. University of Arizona, U.S.A. 282.

- FOOTE R. H. (1980) Inseminación Artificial. Reproducción de los Animales de Granja, Hafez E.S.E.:
- FUKUI Y. (1979) Effects of different diluents Thawing temperatures and material of Thawing container on survival of ram spermatozoa frozen by the pellet method. Japan J. Anim. Prod. 25:160-169.
- GONZALEZ S.C. (1975 - a) Inseminación artificial en cabras con semen congelado. Cienc. Vet. Maracaibo. 5:85-103.
- GONZALEZ S.C. (1975 - b) Inseminación artificial programada en cabras con semen congelado importado. Cienc. Vet. Maracaibo. 5:119-138.
- LOUBSTER P.G., GREYLING J.P.C., VILJOEN K.S. (1983). Artificial insemination of Angora goat does with pelleted deep-frozen semen. S.A.J. Anim. Sct. 13 : 134 - 135.

MARTINEZ C.A., (1985).

Correlaciones de tres métodos para determinar la concentración espermática de semen de ovinos y caprinos. Tesis de Licenciatura Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.

MEMON M.A., BRETZLAFF
K.N. AND OTT R.S., (1982).

Freezability of washed and unwashed goat semen in different extenders. Proc. 3ed. Int. Conf. Goat Prod. Dis. January 10-15. University of Arizona. U.S.A.: 282.

MORENO V.C. (1984).

Inseminación artificial en ganado caprino (revisión bibliográfica). Tesis de Licenciatura Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, U.N.A.M.

MUHUYI W., DROBNIS
E.Z., NELSON E.A. AND LIN
T.Y., (1982).

Season breed and age influences on productions and freezability of dairy goat semen. Proc. 3rd. Int. Conf. Goat Prod. Dis. January 10-15, University of Arizona. U.S.A.: 283.

- NORIEGA N.L. (1984) La inseminación artificial en caprinos Ganadero 9 : 70.
- RODRIGUEZ P.U. (1978) Inseminación artificial.
Edit. Pueblo y Educación.
2ª Edición, Cuba.
- SANTISTEBAN M.E. (1974) Inseminación artificial y ciclo estral en ganado caprino.
Servicio Agrícola y Ganadero, Ministerio de Agricultura, Santiago de Chile.
- STEEL R.G.D. AND TORRIE J.M., (1980). Principles and procedures of statistics. A Biometrical Statistics. 2pd. ed. McGraw Hill. U.S.A.
- TERVIT H.R. AND GOALD P.G., (1981). Embryo transfer and artificial insemination in goats. Proc. Ruakura Farmer's Conf. N. Zelanda. 173 - 176.
- TREJO G.A. (1984). Características del semen caprino. Memorias I Reunión Nacional sobre caprinocultura. 20 de Sept. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.: 15.

WELLS M.E. AND AWA
O.A., (1970).

New technique for assessing
acrosomal characteristics of
spermatozoa. J. Dairy Science.
53 (2): 227-232.

ZERFAS H.P. AND
STEINBACH J., (1982).

Comparative studies on the quality
and freezability of Alpine and
Boer goat semen. Proc. 3rd. Int.
Conf. Goat Prod. Dis. January
10-15, University of Arizona,
U.S.A. 283.