



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

ESTIMACION DE LA PERDIDA DE
ESPERMATOZOIDES DESPUES DE LA
SEPARACION DEL PLASMA SEMINAL
POR CENTRIFUGACION EN CABRAS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

ANTONIO RODRIGUEZ MONTOYA

ASESOR, M.V.Z. ARTURO A. TREJO GONZALEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI EDO. DE MEX.

1986



Universidad Nacional
Autónoma de México



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

	PAG.
1.- RESUMEN	1
2.- INTRODUCCION	3
3.- OBJETIVOS	23
4.- MATERIAL Y METODO	24
5.- RESULTADOS	30
6.- DISCUSION	41
7.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	47
8.- LITERATURA CITADA	48

"ESTIMACION DE LA PERDIDA DE ESPERMATOZOIDES DESPUES DE LA SEPARACION DEL PLASMA SEMINAL POR CENTRIFUGACION EN CABRAS"

R E S U M E N

El presente estudio fué realizado con la finalidad de evaluar la pérdida espermática en plasma seminal de semen entero y diluido, centrifugado a diferentes revoluciones por minuto.

Dentro del material y método utilizado se tomaron para el estudio, cinco machos caprinos y una hembra, colectando el semen con vagina artificial en una corraleta para monta durante tres meses dos veces a la semana.

Se centrifugó semen entero y diluido en una solución amortiguadora, aplicando cuatro tratamientos, 3 000 rpm./15 -- min. sin solución Ringer-Lactato "Hartmann"; 3 000 rpm./15 -- min. con solución Ringer-Lactato; 4 000 rpm./15 min. sin solución Ringer-Lactato; 4 000 rpm./15 min. con solución Ringer-Lactato. Tomando lectura del valor de paquete espermático y de plasma seminal, contando los espermatozoides perdidos en éste, con ayuda de un hematocitómetro y un microscopio.

- No hubo diferencia significativa entre los cuatro tratamientos en cuanto al volumen en ml. del paquete espermático después de centrifugar.

- En el volumen en ml. del plasma seminal, fué mayor con el agregado de solución Ringer-Lactato, y también por la mayor velocidad de centrifugación en relación con la menor velocidad sin dilución.
- Fué mayor la pérdida de espermatozoides en los tratamientos con dilución, donde sólo afectó la mitad la velocidad de centrifugación, comparado con las muestras no diluidas y con menor velocidad.
- Fué más elevado el porcentaje de pérdida total de espermatozoides en el tratamiento a mayor velocidad con dilución en relación a los otros tratamientos.
- El paquete espermático no se afecta mucho por centrifugación, sin embargo, se pierden en el sobrenadante una cantidad de espermatozoides que es mayor en dilución, y que se debe considerar.

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

La crianza de la especie caprina tiene una importancia básica en la producción ganadera a nivel mundial, influyendo en la economía de mucha gente especialmente en los países en desarrollo en las pequeñas comunidades, como también para -- grandes productores en los países desarrollados. Las cabras se han desarrollado desde los tiempos bíblicos bajo líneas -- con pocas variantes. Hasta el siglo pasado en que se ha tra-- tado de lograr un mejoramiento, generando razas más especia-- lizadas, para una mejor explotación de sus productos (Fraser, 1962).

La cabra es importante debido a la producción de leche y carne como fuente de proteína, así como de otros productos tales como el pelo y la piel para su industrialización. (Vin-- ha, 1975; Jagers, 1979).

Es así que una crianza selectiva es posible llevarla a-- cabo con una especialización y aprovechamiento de razas re-- gionales, siendo un excelente método para lograr esto, la a-- plicación de la inseminación artificial en el rebaño caprino. (Fraser, 1962).

La inseminación artificial (I.A.) es una técnica que -- consiste en la obtención, evaluación, dilución y aplicacón--

de semen de machos seleccionados, depositando el material -- seminal en el aparato genital femenino por medios mecánicos. (Hayward, 1977; Barnes, 1978; Foote, 1980).

Debido a los escasos planes de desarrollo y selección -- para esta especie hace de la inseminación artificial una téc-- nica de elección para incrementar su productividad, especial-- mente en los rebaños productores de leche donde se deben rea-- lizar pruebas de pro genie en los machos. Aunque se requiere-- mejorar los métodos de conservación y aplicación del semen -- caprino para mejorar su eficiencia reproductiva en las explo-- taciones comerciales (Jaggers, 1979).

Con el uso de la inseminación artificial se incrementa-- la producción de las crías además de proporcionar un mejora-- miento genético rápido, debido a que se logra una mejor dis-- tribución de semen de machos genéticamente superiores cubrien-- do un sólo macho a un gran número de hembras, provocando así una mayor presión de selección sobre los sementales (Foote, 1979).

Se han realizado investigaciones para lograr diluyentes de semen que permitan su conservación sin alterar sus caracte-- rísticas vitales para obtener buena fertilidad en la I.A. (Aamdal, 1982). Permitiendo el desarrollo de programas de -- esta naturaleza en países como Francia, Noruega, Estados Uni

dos, Rusia, Australia, Argentina, Sudáfrica, Turquía, etc. - entre otros (Shelton y Groff, 1984).

Aunque los principios básicos de la I.A. son iguales -- para todas las especies, existen particularidades que las diferencian, en el caso de las cabras se requiere un gran número de espermatozoides para lograr una fertilidad adecuada. Además la dilución y almacenaje de su semen poseen características específicas que hacen necesaria una mayor investigación al respecto (Corteel, 1981).

Entre las bases para llevar a cabo la técnica de I.A. - están tres puntos principales que son:

- El conocimiento de la Anatomía y Fisiología de la hembra, que incluye el especial estudio del aparato reproductor con el estado funcional de sus ovarios, el momento del celo entre otros para no perder detalles.
- Prestar especial atención y cuidado, además de manipulación adecuada del semen a utilizar para la inseminación.
- Contar con el equipo mínimo indispensable para realizar dicho trabajo, teniendo cuidado con éste, y además de proceder con las normas básicas de sanidad. Todo lo anterior aunado a tener una mínima experiencia en la ejecución de la técnica brinda una alta posibilidad de éxito (Purcella, 1974; Barnes, 1978).

1.- USOS DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL EN CAPRINOS.

A continuación se señala una lista de varias razones que se aprovechan al emplear la técnica de I.A. :

- a) Mediante la explotación racional, se pueden desarrollar y usar sementales seleccionados con características genéticas más elevadas apoyándose en la evaluación de su semen y la I.A., es posible lograr una mejora en la calidad del rebaño (Sörensen, 1982; Shelton y Groff, 1984).
- b) El semen se puede distribuir en un gran número de hembras en una gran extensión geográfica, en un corto plazo (Lyngset et al., 1965; Kishore, 1967; González et al., 1975b; Jagers, 1979).
- c) A través de un adecuado procesamiento de congelación del semen se puede transportar, conservar e inocular a la hembra (González, 1975a; González et al., 1975b; Sörensen, 1982), favoreciendo el mantenimiento del poder fecundante por un mayor lapso de tiempo y sin límite de espacio, logrando una mejor fertilidad, esto aún de razas exóticas (González, 1975a).
- d) Se evita al usar esta técnica el problema de incompatibi

lidad de animales que están impedidos de realizar un servicio adecuado. Debido a que está obstaculizado por lesiones, comportamiento físico, edad entre otras, para realizarlo (Sörensen, 1982).

- e) Por la transmisión de sus características a los descendientes, se puede evaluar la capacidad reproductiva de los machos, en menor tiempo al emplear la I.A. (Sörensen, 1982).
- f) En la I.A. se evita el contacto entre machos y hembras de la misma explotación como de otros lugares y así se previenen, controlan y eliminan enfermedades que pueden transmitirse en un momento dado por la vía copulativa, cuidando medidas sanitarias y médicas (Foote, 1980; Mc Donald, 1981; Bearden y Fuquay, 1982; Sörensen, 1982).
- g) Se produce un mejoramiento en el manejo de los animales principalmente en relación a contacto con ellos, selección teniendo registros de apareamiento, además otros como control de pastizales, construcciones, nutrición entre otras (Sörensen, 1982).
- h) Con la I.A. se logra realizar nuevas cruces para probar y conformar animales diferentes, sin necesidad de com---

prar tantos sementales de raza diferente, y lograr así una mejor adaptación a la región como también mejor explotación de sus productos, esto se puede llevar a cabo aún en rebaños pequeños (Jaggers, 1979; Sörensen, 1982).

i) El semen puede ser colectado en estación de cría y tenerlo en congelación, para luego inducir el estro por medio de hormonas en las hembras fuera de la estación de cría y aquí realizar la técnica de I.A. (Corteel et al., 1982).

j) Como en la producción ganadera es muy importante el factor económico, rinde más el uso de un semental para abastecimiento de semen para I.A. sustituyendo a la monta natural (Lyngset et al., 1965; Sörensen, 1982), y más aún cuando no hay posibilidad de adquirir un macho, se ahorra el gasto de compra y alimentación aunado con el manejo de llevar las hembras al macho, se evitan adquiriendo el semen (Jaggers, 1979).

2. LIMITANTES DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL EN CAPRINOS.

Es de importancia enlistar ciertos obstáculos que en determinado momento pudieran ser cruciales en la ejecución de la I.A.

- a) Es tan alta la probabilidad de usar un macho de malas características, como lo es para aprovechar las características deseables, por lo que se debe planear desde el principio para un programa de I.A. (Jaggers, 1979; Sørensen, 1982).
- b) Con la mayor distribución de semen, se reduce el mercado para los productores de animales de razas puras, todo esto y sólo quienes los tiene aprovechan sus sementales para las necesidades de su rebaño (Jaggers, 1979; Sørensen, 1982).
- c) La existencia de rebaños muy chicos y diseminados en un gran territorio, aparte de la falta o que sólo hay pocos centros de I.A. y abastecimiento de semen que abarcan áreas relativamente pequeñas, por lo que se hace costoso llevar a cabo esta técnica, impidiendo así el avance rápido en la producción del rebaño (Aamdal, 1982).
- d) Es básico tener personas avocadas a la detección del celo (Foote, 1980; Mc Donald, 1981; Bearden y Fuquay, 1982) y más aún en animales pastoreando (Foote, 1980).
- e) Se debe tener personas capacitadas para aplicar la técnica de I.A. (Barnes, 1978; Foote, 1980; Bearden y Fuquay, 1982).

- f) Son necesarias instalaciones tales como corrales para -- separar a las hembras y a los machos (Foots, 1980; Bear den y Fuquay, 1982).
- g) La consanguinidad fácilmente se puede alcanzar si se --- usan pocos machos (Sörensen, 1982).
- h) Hay peligro de diseminación de enfermedades por machos - sin control de sanidad, y más por el semen congelado en forma particular (Sörensen, 1982).
- i) Hacen falta pruebas sencillas con el propósito de predecir la fertilidad antes de la I.A. (Corteel, 1981).
- j) También es importante mencionar que hay poca disponibilidad de material informativo (Jaggers, 1979), y en general, que impide el tener una amplia noción de lo que es la colección, procesamiento de semen o I.A. en caprinos, así como poco estudio sobre estos procesos que no son -- fáciles y que requieren bases de conocimiento y destreza, que además necesitan perfeccionarse por continua investigación (Corteel, 1981).

3. FACTORES QUE AFECTAN LAS CARACTERISTICAS DEL SEMEN CAPRINO.

- Estación. Es uno de los factores que tiene influencia im-

portante en el semen. El volumen y la concentración son más grandes en la estación de cría que fuera de ésta (Corteel, 1981; Sinha et al., 1981; Muhuyi et al., 1982; Summermatter, 1982). También se afectan características tales como la motilidad se ve disminuida así como el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos en época fuera de la estación de cría (Singh et al., 1982), teniendo repercusión en el poder de fertilización (Corteel, 1976). Hay investigadores que han encontrado que la concentración espermática aumenta fuera de la estación de cría y que disminuye el volumen (Eaton y Simmons, 1952; Shukla y Bhattacharya, 1952; Sharma, 1975; Vinha, 1975 citados por Corteel, 1981), así como también aumentan los espermatozoides anormales fuera de la estación de cría (Vinha, 1975).

- Raza. Tiene influencia en ciertas características en variaciones seminales como volumen y concentración (Muhuyi et al., 1982), y en el número de espermatozoides por eyaculado (Vinha, 1975).

- Temperatura. Incide en el número de espermatozoides y en el volumen, que se ven disminuidos por el

incremento de temperatura ambiental (Hiroe -- y Tomizuka, 1966; Masaki y Masuda, 1968 citados por Corteel, 1981), aunado con alta humedad relativa (Mukherjee, 1953 citado por Corteel, 1981), así como también aumenta el porcentaje de espermatozoides anormales (Masaki y Masuda, 1968 citados por Corteel, 1981).

- Método de colección. Tales como vagina artificial y electroeyaculador influyen en la variación de volumen y pH (Memon et al., 1982) y también la concentración (Vinha, 1975). Con el electroeyaculador se logra colectar un mayor volumen de semen, pero con menor concentración espermática, y lo contrario sucede con la vagina artificial (Crabo y Graham, 1979; Corteel, 1981).

Hay además muchos otros factores como la frecuencia de eyaculado, nutrición, niveles de energía entre otros que también intervienen en la calidad seminal (Corteel, 1981).

4. LAVADO DE ESPERMATOZOIDEOS.

Muchas son las investigaciones que se han realizado para

obtener mejores resultados en la preservación y mejoramiento de la supervivencia del semen caprino, a fin de que al procesarlo para su almacenamiento en congelación mantenga su poder de fecundación y así mejorar la fertilidad de la I.A. (Corteel, 1981).

Diversos estudios se han realizado en el uso de diluyentes para el semen caprino con diferentes constituyentes dando variados resultados. Los compuestos básicos utilizados son: - leche descremada y yema de huevo que han sido eficaces en la preservación del semen en congelación, aunque sobre este último ingrediente se han dado resultados muy irregulares de fertilidad (Fraser, 1962).

En la preparación de un diluyente con base leche descremada, ésta debe ser con menos de 1% de grasa (Corteel, 1981), se debe agregar glucosa o fructuosa (Crabo y Graham, 1979), - como fuente de energía para los espermatozoides y agua desmineralizada. Estos ingredientes se mezclan y se calientan a 85°C durante 10 min., enfriando luego a temperatura ambiente (Corteel, 1981), esto se realiza porque la leche pasteurizada contiene una sustancia llamada lactenina que es espermicida, y así se inactiva (Bearden y Fuquay, 1982), entonces se procede a adicionar antibióticos tales como penicilina sódica y sulfato de dihidroestreptomicina para disminuir el crecimiento bacteriano.

Hay soluciones amortiguadoras que se incluyen a los dilu-
yentes del semen, y tienen como función el evitar cambio de -
pH, ya que los espermatozoides en su metabolismo acidifican -
el medio, y el amortiguador hace que haya isotonicidad, y en-
tre las soluciones que pueden ser utilizadas son: solución --
amortiguadora fosfatada, solución amortiguadora de citrato de
sodio al 2.9% y la solución amortiguadora Tris (aminometato -
tris-hidroximetilo) (Bearden y Fuquay, 1982).

Se necesita proteger a los espermatozoides durante la --
congelación por lo que se le agrega un crioprotector para evi-
tar la cristalización, y se utiliza para esto el glicerol - -
(Corteel, 1977) con una concentración entre 3% (Van Der Wes--
thuysen, 1978) a 9% (Fraser, 1962). Considerado como el crio-
protector universal (Crabo y Graham, 1979), este compuesto --
tiene como fundamento en que funciona penetrando a las célu--
las y previene así la concentración extracelular reduciendo -
la deshidratación celular (Meryman, 1971).

Hay además otro factor que se debe considerar, y éste es
el shock térmico que puede suceder en la congelación del se--
men y aunque contra eso, se protege a los espermatozoides por
la presencia de lipoproteínas y lecitinas que ya hay en la le-
che y en la yema de huevo, que además aportan nutrientes a --
las células espermáticas (Moreno, 1981; Bearden y Fuquay, ---
1982).

En el procesamiento del semen para congelación, al colectarlo se debe mantener a los 40°C (Corteel, 1977) a 32°C (Van Der Westhuysen, 1978).

La relación de dilución del semen se pueden poner en proporciones de (semen; diluyente, v/v) que varían de 1:2 a 1:4 (Van Der Westhuysen, 1978; Foote, 1980). Después se procede a enfriar por refrigeración a 5°C en un período de 30 min. luego en este momento se agrega el glicerol para dejarlo por un tiempo de 2 horas como período de equilibrio como mínimo, aunque es mejor por 4 horas, ya que aumenta con este tiempo la supervivencia espermática. Después se continúa con el congelamiento en un tanque al vapor de nitrógeno líquido durante 30 min. a - 75°C siguiendo con la congelación definitiva en el tanque de nitrógeno a - 196°C (Van Der Westhuysen, 1978), provocando esta temperatura una inhibición en el metabolismo celular espermático (Corteel, 1975).

El semen se envasa después de el período de equilibrio en pajillas de plástico con medida de 0.25 a 0.5 ml., conteniendo dosis de espermatozoides de 70-150 X 10⁶ (Corteel, 1977), 200 X 10⁶ (Foote, 1980) hasta 500 X 10⁶ (Bearden y Fuquay, 1982).

El semen fresco diluido se debe utilizar casi inmediatamente de preparado para I.A. y el semen refrigerado a 4°C --

conserva su poder para fecundar entre 10-12 horas, por lo que se recomienda usarlo el mismo día de colectado y preparado -- para I.A. (Corteel, 1977).

Para el diluyente con base yema de huevo, éste es utilizado en cantidades de 15% (Nimbulkar et al., 1982) o de 22% -- como parte del diluyente, pero tiene ciertos inconvenientes -- en su uso, según se muestra en base a los investigadores citados:

En los años 60's investigaciones a nivel de laboratorio se hicieron con varios diluyentes para semen caprino. El diluyente I.V.T. (Diluyente a temperatura variable Illinois) + -- 10% de yema de huevo a una temperatura de 15-20°C que fué considerado el mejor para diluir semen para ser transportado a -- una gran distancia y fué realizado; pero por el transcurso el semen sufrió cambios en color y consistencia tornándose blanco lechoso, flocculento y turbio. Al examen microscópico, se -- vieron todos los espermatozoides inmóviles. Se hicieron pruebas con semen aparte a 5°C y sucedió lo mismo, sólo retrasándose el proceso, así también en el semen caprino teniendo los mismos resultados ya que el primer semen fué ovino, y se determinó que todos los cambios eran debido a que había enzimas no conocidas en el semen, (Iritani y Nishikawa, 1962, 1963 -- citados por Aamdal, 1965), comprobaron esto y pusieron énfasis en el factor que provocó coagulación seminal y lo llama--

ron "Factor de coagulación-yema de huevo" en semen caprino que fué Lecitinasa A. Además concluyeron que hubo una inmovilización de espermatozoides al parecer por una sustancia que es muy tóxica para estos (Aandal et al., 1965). Esta enzima fué también encontrada anteriormente y llamada enzima de coagulación yema de huevo (Roy, 1957).

Estos investigadores Aandal, Lyngæst y Fossum (1965) experimentaron como semen caprino y semen porcino con diluyente-yema de huevo al ponerles Lysolecitina al 1% y sucedió lo mismo de una inmovilización de los espermatozoides, es así que concluyeron que al parecer es la Lysolecitina la sustancia tóxica.

El uso de diluyentes conteniendo yema de huevo hacen variar mucho la fertilidad (5% a 95%) (Corteel, 1981), en base a que en el semen caprino hay un enzima "Fosfatasa" que se produce en las glándulas de Cowper o Bulbouretrales (Roy, 1957), esta enzima es una fosfolipasa y degrada por hidrólisis a las lecitinas de la yema de huevo produciendo la Lysolecitas y ácidos grasos, estas Lysolecitas son tóxicas para los espermatozoides (Corteel, 1977); esta hidrólisis es puesta en marcha por una enzima producida por las mismas glándulas (Corteel, 1981). Este mismo investigador cita a varios que mencionan que la hidrólisis varía por diferentes factores como: pH, temperatura, concentración de plasma seminal (Iritani y Nishikawa,

1961) estación de producción de semen (Iritani y Nishikawa, 1964) y disponibilidad de calcio, según Roy (1957) algunas veces la hidrólisis no se realiza o sólo muy poco haciendo variar en alza de fertilidad, debido a diferencias de razas caprinas por variación de secreción de la enzima por las glándulas de Cowper (Roy, 1957). También se observa que los huevos usados para diluir semen de diferentes razas de gallinas hace variar el fenómeno así como que a más tiempo de almacenamiento (48 horas) aumenta la fertilidad (Aehnelt y Brockman, 1955 citados por Corteel, 1981). Según lo estudiado en base a lo anterior se ha hecho cada vez más patente por recomendación de investigadores, principalmente Corteel, (1975, 1977 y 1981) entre otras publicaciones el llevar a cabo lo que se llama lavado de espermatozoides que ha mostrado mejorar la motilidad postdescongelación así como la fertilidad del semen caprino (Corteel, 1981; Tervit y Goold, 1981).

El semen puede ser utilizado en tres formas básicamente:

- Fresco. Se usa inmediatamente hasta después de 30 min. de su colección.
- Refrigerado. En un término de 12 a 14 horas.
- Congelado. Días o meses más tarde.

Y para ésta última forma que se ha estudiado más y sobre su preparación de conservación se ha hecho el lavado de espermatozoides, que consiste en la adición de una solución salina al semen y centrifugado para compactar el paquete espermático y separar el plasma seminal (Ritar y Salamon, 1982, citados por Moreno, 1984).

La congelación de semen caprino se ha implementado por las ventajas que ofrece si antes de congelarse se centrifuga y se diluye sin el plasma seminal (Corteel, 1981).

Föugner, citado por Aandal (1982) reporta un método de centrifugación para lavado de espermatozoides. El semen es diluido en (1+7) partes después de colectado y sometido a -- centrifugación a 1000 gravedades por 5 min., se aspira el -- sobrenadante y se diluye el semen en 1 + 9 partes (300×10^6 espermatozoides/ml.), equilibrado por 2 hrs. y congelado en minipajillas de 0.25 ml. para dar un total de 60 000 000 -- espermatozoides para 1.A. y en donde hay un aumento en el -- porcentaje de concepción.

Otro método que describe Corteel (1975), es que los eyaculados son lavados dos veces en una solución de Krebs-Ringer-Fosfato-Glucosa y se centrifugan a 700 gravedades/15 min. a 20°C debiendo tener la dilución 1×10^9 espermatozoides/ml. y se observa en el porcentaje de células móviles con respec-

to a tiempo de conservación.

El lavado de espermatozoides de caprino mejora su conservación en congelación por nitrógeno líquido a -196°C . Pero si se lavan dos veces se pierden hasta 70% de espermatozoides. Ya eliminado en su mayoría el plasma seminal por el lavado, se mejora el porcentaje de espermatozoides móviles - después de diluirlos, glicerolarles y equilibrados mejor por 120 min. pero el lavado mejorará la fertilidad y habilidad - en congelamiento en eyaculados mejor con volúmenes muy grandes (>1.9 ml.) (Corteel, 1975, 1981).

%		Duración de la conservac. (días)	Dismin. tasa SPZ móviles eyaculaciones no lavadas.	Dismin. tasa SPZ móviles eyaculaciones lavadas.
SPZ móviles 1 - 2 días postdescongelación.				
Eyac. no lavadas.	Eyac. lavadas			
42.7 (19)	38.9 (14)	3 - 90	16.6 (19)	0 (14)
41.4 (32)	48.8 (13)	91-180	22.0 (32)	1.3 (13)

() Número de eyaculaciones

Tomado de Corteel, 1975.

8 Eyaculados inutilizables con el período de conservación y la técnica de congelación		
Período de conservación (días)	Eyaculados no lavados.	Eyaculados lavados.
3 - 90	10.7 (19)	0 (14)
91 - 180	31.3 (32)	7.7 (13)

Tomado de Corteel, 1975.

Otro experimento basado también en el lavado de espermatozoides es que se diluye semen 1:4 a 32°C y se centrifuga a 200 gravedades/min. y se retira el plasma seminal y diluyendo con igual volumen y congelando, se observa al descongelamiento un aumento en motilidad y viabilidad espermática con respecto a los no lavados, pero un cierto grado de shock mecánico, deformidades y movimientos direccionales pobres se aprecian y esto se atribuye a la centrifugación y al mezclado que se hace cuando se diluyen los espermatozoides con pipeta -- Pasteur coopera al shock (Van Der Westhuysen, 1978).

En un trabajo realizado para evaluar la motilidad en -- el lavado y no lavado de células espermáticas, después de descongelamiento periódicamente cada 8 horas con varios diluyen-

tes como son leche descremada-glicerol, lactosa-yema de huevo-glicerol y tris-ácido cítrico-yema de huevo-glicerol se concluye que las muestras no lavadas y diluidas con yema de huevo tienen menor % de motilidad que las muestras lavadas y diluidas con yema de huevo. Esto haciendo el lavado de espermatozoides con solución Ringer a 950 g/15 min. dos veces (Memon et al., 1982).

Se ha observado que el plasma seminal de eyaculados de estación de crianza tiene un efecto positivo en cuanto a motilidad, y lo contrario fuera de la estación de cría, y si se colecta semen del epidídimo tiene alta motilidad más que en eyaculado (Nunes et al., 1982) y más aún si se colecta semen en la segunda mitad de la estación de cría y lavado, ofrece mayor posibilidad de preservación de fertilidad más que en la primera mitad de la estación de cría, y también puede preservarse por hasta 18 meses para inseminar fuera de la estación de cría induciendo el estro, con mayor fertilidad. (Corteel, et al., 1982). Además de lo anterior, se ha encontrado que una proteína de poco peso molecular secretada por las glándulas de Cowper, ocasiona disminución en motilidad y supervivencia espermática, pero que también hay un factor constituyente de la secreción de las glándulas vesiculares seminales que contrarrestan previniendo y/o demorando las características anteriores (Corteel, 1981; 1982; Nunes et al., 1982).

O B J E T I V O S

Con el fin de adquirir y tener un mejor conocimiento del semen caprino, por lo especial y delicada que es ésta especie en su reproducción, para lograr mejores formas de manejo del semen, evaluando métodos específicos como el lavado de espermatozoides, y así eliminar sustancias tóxicas que contiene el semen caprino las cuales se activan cuando se mezcla con determinado diluyente para su preservación principalmente para congelación, y además obtener mejor beneficio al compactar por centrifugación el paquete espermático y así aumentar el total de espermatozoides por dosis en menor volumen, al aplicar la técnica de inseminación artificial en las cabras, por lo que se plantearon los siguientes objetivos:

- Comparar la pérdida de espermatozoides en el sobrenadante de muestras de semen caprino centrifugadas a diferentes revoluciones por minuto y un determinado tiempo.
- Comparar la pérdida de espermatozoides en el semen caprino entero y diluido en una solución Ringer-Lactato.

M A T E R I A L Y M E T O D O

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Reproducción Animal e Inseminación Artificial de la FACULTAD-DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

Los animales utilizados para este trabajo fueron cinco - caprinos machos y una hembra.

Los machos fueron adultos, que previamente se entrenaron para la monta y obtención de muestras de semen con vagina artificial (Smith, 1978; Crabo y Graham, 1979; Cortesol, 1981; Hunter et al., 1982).

Se usó una corraleta para monta de forma rectangular adaptado a una altura tal, que la persona puede obtener las -- muestras sin necesidad de inclinarse. Así suben los animales -- por una rampa posterior hasta la hembra que se sujeta por el -- cuello en la parte delantera de la corraleta.

Los animales fueron alimentados a base de heno de alfalfa o de cebada y alimento balanceado comercial.

El estudio tuvo una duración de tres meses en su realiza

ción, tomando en cuenta desde el trabajo de laboratorio con la obtención de muestras de semen, así como la operación de datos hasta llegar a los resultados.

Se trabajó dos veces a la semana en la obtención de --- muestras de semen, colectando una muestra de cada macho caprino, cada vez que se manejaron los animales. Tomando un número significativo total de muestras que fueron 40.

Se preparó un diluyente amortiguador para semen. Este estuvo constituido de 2.9 gr. de citrato de sodio aforado en probeta a 100 ml. con agua desmineralizada.

Se prepararon tubos de ensaye poniendo 9.9 ml. del diluyente a cada uno, manteniéndolos en baño María a 37°C. Se obtuvieron las muestras de semen en tubo colector graduado y aquí se midió el volumen de cada eyaculado, manteniendo el semen entero en los tubos colectores en baño María a 37°C mientras se realizaban todas las actividades.

Se procedió a diluir 1:100 de semen y esto se hizo tomando 0.1 ml. de semen fresco de los tubos colectores con pipeta individual. Esto es, 0.1 ml. de semen de una muestra se puso a un tubo de ensaye conteniendo 9.9 ml. del diluyente citrato de sodio, y así sucesivamente.

El siguiente paso fué el evaluar la concentración del -- semen, realizándolo por dos métodos. El indirecto, con la -- utilización de un espectrofotómetro; preparando el aparato 15 minutos antes de ser usado. Se calibró con la dilución de -- citrato de sodio a una longitud de onda de 600 nanómetros. Se tomó la lectura de cada muestra. Esto es, de la dilución --- 1:100 de semen en citrato de sodio puesto en tubos especiales para el espectrofotómetro -cubetas- llenas de la dilución - - (Foote, 1980; Bearden y Fuquay, 1982).

El valor dado se comparó con una tabla de valores que es tan estimados por regresión para el espectrofotómetro para -- semen caprino en longitud de onda de 600 nm., enfrentando valor de absorvancia de luz contra volumen de semen, y aquí en este caso fué constante en la dilución, tomando como base --- siempre 1 ml. de semen.

También se usó el método directo para determinar la concentración del semen. Para esto también se utilizó el semen-diluido 1:100, poniendo 1 ml. de éste en cada tubo, siendo ca da uno muestras diferentes y a los cuales se les agregó 1 ml. de colorante Rosa de Bengala, formando así una dilución 1:200 del semen, en lugar de usar la pipeta de dilución de Thoma y que se emplea para sangre en conteo celular. Se agitó cada - muestra, y después se procedió al conteo de espermatozoides -

usando un hematocitómetro, llenando el área de la cámara con pipeta Pasteur, dejandola reposar por 5 minutos ya colocada en el microscopio para que sedimentaran los espermatozoides. Lo siguiente fué localizar la zona cuadrículada con el objetivo de 10X, enfocando luego el primer cuadro con el objetivo de 40X. Aquí lo que se hizo fué contar los 25 cuadros -- del área, no como lo establecido en que se cuentan sólo 5 -- cuadros, todo esto de cada muestra de dilución de semen 1:200.

Otra de las partes que se realizó y lo más importante -- fué la centrifugación de semen entero para separar el plasma seminal y compactar los espermatozoides. Tomando semen entero de un tubo colector con pipeta Pasteur para depositarlo -- en un tubo de Wintrobé en medida de 0.2 ml. de semen y poniéndolo a centrifugar en un aparato centrífuga por tiempo de 15 minutos.

Como se dijo anteriormente, se trabajaron 40 muestras -- de semen a las cuales se les aplicaron 4 tratamientos distribuyéndose como sigue:

TRATAMIENTO 1.- 10 muestras se centrifugaron a 3 000 rpm. durante 15 minutos, conteniendo cada una 0.2 -- ml. de semen entero.

TRATAMIENTO 2.- 10 muestras con 0.2 ml. cada una de semen pero además se agregó 0.2 ml. de solución Ringer-Lactato "Hartmann" a cada muestra como dilución y se centrifugaron a 3 000 rpm. durante 15 minutos.

TRATAMIENTO 3.- 10 muestras también de 0.2 ml. de semen entero se centrifugaron a 4 000 rpm. por tiempo de 15 minutos.

TRATAMIENTO 4.- 10 muestras de 0.2 ml. de semen también con agregado de 0.2 ml. de solución Ringer-Lactato a cada muestra como dilución, y se centrifugaron a 4 000 rpm. por tiempo de 15 minutos.

Después de centrifugar, se tomó lectura de el paquete de espermatozoides y de el plasma seminal en los mismos tubos de Wintrobe graduados.

En los tratamientos con solución Ringer-Lactato se tomó lectura del paquete de espermatozoides y de el plasma seminal junto con el agregado.

Se procedió a contar los espermatozoides que se quedaron en el plasma seminal y que por lo tanto se perdieron, --

esto se hizo con el hematocitómetro tomando el plasma seminal con pipeta Pasteur y llenando el área de la cámara sin poner ningún colorante. Dejando sedimentar durante 5 minutos, para luego localizar la zona cuadrículada del hematocitómetro con el objetivo de 10X, y luego con el objetivo de 40X del microscopio el primero de los cuadros y cuantificando los espermatozoides en todos los 25.

Se utilizó la solución Ringer-Lactato para obtener una mejor separación entre plasma seminal y espermatozoides.

Los resultados se evaluaron mediante Análisis de Varianza con arreglo factorial y Prueba de Rango Múltiple de Duncan (Steel y Torrie, 1980).

RESULTADOS

VOLUMEN EN ml. DEL PAQUETE ESPERMÁTICO
DESPUES DE CENTRIFUGAR.

En el cuadro 1 se puede observar que no existió diferencia significativa para el volumen del paquete espermático -- después de la centrifugación para los tratamientos y la dilución, aunque sí se aprecia un efecto significativo en el centrifugado. El cuadro 5 muestra las medias y que no hubo -- diferencias estadísticas entre los tratamientos al aplicar -- la Prueba de Rango Múltiple de Duncan.

CUADRO 1

ANALISIS DE VARIANZA PARA LA SEPARACION
DEL PAQUETE ESPERMATICO EN SEMEN CAPRINO
DILUIDO Y SIN DILUIR CENTRIFUGADO A
DOS DIFERENTES VELOCIDADES.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P
TOTAL	39	0.0860	0.0022		
TRATAMIENTOS	1	0.0109	0.0036	1.80	NS
CENTRIFUGADO	1	0.0090	0.0090	4.50	0.05
DILUCION	1	0.0005	0.0005	0.25	NS
C x D	1	0.0014	0.0014	0.70	NS
ERROR	36	0.0751	0.0020		

NS = No significativo.

VOLUMEN EN ml. DEL PLASMA SEMINAL.

DESPUES DE CENTRIFUGAR.

En el cuadro 2 se puede apreciar que si existieron diferencias significativas para el volumen del plasma seminal -- después de centrifugación en los cuatro tratamientos, teniendo poca influencia el centrifugado, y en cambio la dilución -- si afectó significativamente. Según se observa en el cuadro 5, comparando los tratamientos 1 y 3 (3 000 rpm./15 min. sin solución Ringer-Lactato y 4 000 rpm./15 min. sin solución -- Ringer-Lactato) respectivamente, no tuvo influencia la velocidad de centrifugación, al aumentar un poco el volumen de -- plasma a más velocidad, pero resultó no significativo según la Prueba de Rango Múltiple de Duncan, y en los tratamientos 2 y 4 (3 000 rpm./15 min. con solución Ringer-Lactato y -- 4 000 rpm./15 min. con solución Ringer-Lactato) respectivamente, hay una diferencia marcada al notarse aumentado el -- volumen del plasma seminal cuanto mayor fué la velocidad de -- centrifugación pero más aún aumentó por efecto de la dilu-- ción, según se muestra en la numeración de resultados de los dos cuadros mencionados.

CUADRO 2

ANALISIS DE VARIANZA PARA LA SEPARACION DEL
 PLASMA SEMINAL EN SEMEN CAPRINO DILUIDO Y
 SIN DILUIR CENTRIFUGADO A DOS DIFERENTES
 VELOCIDADES.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P
TOTAL	37	0.5133	0.0131		
TRATAMIENTOS	3	0.4369	0.1463	70.21	0.01
CENTRIFUGADO	1	0.0090	0.0090	4.31	0.05
DILUCION	1	0.4284	0.4284	205.62	0.01
C x D	1	0.0014	0.0014	0.69	NS
ERROR	36	0.0750	0.0020		

NS = No significativo.

ESPERMATOZOIDES QUE SE PIERDEN EN EL
PLASMA SEMINAL/ml.

En el cuadro 3 se puede observar que si hubo diferencias significativas entre los tratamientos, donde también se aprecia que por lo mismo, si influyeron tanto el centrifugado como la dilución en los espermatozoides que se pierden en el plasma seminal. El cuadro 5 explica las diferencias estadísticas que se notan al aplicar la Prueba de Rango Múltiple de Duncan. Al comparar los tratamientos 1 y 3 (3 000 rpm./15 min. sin solución Ringer-Lactato y 4 000 rpm./15 min. sin solución Ringer-Lactato) en ese orden, se observa sólo poca influencia de la velocidad de centrifugación, sobre los espermatozoides que se quedan en el plasma seminal, esto es, que se observó que hubo más espermatozoides en el plasma, y esto es por dos razones; en el tratamiento a mayor velocidad de centrifugado se apreciaron sin cuantificar, un aumento de espermatozoides dañados, y también que conforme se fueron colectando las muestras del semen fresco a través de todo el tiempo de prueba, se observó cada vez un aumento en la concentración de éste. Comparando los tratamientos 2 y 4 (3 000 rpm./15 min. con solución Ringer-Lactato y 4 000 rpm./15 min. con solución Ringer-Lactato) respectivamente, se aprecia una diferencia significativa en la pérdida de espermatozoides en el plasma seminal por efecto de la dilución principalmente y poco menos por

la centrifugación como se nota en el número de la media que -
es casi el doble de pérdida en el último tratamiento. Aquí -
también influyó la concentración del semen.

CUADRO 3

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL TOTAL DE
ESPERMATOCITOS EN EL PLASMA EN SEMEN CAPRINO
DILUIDO Y SIN DILUIR CENTRIFUGADO A DOS
DIFERENTES VELOCIDADES.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P
TOTAL	39	79403779750	2035994352.5		
TRATAMIENTOS	3	26628992750	8876330916.6	74.70	0.01
CENTRIFUGADO	1	10110570250	10110570250	8.50	0.01
DILUCION	1	13434472250	13434472250	11.30	0.01
C x D	1	3103950250	3103950250	26.12	0.01
ERROR	36	42774787000	118818880.8		

PORCENTAJE EN PERDIDA TOTAL DE
ESPERMATOZOIDES.

En el cuadro 4 se aprecia que existieron diferencias -- significativas en el porcentaje de pérdida total de espermatozoides después de la centrifugación, mediante el Análisis de Varianza aplicado, se nota influencia tanto del centrifugado como la dilución del semen, pero ésta en menor grado. En el cuadro 5 al comparar los resultados obtenidos en los -- tratamientos si resultan significativas las diferencias, --- siendo importante considerar la concentración espermática en cada grupo de muestras sometidas a tratamientos diferentes, -- es por eso que varían los porcentajes. Observándose que en los tratamientos 1 y 3 (3 000 rpm./15 min. sin solución Ringer-Lactato y 4 000 rpm./15 min. sin solución Ringer-Lactato) respectivamente, hubo influencia significativa por parte de la velocidad de centrifugación, notándose menor porcentaje -- de espermatozoides perdidos a mayor concentración y a mayor velocidad, compactando más el paquete espermático. En los -- tratamientos 2 y 4 (3 000 rpm./15 min. con solución Ringer-- Lactato y 4 000 rpm./15 min. con solución Ringer-Lactato) -- respectivamente, se aprecia que hubo una gran influencia a -- más del doble en el porcentaje de espermatozoides perdidos -- en el último tratamiento, esto es que hay un efecto signifi-- cativo por parte de la dilución que provoca que se pierda un porcentaje considerable de espermatozoides.

CUADRO 4

ANALISIS DE VARIANZA PARA EL PORCENTAJE
DE PERDIDA TOTAL DE ESPERMATOZOIDES EN SEMEN
CAPRINO DILUIDO Y SIN DILUIR CENTRIFUGADO
A DOS DIFERENTES VELOCIDADES.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	P
TOTAL	39	0.001134	0.000029		
TRATAMIENTOS	3	0.000375	0.000125	5.95	0.01
CENTRIFUGADO	1	0.000992	0.000992	47.23	0.01
DILUCION	1	0.000112	0.000112	5.34	0.05
C x D	1	0.000164	0.000164	7.83	0.01
ERROR	36	0.000758	0.000021		

CUADRO 5

	I 3000 rpm./15 min. SIN SOL. HARTMANN	II 3000 rpm./15 min. CON SOL. HARTMANN	III 4000 rpm./15 min. SIN SOL. HARTMANN	IV 4000 rpm./15 min. CON SOL. HARTMANN
VOLUMEN EN ml. DEL PAQUETE ESPERMATICO DESPUES DE CENTRIFUGAR.	0.13 ± 0.02 a	0.13 ± 0.05 a	0.12 ± 0.03 a	0.10 ± 0.05 a
PORCENTAJE EN VOLUMEN DEL PAQUETE ESPERMATICO DESPUES DE CENTRIFUGAR.	76 ± 14.90	36.25 ± 14.44	65 ± 19.40	25.75 ± 12.75
VOLUMEN EN ml. DEL PLASMA SEMINAL DESPUES DE CENTRIFUGAR.	0.060 ± 0.02 a	0.25 ± 0.05 b	0.70 ± 0.03 a	0.29 ± 0.05 c
PORCENTAJE EN VOLUMEN DEL PLASMA SEMINAL DESPUES DE CENTRIFUGAR.	30 ± 14.90	63.75 ± 14.44	35 ± 19.40	74.25 ± 12.75
ESPERMATOZOIDES QUE SE PIERDEN EN EL PLASMA SEMINAL ml.	49460 ± 32940 a	63390 ± 32546 b	58600 ± 30404 ab	117840 ± 50737 c
PORCENTAJE EN PERDIDA TOTAL DE ESPERMATOZOIDES	0.0070 ± 0.004 b	0.0068 ± 0.0049 ab	0.0066 ± 0.0031 a	0.0140 ± 5.63 c

D I S C U S I O N

Poco es lo que se ha publicado y que tenga relación directa con los resultados obtenidos en el presente estudio, - por lo que esta discusión se dirige hacia los puntos que se refieren a:

En cuanto al lavado de espermatozoides se ha encontrado que es importante el lavado de espermatozoides por centrifugación, en la preparación de semen caprino para conservación en congelación, logrando un aumento en el porcentaje de motilidad y en la viabilidad espermática, que a su vez influye en un alza en fertilidad. Esto es importante cuando se utiliza yema de huevo como base de diluyente del semen. Debido a que dicha base reacciona con el plasma seminal formando -- sustancias espermicidas, de tal forma que por este método -- se logran eliminar, al retirar el plasma seminal que se divide del paquete espermático por efecto de la centrifugación - (Corteel, 1975, 1981, 1982; Van Der Westhuysen, 1978; Aamdal, 1982; Nunes et al., 1982).

En lo referente a los tratamientos de lavado de espermatozoides aplicados al semen en estudio, en la comparación -- general, se puede decir que cada uno reúne características -- que se deben distinguir. El tratamiento 1 (3 000 rpm./15 --

min. sin solución Ringer-Lactato), resultó ser poco efectivo en el lavado de espermatozoides. Debido a que se compactó poco el paquete espermático por esta velocidad de centrifugación, extrayendo poco plasma seminal, mencionando que aquí hubo la menor pérdida de espermatozoides, pero el semen fué de menor concentración, y resultó éste, ser el segundo mejor tratamiento. Si se compara el tratamiento 2 (3 000 rpm./15-min. con solución Ringer-Lactato), se nota una mayor compactación del paquete espermático en relación al tratamiento 1, así mismo se obtiene un mayor volumen de plasma seminal. Pero se considera inadecuado para tomarlo en cuenta para lavado de espermatozoides, ya que aumentó el número de células espermáticas perdidas disgregadas en el plasma seminal. En cambio en el tratamiento 3 (4 000 rpm./15 min. sin solución-Ringer-Lactato), el efecto del aumento de la velocidad de --centrifugación resultó en una mayor compactación del paquete espermático, haciendo así que se lograra mayor extracción --de plasma seminal para efectos de lavado de espermatozoides, y si se compara con los tratamientos anteriores, la pérdida-espermática fué menor, tomando en cuenta que aquí estuvo más concentrado el semen. Y con el tratamiento 4 (4 000 rpm./15 min. con solución Ringer-Lactato), resulta la mayor compactación de células seminales y mayor colección de plasma seminal, pero se dispersan más los espermatozoides en la solu--ción provocando esto, daño a las células espermáticas y por-

lo tanto, se pierden en gran número, por lo que resultó ser el tratamiento menos efectivo para efectos de pérdida de -- espermatozoides en el plasma seminal.

En relación a volumen del paquete espermático contra - revoluciones por minuto, se observa que en los tratamientos donde se aplicó más rápida velocidad de centrifugación - - (RPM), se compactó más el paquete espermático quedando ma-- yor volumen de plasma seminal, pero se pudo observar al eva-- luar los espermatozoides que se pierden en el plasma semi-- nal una cantidad que es mínima en relación a los normales - que se perdieron sin cuantificar, de células espermáticas - anormales por daño mecánico atribuido a la mayor velocidad- impuesta a los tratamientos 3 y 4, pero que se aumentó en - éste último la pérdida en mucho por la adición de la solu-- ción Ringer-Lactato, que dispersa más a los espermatozoides y hace que tarden más en compactarse. La misma observación es reportada por Van Der Westhuysen (1978), sobre la influen-- cia de la más rápida velocidad de centrifugación en el daño de los espermatozoides, y también lo atribuye al mezclado - repetido del semen con la pipeta Pasteur.

Cabe aclarar que no se encontró el equivalente de RPM. a gravedades o viceversa, que es ésta última unidad de velo-- cidad a la que trabajan citados autores, 1,000 g. (Fougner,

1974 citado por Aandal, 1982); 700 g. (Corteel, 1975); 200-g. (Van Der Westhuysen, 1978); 950 g. (Memon et al., 1982).

En el tiempo de centrifugación, se utilizaron 15 minutos invariablemente en los cuatro tratamientos, resultandoadecuado el período empleado y dicho tiempo coincide con el empleado por algunos de los investigadores tales como Corteel (1975) y Memon et al (1982), aunque se ha realizado -- con menor utilización de tiempo como lo es de 5 minutos en el mismo proceso por Fougner citado por Aandal (1982) y Van Der Westhuysen (1978), además que en el presente estudio el lavado de espermatozoides fué hecho solo una vez con el mencionado tiempo, y no dos veces a los mismos como lo hicieron investigadores como Corteel (1975) y Memon et al (1982) quienes así trabajaron. Y en el presente trabajo se notó una pérdida de espermatozoides, que es mayor con la adición de la solución y que se debe considerar al preparar semencaprino para I.A.; con dos veces de lavado al paquete espermático, se reporta aún una mayor pérdida de espermatozoides en el plasma seminal (Corteel, 1975, 1981).

Considerando la centrifugación del semen con solución y sin solución Ringer-Lactato, se puede decir que la solución Ringer-Lactato es buena para el lavado de espermatozoides de cabra cuyo tratamiento mejora el porcentaje de motilidad (Corteel, 1975, 1982; Memon et al., 1982), pero para

los efectos de evaluación de pérdida de espermatozoides, no resultó tanto de utilidad, ya que se provocó disgregación - espermática antes de la centrifugación, provocando un más - largo trayecto al fondo del tubo, haciendo insuficiente la - velocidad o posiblemente el tiempo empleado, pero estos dos factores si se aumentan provocan daño a las células espermá - ticas, por lo que se pierde una mayor cantidad de éstas en - el plasma seminal.

La relación de dilución en el presente trabajo fué de - semen - solución 1:1, a comparación de otras investigacio - nes realizadas, 1:4 (Van Der Westhuysen, 1978); 1:7 y 1:9 - (Aamdal et al., 1982).

Hay una serie de factores que consideramos cabe mencio - nar y son detalles que se pudieron observar y que de una -- manera mínima influyeron en los resultados obtenidos, entre - otros se pueden mencionar:

- Diferente altura o profundidad a la que se metió la pipe - ta Pasteur para aspirar el plasma seminal, también si se -- hizo o no alguna aspiración muy fuerte, así como algun movi - miento circular que provocara el desplazamiento de esperma - tozoides hacia arriba del tubo en la porción de plasma semi - nal, y que fueran tomados en cuenta para evaluar la pérdida

de espermatozoides en cuanto al conteo.

- Hubo variación en el tiempo de conteo de muestras, en que unas se evaluaron más pronto que otras, y por lo tanto, las que fueron últimas pudieron haber tenido un fenómeno de sedimentación los espermatozoides del plasma seminal hacia el paquete espermático.

- La concentración del semen fué diferente en las muestras, por lo que algunas como ya se dijo al comentar los resultados en los cuadros, si fué importante en la pérdida de espermatozoides en el plasma seminal, ya que a mayor concentración más pérdida, pero esto es relativo, ya que entre mayor concentración es menos significativa la pérdida.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- El paquete espermático después de centrifugar no se ve -- sensiblemente afectado.
- El mejor tratamiento al semen en el lavado de espermato-- zoides resultó ser, el realizado a 4 000 rpm./15 min. sin solución Ringer-Lactato. Debido a que hubo menor pérdida de espermatozoides en el plasma seminal.
- Cuando al semen se le agregan soluciones amortiguadoras -- para separar el plasma seminal durante la centrifugación, la pérdida de espermatozoides en el sobrenadante es mayor.
- Cuando se pretende congelar semen centrifugado para fines de inseminación artificial, es recomendable considerar -- esta pérdida espermática.
- Se recomienda realizar pruebas de fertilidad con semen --- congelado en diluyentes a base de yema de huevo centru-- gado y sin centrifugar.

L I T E R A T U R A C I T A D A

1.- Aamdal, J., (1982)

Artificial insemination in goats with frozen semen
in Norway.

Proceedings of the third international conference
on goat production and disease. January 10 to 15.
Tucson, Arizona U.S.A. : 149-152

2.- Aamdal, J., Lyngset, O., Fossum, K., (1965)

Toxic effect of Lysolecithin on sperm.
Nord. Vet. Med., 17, 633-634

3.- Barnes, J., (1978)

You Can Do It: A/I Your Dairy Goat.

The Quarterly Magazine of Dairy Goat A/I

BUCKSHOT, Summer, Hayward, Calif., U.S.A. : 42-43-46

4.- Bearden, H. J. y Fuquay, J., (1982)

Reproducción animal aplicada.

Universidad del Estado de Mississippi.

Ed. "El Manual Moderno", S.A. de C.V.

5.- Corteel, J. M., (1975)

Effect du "lavage" sur la conservation des spermatozoïdes de bouc à basse température.

Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 15 (13): 525-528

6.- Corteel, J. M., (1976)

Variations de la motilité et de la fécondance des spermatozoïdes de bouc.

Ann. Zootech., 25 (4): 567-571

7.- Corteel, J. M., (1977)

Production, Storage and Insemination of goat semen.

Management of reproduction in sheep and goats symposium.

Univ. of Wisconsin, Madison Wis., July, 24 to 25:41-57

8.- Corteel, J. M., (1981)

Collection, Processing and Artificial Insemination of goat semen.

Goat Production, C. Gall Editor

Academic Press Inc. (London) LTD, 171-191

9.- Corteel, J. M., González, C., Nunes, J. P., (1982)

Research and development in the control of reproduction.

Proceedings of the third international conference
on goat production and disease. January 10 to 15,
Tucson, Arizona U.S.A. : 584-591

10.- Crabo, B. G., and Graham, E. F., (1979)

Freezing of spermatozoa.

in: Animal models for research on contraception and fertility.

Harper and Row, U.S.A. : 521-527

11.- Foote, R. H., (1980)

Inseminación artificial. En: Reproducción e inseminación artificial en animales. E.S.E. Hafez.

4a. edición, Lea y Febiger U.S.A. : 497-520

12.- Foote, W. C., (1979)

Breeding without checking estrus: Artificial insemination on a fixed time schedule.

The Quarterly Magazine of Dairy Goat A.I. : 72-75

13.- Fraser, A. F., (1962)

A technique for freezing goat semen and results of small breeding trial.

Can. Vet. Jour., May, 3 (5): 133-144

14.- González, S. C., (1975a)

Inseminación artificial en cabras con semen congelado.
Ciencias Veterinarias, Maracaibo. 5 (1-2): 85-103

15.- González, S. C., García, B. O., Castillo, M. J., (1975b)

Inseminación artificial programada en cabras con semen congelado importado.
Ciencias Veterinarias, Maracaibo. 5 (1-2): 119-140

16.- Hayward, C. A., (1977)

Introduction to artificial insemination.
Magazine of Dairy Goat. U.S.A.

17.- Hunter, S., García, L. L., Nelson, E. A., Dröbnis, E. Z.,
Lin., T. Y., (1982)

Training and collection of male goats using the
artificial vagina.
Proceedings of the third international conference
on goat production and disease. January 10 to 15.
Tucson, Arizona U.S.A. : 535

18.- Jagers, J., (1979)

Investigation of number of bucks and does Born from
A/I as compared to natural service.
Dairy Goat Journal, November: 82-85

19.- Kishore, P. J., (1967)

Artificial insemination in goats.

Indian Vet. Journal, 44: 509-511

20.- Lyngset, O., Aandal, W., Velle, W., (1965)

Artificial insemination in the goat with deep frozen and liquid semen after hormonal sincronization of oestrus.

Norway Vet. Med., 17: 178-181

21.- Mc Donald, L. E., (1981)

Reproducción y endocrinología veterinarias.

2a. edición. Ed. Interamericana.: 288-321

22.- Memon, M.A., Bretzlaff, K. N., Ott, R. S., (1982)

Freezability of washed and unwashed goat semen in different extenders.

Proceedings of the third international conference on goat production and disease. January 10 to 15.

Tucson, Arizona U.S.A. : 282

23.- Meryman, H. T., (1971)

Cryoprotective agents.

Cryobiology

Meryland, U.S.A. 8 (2): 173-183

24.- Moreno, U. P., (1981)

Métodos de preservación de semen y de inseminación artificial en ovino y caprino.

Revista Mundial de Zootecnia. : 17-37

25.- Moreno, V. C. A., (1984)

Inseminación artificial en ganado caprino.

(Revisión bibliográfica)

Tesis de Licenciatura de la F.E.S.-Cuautitlán, UNAM.

26.- Muhuyi, W., Dröbnis, E. Z., Nelson, E. A., Lin, T. Y.,

(1982)

Season, breed and age influences on production and freezability of dairy goat semen.

Proceedings of the third international conference on goat production and disease. January 10 to 15.

Tucson, Arizona U.S.A. : 283

27.- Nimbalkar, M. V., Chavan, V. P., Honmode, J., (1982)

Preservation of goat semen at ambient temperatures.

Proceedings of the third international conference on goat production and disease. January 10 to 15.

Tucson, Arizona U.S.A. : 285

- 28.- Nunes, J. F., Corteel, J. M., Combarrous, Y., Baril, G.,
(1982)
Study of the involvement of seminal plasma constituents
in the seasonal variations of goat spermatozoa motility.
Proceedings of the third international conference
on goat production and disease. January 10 to 15.
Tucson, Arizona U.S.A. : 285
- 29.- Purcella, A. W., (1974)
A.I. (Artificial Insemination) OF DAIRY GOATS.
Dairy Goat Journal. August. : 3-6, 8, 16-18.
- 30.- Roy, A., (1957)
Egg yolk-coagulating enzyme in the semen and Cowper's
glands of the goat.
Nature., February, 159: 318-319
- 31.- Shelton, M., Groff, J., (1984)
Improving reproductive efficiency in Angora goats.
The Texas A&M University System.
College Station, Texas. U.S.A. : 3-16
- 32.- Singh, I. J., Chhotey, S., Sengar, O. P. S., (1982)
Observations on the seasonality in goat reproduction
a - male component.

Proceedings of the third international conference
on goat production and disease. January 10 to 15.
Tucson, Arizona U.S.A. : 536

33.- Sinha et al., (1981)

Effect of season and age on seminal attributes of
Jammapari bucks.

Indian Vet. Journal, 58: 963-965

34.- Smith, M. C., (1978)

Some clinical aspects of caprine reproduction.
College of Veterinary Medicine.

Cornell Veterinary, U.S.A. 64: 200-210

35.- Sørensen, A. M., (1982)

Reproducción animal. Principios y prácticas.

1a. Edición, Mc Graw Hill de México, S.A. de C.V.

36.- Steel, R. G. D., and Torrie, J. H., (1980)

Principles and procedures of statistics a biometrical
approach.

2a. Edición, Mc Graw Hill, INC.

37.- Summermatter, P., Flukiger, A., (1982)

Buck semen processing during off breeding season.

Proceedings of the third international conference
on goat production and disease. January 10 to 15.
Tucson, Arizona U.S.A. : 284

38.- Tervit, H. P., Goold, P. G., (1981)

Embryo transfer and artificial insemination in goats.
Ruakura Farmer's Conf. N. Zelandia. : 173-176

39.- Van Der Westhuysen, J. M., (1978)

Observations on the deep-freezing of Angora goat semen.
S. Africa J. Animal Sc. 8: 111-113

40.- Vinha, B., (1975)

Variacao estacional na producao e qualidade do semen
de capra Hircus.
Arq. Esc. Vet. U.F.M.G., 27 (1): 23-28