



122
200

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

ELABORACION DE UN CUADRO BASICO DE
ANORMALIDADES ESPERMATICAS EN OVINOS

T E S I S

Que para obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P r e s e n t a

DORA ALICIA PEREZ ENRIQUEZ

Asesor: **MVZ. ARTURO A. TREJO GONZALEZ**



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

RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
OBJETIVO.....	32
MATERIALES Y METODOS.....	33
RESULTADOS Y DISCUSION.....	34
CONCLUSIONES.....	48
BIBLIOGRAFIA.....	49

R E S U M E N

El presente trabajo se realizó, para observar las anomalías de tipo primario y secundario del semen de cinco razas ovinas: Rambouillet, Romney Marsh, Pellibuey, Suffolk y Criollo de 2 a 4 años de edad respectivamente, durante los meses de enero a mayo de 1982.

Se obtuvieron un total de 93 muestras de semen, cada una -- diluida en proporción de 1:100 y se procedió a realizar los -- frotis que después fueron observados al microscopio con la -- tinción de eosina-nigrosina, contando 200 células espermáticas por frotis las cuales fueron clasificadas como primarias y secundarias.

Posteriormente se tomaron fotografías con el microscopio de contraste de fase a cada una de las anomalías diferentes -- y los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza para obtener los porcentajes como resultado de dicho trabajo.

Se encontró que lo que respecta a anomalías de tipo primario, únicamente la raza Rambouillet tuvo un valor de 1.57%, -- que es considerado como una diferencia estadísticamente significativa ya que los valores de las cuatro razas restantes quedan dentro del rango del 4%, pero en general todos estos valores quedan abajo del 10% considerado como crítico para la fertilidad. (Hulet y Ercanbrack 1962).

En las anomalías secundarias hubo una mayor variación -- siendo para Romney Marsh el valor más alto de 11.28 y el más -- bajo de 2.66 para Rambouillet, sin embargo tampoco excedieron -- del 15% considerado como el límite de la baja fertilidad. (Hulet y Ercanbrack (1962)).

INTRODUCCION

La medida en la fertilidad normal del semen de carnero está ahora bien establecida y esto hace posible la relación de ciertas anomalías en semen para casos específicos de infertilidad, existiendo además una gran interrelación con otras ciencias. (Fraser 1970).

La relación entre la genética y la reproducción es sin duda la más estrecha que existe entre las ciencias zootécnicas. La reproducción indica el camino por el cual se logra el mejoramiento genético.

Las formas en que la genética afecta el proceso reproductivo puede analizarse mejor dividiendo ésta en tres etapas: precigóticas, cigóticas y poscigóticas.

Entre las causas precigóticas, se encuentran las geográficas, etológicas y anatómicas, siendo una barrera geográfica que impida la cruce por no encontrarse los animales en el mismo tiempo y espacio, gracias a la difusión que se le ha dado a la inseminación artificial esta causa se ha reducido.

También puede incluirse en este primer grupo, las limitaciones sanitarias, económicas y políticas.

Las diferencias etológicas (conducta), así como anatómicas tienen un componente genético con gran potencia que es la base en la formación de las especies.

Las causas cigóticas se dividen en génicas y cromosómicas. Esto depende de la lesión, ya sea que se encuentre en un gen o en un cromosoma extra (monosomía o trisomía), y éstas son las lesiones más comunes en cuanto al número que se han detectado en animales domésticos (Strickberger 1976). Un semen con este tipo de problema será infértil y por lo tanto el animal que lo produce debe eliminarse del pie de cría.

Otra forma cromosómica sería cuando se cruzan especies con diploidias diferentes. En estos casos ocurriría desde un aborto hasta la infertilidad de la cría. (Bustamante 1981).

La aplicación de la nutrición y la genética a la producción animal desplazaron la valoración de las características exteriores de un animal dentro de la industria pecuaria. Ahora los registros de producción son la parte esencial de los programas de mejora en los animales de granja incluyendo a los ovinos, (Dalton 1980).

La tendencia actual es la utilización preferente de sementales probados a través de su progenie y con alto valor de cría, resulta particularmente importante que los machos - portadores de su aceptable caudal genético sean también eficientes desde el punto de vista reproductivo, (Dalton 1980).

Por lo que la valoración del potencial de fertilidad es imprescindible para los criadores de ganado tanto en núcleos selectos como en rebaños comerciales, para detectar -- los machos con fertilidad reducida o aquellos con esterilidad completa lo que repercute en mayor economía para el criador, (Herrick y Self 1965).

Las pruebas que se han utilizado para evaluar la posible fertilidad de un macho se han dividido en pruebas directas como es el poner a un macho con un lote de hembras normales y medir en forma objetiva el número de crías producidas.

Y las pruebas indirectas como son la evaluación de la libido y el examen del semen. De ésta última prueba las características que tienen mayor correlación con la fertilidad -- son la motilidad progresiva de los espermatozoides y el por-

centaje de anomalías espermáticas en el eyaculado, (Hulet y Ercanbrack 1962).

Las pruebas utilizadas en la evaluación de la fertilidad de un macho pueden no ser efectivas cuando se les practica - por separado, pero en conjunto constituyen una gran ayuda sobre la estimación de la eficiencia reproductiva general del rebaño, (Trejo 1982).

En la especie ovina, el semental juega un papel muy importante, ya que en gran medida la cosecha de corderos dependerá de su capacidad reproductora. Esto es considerando que - en un sistema de explotación intensiva o extensiva, al semental se le asignan de 20 a 100 hembras por estación reproductiva pudiendo en algunos casos asignarle mayor número, de tal forma que si la fertilidad estuviera reducida o ausente, el número de corderos se vería afectado.

Diferentes carneros presentan varios grados de fertilidad siendo el caso extremo de aquel carnero que no produce espermatozoides y por lo tanto es estéril; por consiguiente el productor debe elegir a los carneros más aptos tanto para reproducirse como para la producción ya que la rentabilidad de un núcleo ganadero viene determinada por la capacidad reproductora de los progenitores que la integran, (Trejo 1982).

Esta revisión deberá ser metódica y cuidadosa en un lugar con suficiente luz. Posteriormente deberá colocarse el animal en pie y observar si los testículos han descendido al escroto y si existe asimetría. Después se procederá a la palpación para conocer consistencia y movilidad dentro del escroto. Cuando no descienden se conoce como criptorquidismo y cuando solo un

testículo desciende se habla de monorquidismo. Estos animales se deben eliminar del rebaño reproductor ya que son menos fértiles y además es un problema hereditario, siendo la incidencia de criptorquidismo entre 0.2 a 0.6% considerado como porcentaje muy bajo.

También a la palpación se puede detectar una hipoplasia testicular, éstos se sienten pequeños y blandos por lo que se consideran animales estériles.

La consistencia en los testículos de tamaño normal que se palpan demasiado suaves pueden estar degenerados, los duros generalmente presentan fibrosis debida a heridas o enfermedades, la consistencia también se modifica en casos de hipoplasia seguida de procesos inflamatorios y degenerativos. La movilidad se puede ver reducida debido a la presencia de adherencias.

El epidídimo debe ser palpado en sus tres porciones -- (cabeza, cuerpo y cola) para apreciar su volúmen, dilatación-inflamación y obstrucción por una epididimitis.

La epididimitis en la mayoría de los casos es debida a heridas o enfermedades como la brucelosis producida por -- Brucela ovis, éstos animales deben eliminarse ya que la enfermedad puede ser transmitida a hembras y machos.

La cabeza se puede palpar junto con el cordón espermático, en la parte superior del testículo.

Ante las perspectivas descritas se ha originado desde la década de los treinta varias experiencias de gran interés en las pruebas del semen como un método para predecir la fertilidad de los carneros.

LA EVALUACION DEL CARNERO INCLUYE VARIOS ASPECTOS.

1.-Exámen clínico.

Este reúne la información necesaria para determinar si el animal se encuentra en buen estado de salud iniciándose por la anamnesis, la cual tenderá a conocer la fertilidad anterior del semental que dará la sospecha de infertilidad-- y así llegar a determinar alguna posible alteración genética que pueda afectar su capacidad reproductiva ya sea temporal- o permanente. Así como también es necesario poner atención -- especial al aparato locomotor de miembros anteriores y pos-- teriores y observar posibles alteraciones de la columna ver-- tebral.

2.-Exámen de enfermedades.

Es importante que el reproductor ya sea en programa-- mas de empadre o inseminación artificial, sea sujeto a exá -- menes tendientes a determinar alguna enfermedad parasitaria o infecciosa incluyendo estado de carnes.

Tricomoniasis, Brucelosis, Campilobacteriosis y Tubercu - losis son enfermedades que requieren mucha atención y en caso de que el animal saliera positivo a una de éstas, debe ser -- eliminado como reproductor hasta que sea recuperado, de lo -- contrario será eliminado definitivamente del rebaño.

3.-Exámen de los órganos genitales.

En ovinos debido a su talla solo es posible una re - visión de los genitales externos (Bustamante 1981).

En la bolsa escrotal se puede encontrar de manera mas - menos frecuente hernias escrotales y varicocele.

El orificio prepuccial deberá observarse cuidadosamente -

ya que puede ser muy estrecho y esto impedirá la exteriorización del pene (fimosis y parafimosis). A través de la piel puede palparse el pene para tratar de determinar la presencia de tumores, la palpación debe ser indolora ya que el dolor puede considerarse como indicativo de un proceso inflamatorio, también se puede encontrar una dermatosis ulcerativa.

El pene se debe revisar protruyéndolo del prepucio, no debe existir adherencias entre pene y prepucio que impidan libre motilidad. El glande de carnero presenta una proyección uretral aproximadamente de 2 a 3 cm.

4.-Exámen del animal en la monta.

En éste exámen se deberá observar el comportamiento del semental frente a la hembra, esto permitirá conocer la capacidad de la cópula. Es más importante la rapidez con que se efectúa la cópula que el grado de excitación, ya que habrá animales que realicen la monta aún cuando no haya erección o bien eyaculen sin antes haber intentado la monta.

Por otro lado la presencia de personas desconocidas o lesiones que le provoquen dolor durante la cópula son factores que afectan el adecuado desempeño del animal.

5.-Evaluación del semen.

Esta prueba se hace con el fin de predecir la fertilidad del macho. Para ello se hace la colección de semen ya sea por medio de vagina artificial o electroeyaculación.

Del semen obtenido se determinan los siguientes parámetros; pH, motilidad masal, motilidad individual, volúmen, densidad, concentración, anormalidades primarias y anomalías

dades secundarias, (Bustamante 1981).

CLASIFICACION DE LOS METODOS EMPLEADOS PARA LA EVALUACION DEL SEMEN

EXAMEN MACROSCOPICO

Volúmen.

En el carnero el volúmen puede estar influenciado por la estación del año, los valores mas bajos existen registrados entre marzo y junio para el hemisferio norte. El volúmen se expresa en ml, y también varía con la especie, raza, edad, frecuencia de eyaculación y la forma de coleccionar la muestra, la conformación, el número de saltos, recogidas y los factores higiénicos y alimenticios.

Su adecuada pre-estimulación puede aumentar el volumen favorable de baja densidad.

Densidad.

La densidad del semen no debe confundirse con la densidad microscópica (número de espermatozoides por unidad de volumen). La densidad debe valorarse por la cantidad de material gelatinoso observado en la muestra.

Durante el exámen anterior a la venta no se debe considerar aceptable una muestra que tenga una concentración de células espermáticas menores de 100,000 por mm^3 .

Ph(Acidez).

La disminución del valor hidrogeniónico, E. J. (Cohn 1917),

fué uno de los primeros que demostró el efecto de la concentración hidrogeniónica sobre la motilidad y sobre la capacidad fecundante de los espermatozoides según Anderson (1946), citado por (Rutgers 1968). Existe una correlación entre ésta y el volumen del eyaculado y número de espermatozoides por ml. En el carnero el Ph según Milanov es de 6.2 a 6.5, según Letard es 7.6.

Color.

El semen de carnero es un líquido blanco cremoso, normalmente mas denso que el del toro, muestra ondas de movimientos macroscópicas, sus características varían dependiendo del método de colección además de otros factores.

Adquiere un color amarillo intenso cuando se mezcla con la orina, el color verdusco indica procesos necróticos de carácter purulento y este debe considerarse inadecuado para la fecundidad y por lo tanto el animal que lo ha producido deberá mantenerse en observación.

Consistencia.

Se puede valorar observando y agitando levemente a contraluz, puede tener aspecto cremoso, fluido o acuoso. El semen de bovinos, ovinos y caprinos tiene el aspecto de un líquido mas o menos parecido al de la crema de leche y además es muy rico en elementos.

Olor.

El natural es bastante característico para cada especie animal, pero en general no es muy intenso.

Pureza.

Depende de la ausencia o presencia de materiales extraños de procedencia endógena como restos epiteliales, células de descamación, etc.) o exógenas (pelos, productos patológicos diversos, materiales fecales y de cama etc.) Bonadona 1962.

EXAMEN MICROSCOPICO

El exámen microscópico directo del semen fresco debe -- realizarse dentro de la media hora que sigue a la emisión o recogida.

Motilidad masal.

Se dice que la motilidad es normal cuando los espermatozoides presentan un movimiento progresivo.

Para la apreciación de la motilidad masal, se examina a escasos aumentos (20 X 40), una gota de semen no diluido para poder descubrir la existencia eventual de "oleadas", movimientos de flujo y reflujo provocados por la reunión y posterior dispersión de los espermatozoides. La existencia de estas ondas se consideran generalmente como indicio de buena vitalidad de los gametos y de una buena concentración de espermatozoides, Derivaux 1961.

Motilidad individual.

A pesar de su importancia práctica este método es esencialmente subjetivo no siendo posible reemplazarlo por un medio objetivo. Los resultados sin embargo son expresados numéricamente en porcentaje de espermatozoides móviles y según una escala que varía entre 0 y 5.

Un espermatozoide de buena calidad debe poseer por lo menos - de 60 a 70% de espermatozoides móviles con un grado de motilidad o coeficiente de 4 o 5. La motilidad es un signo importante de la vitalidad y de la calidad del semen.

La muestra se examina a grandes aumentos para valorar el porcentaje de gametos móviles y su grado de motilidad, -- Derivaux 1961.

Los diferentes modelos van desde ausencia de ondas o cualquier tipo de motilidad hasta la presencia de ondas oscuras prominentes con movimientos muy rápidos y se clasifican de acuerdo a diferentes métodos, Zemjanis 1966.

Concentración.

La concentración normal de espermatozoides en semen de carnero puede variar cerca de 1.6 a 6.0×10^9 /ml, con un promedio de 3.6×10^9 /ml.

La concentración espermática en un eyáculado puede ser establecida por cinco métodos generales:

a).-Recuento celular directo.

En éste primer método se emplea el hemocitómetro de - Neubauer o también conocido como Fuchs Rosenthal.

Antes de tomar la muestra se remueve el semen cogiendo el colector entre el pulgar y el índice, tomando el recipiente con una mano y golpeando suavemente su base con una serie de toques suaves, se aspira el semen con cuidado hasta la marca de dilución y una vez que el menisco coincide con la señal se retira la punta de la pipeta y se seca el resto de semen adherido.

La muestra tomada se introduce por succión en la cámara de dilución de la pipeta, luego se llena dicha cámara hasta la marca calibrada, la pipeta mezcladora debe estar tapada y ha de agitarse con movimientos rápidos de muñeca para asegurarse de que los espermatozoides se distribuyen regularmente. Una vez efectuada la mezcla las dos primeras gotas se tiran y la muestra diluida se lleva entonces a una cámara "standar" de recuento de glóbulos rojos de volumen conocido.

Una vez que todos los espermatozoides quedan en reposo se cuentan las cabezas que están situadas dentro de un número determinado de cuadros y las que tocan dos de sus lados.-

La concentración de células en un volumen conocido se calcula entonces a partir de la cifra obtenida en el recuento y del coeficiente de dilución.

La precisión o exactitud de éste método varía. Comstock et al, citado por Salisbury 1964., han establecido para el semen ovino un error típico para determinaciones dobles que por término medio es de $\pm 8\%$ del valor promedio.

b).-Método nefelométrico.

Un nefelómetro, es un aparato que mide la intensidad de un rayo luminoso determinado de semen diluido en cierto tiempo.

El semen que se va a examinar, se homogeniza bien y se toma 0.1 ml del mismo con una micropipeta hecha expresamente para obtener esta cantidad, una vez limpio el extremo de la misma se deposita la cantidad de semen contenido en la pipeta sobre el tubo de ensaye. El diluyente debe ser aspirado dos o tres veces en la micropipeta para expulsar los restos de semen adheridos en la misma.

Se mezclan cuidadosamente el semen y el diluyente y se lee directamente la densidad óptica o bien el porcentaje de transmisión luminosa y se determina la densidad óptica.

El aparato debe ser calibrado frente a semen diluido de una concentración conocida, determinada mediante recuento celular directo.

Comstock et al, citado por Salisbury 1964, han comprobado que el error que se comete con éste método es ligeramente inferior al del hemocitómetro, por otra parte Emik y Siddwell, citado por Salisbury 1964, han observado que en el semen de carnero la presencia de residuos celulares es una considerable causa de error en la valoración nefelométrica y recomienda que se efectúe una calibración para cuatro niveles diferentes de residuos, Salisbury 1964.

c).-Método del volumen celular.

El método de determinación de la concentración citospermática a partir del volumen celular, por medio de centrifugación rápida con tubos capilares puede ser utilizado cuando no se dispone de otros medios, pero es el menos exacto, Ibarquengoitia 1982.

d).-Método del contador electrónico de partículas.

Este contador es un instrumento en el cual se registran cambios de voltaje cuando una célula espermática pasa a través de una abertura que da lugar a un cambio en la resistencia eléctrica. Para utilizar éste instrumento el semen es diluido en una solución salina normal en una proporción de 1:600 y la suspensión hecha se hace fluir a través de una

abertura circular en la cual se mantiene el voltaje.

e).-Método de comparación visual.

Se basa en el empleo de los tubos de opacidad de ---- Brown's que son tubos preparados especialmente para estimar la densidad del semen. Estos tubos poseen una opacidad graduada que se compara con la opacidad de la muestra del eyaculado diluido en una concentración conocida y colocada en un tubo similar. La muestra es comparada con los tubos graduados colocándolos entre los tubos que mas se aproximen en densidad, según el criterio del observador colocados delante de un papel blanco.

La densidad y por lo tanto la concentración de espermatozoides puede ser entonces calculada. Debe tenerse en cuenta que éste método solo mide la densidad y dará resultados falsos si el eyaculado contiene otros materiales opacos como pus, células sanguíneas u otros contaminantes.

Ibargüengoitia 1982.

Cuadro # 1. COMPOSICION DEL SEMEN DE CARNERO.

Componente	mg/100 ml de semen.
Vol. de eyaculación, ml.	1.0(0.7-2.0)
Espermatozoides, mill./ml.	(2000 - 5000) 3000
Espermatozoides tamaño en micras	-
Peso Específico	-
Depresión del punto de congelación °C	0.64(0.55-0.70)
Conductividad, Mh X 10 ⁻⁴	63(50 - 80)
Ph	6.9(5.9-7.3)
Fructosa	500

Salisbury 1964.

EL PRESENTE TRABAJO DISCUTIRA LO RELACIONADO A LA MORFOLOGIA ESPERMATICA Y SUS ANORMALIDADES

Estas se dividen en las primarias que son aquellas --- que se originan durante el desarrollo de los espermatozoides en los tubos seminíferos y las secundarias que son las que se producen durante el almacenamiento de espermatozoides en epidídimo, durante la eyaculación o en la recolección y --- técnicas de evaluación.

CLASIFICACION DE LAS ANORMALIDADES ESPERMATICAS

Las anomalías de la cabeza del espermatozoide incluyen:

Cabezas microcéfalas, cabezas macrocéfalas, cabezas dobles, cabezas alargadas o estrechas, cabezas piriformes con una base estrecha o ahusada, cabezas retorcidas, irregulares- cabezas redondas y cortas, acrosomas anormales (espermatozoides nudosos), invaginaciones de la membrana nuclear, cabezas separadas o libres, galea capitis y acrosomas desprendidos.

Las anomalías del cuerpo o la parte media de los espermatozoides incluyen.

Cuello hinchado, cuello retorcido con enrollamiento de la parte intermedia y la cola alrededor de la cabeza, cuello desnudo o filiforme, implantación abaxial del cuello y la --- parte intermedia a la cabeza; a menudo con un vestigio corto de un segundo cuerpo, engrosamiento de la parte intermedia;

generalizado o localizado craneal o caudal.,pieza intermedia doble,pieza intermedia arrollada,pieza intermedia torcida -- con cola muy arrollada,pieza intermedia en "tirabuzón",piezas intermedias y colas sueltas o libres;éestas pueden tener poca motilidad,cuellos torcidos,piezas intermedias con gotitas protoplasmáticas en el punto de máxima curvatura. Roberts 1971.

Las anomalías de la cola de los espermatozoides incluyen.

Colas muy arrolladas en espiral,colas dobles,falta de acortamiento de las colas,colas arrolladas,colas dobladas - con o sin una gota protoplasmática en el dobléz y colas rotas.Roberts 1971.

Los tipos de anomalías espermáticas que se ven -- comúnmente incluyen espermatozoides sin cola,cola enrollada,cola doblada,gotas protoplasmáticas,cabezas piriformes - cabezas pequeñas,cabezas alargadas y adheridas abaxialmente, Moss et al, 1979.

CAUSAS QUE ORIGINAN ESTAS ANORMALIDADES.

A).-Estímulos físicos.

Como el transporte de los animales a distancia con posibilidad de recuperación totalmente normal.

B).-Falta de movimiento.

Por la contención del animal en un espacio limitado,-- como ocurre en algunas engordas.

C).-Tratamiento con tiouracilo y en estados febriles.

En ambos casos en proceso es fácilmente reversible.

D).-Criptorquidismo unilateral.

E).-Las avitaminosis A y B.

Estas interrumpen la espermatogénesis en los estadios mas precoces con reversibilidad, si el suministro de vitaminas se hace a tiempo.

Las avitaminosis E, si no es grave altera la espermatogénesis en los primeros estadios; mientras que por el contrario si es grave lleva a la degeneración del testículo completo, caso en que permanece solamente los vestigios de las células de Sertoli y el proceso parece hacerse irreversible por falta de las células germinales diferenciadas.

F).-Edad del animal.

Staemmler et al, 1943, citado por Bonadona 1962, señalan

que la vejez determina raramente lesiones atróficas en los testículos, como por el contrario sobrevienen en los ovarios.

En dicha edad predominan las malformaciones congénitas del aparato de la reproducción (hipoplasia y aplasia testicular o del epidídimo, alteraciones de la espermiogénesis etc.).

En los individuos jóvenes son muy frecuentes las aplasias testiculares y epididimales congénitas, mientras que en los adultos las degeneraciones atróficas y fibrosas así como la rigidez, Bonadona 1962.

El factor edad en los machos puede tener influencia en la motilidad y porcentaje de espermatozoides anormales. Estas dos características llevan una relación significativa uno al otro, Eaton y Simmons 1952.

G).-Estación del año.

Se acción es típica sobre todo en las especies animales cuya actividad espermatogénica es estacional (la mayor parte de razas ovinas y caprinas etc.), por lo cual especialmente al comienzo de la estación copuladora parece que abundan las formas atípicas; existen también en el macho cabrío según Pallaske 1942, citado por Bonadona 1962. Según las cuales la pausa sexual prolongada llevaría a la alteración orquípares quimatosas transitoria y parcial por la acumulación de espermatozoides no eyaculados que actuando como cuerpos extraños acarrearían la formación de células gigantes.

Mckenzie y Berliner, 1937 citado por Bonadona 1962. Han demostrado que en los carneros en número de espermatozoides-

anormales es mucho mas elevado fuera de la estación de monta, por lo cual algunos carneros demostraban poseer incluso de -- 700 a 900 formas anormales por 1000.

El frío según Staemmler, 1943 citado por Bonadona 1962, sería inocuo en relación con la espermatogénesis.

El efecto adverso de la estación pudo ser visto sobre la aparición de un porcentaje alto de espermatozoides anormales en la estación de verano, también nos dice que existe una forma típica de degeneración seminal debido al efecto adverso del clima caliente del trópico observándose en carneros Romney Marsh, siendo principalmente de cabezas sin cola al comienzo de la degeneración y que pronto fueron seguidas por anomalías primarias, Sahni y Roy 1972.

El examen de semen recogido de carneros Suffolk jóvenes en la estación de reposo sexual demostró una acentuada reducción de volumen y de la densidad, con un aumento de porcentaje de las formas morfológicamente anormales.

Se ha obtenido en invierno un aumento del número de los espermatozoides anormales análogamente a lo observado en verano, manteniendo a los carneros en locales calientes, --- Bonadona 1962. Mientras las anomalías espermáticas pueden ser de origen genético, éstas son usualmente mas asociadas con algunas condiciones adversas del medio ambiente y es -- esta categoría una temperatura elevada es bien conocida como causa de la baja calidad en semen de carneros.

H).-Régimen sexual.

Cuando los coitos están demasiado próximos entre sí, en relación con la especie, el individuo, la alimentación etc., - pueden abundar las formas inmaduras, mientras que si están - demasiado distanciadas, pueden aumentar las formas involu^o nadas mas o menos alteradas morfológicamente e incluso tam- bién los fragmentos citospermáticos como colas y cabezas - desprendidas.

Laing 1945, citado por Bonadona 1962, admiten que el se^o gundo eyaculado es el que puede considerarse como el mejor- y más típico ya que en el primero cabe la existencia de ele^o mentos espermáticos que permaneciendo en el epidídimo o en- las ampollas seminales, han podido iniciar su fase de invo- lución. Por el contrario, en el tercer y cuarto eyaculado -- pueden encontrarse formas inmaduras.

Un reposo sexual prolongado puede llevar a una forma de frigidez temporal y abstinencia; apreciándose en las es- pecies estacionales, Bonadona 1962.

Walton et al, citado por Bonadona, 1962, ha observado - también una mayor cantidad de espermatozoides anormales en- el primer eyaculado, después de un largo período de reposo - sexual.

I).-Alimentación.

Este factor parece realmente de importancia notable, en los reproductores bajo una alimentación escasa en pró- tidos y lípidos, preferentemente verde y acuosa (hierba cor- tada), pobre en sales minerales.

En dicho período los espermatozoides aberrantes fueron numerosos, pero fueron mejorados con la inoculación parental de dosis elevadas de ácido ascórbico y corregido más tarde con el suministro de alimentación rica en proteínas y más adecuada (avena triturada, buen heno).

J).-Higiene de la manutención, estado de salud y de enfermería.

Las observaciones estadístico-experimentales no son suficientes y demostrativas. Puede considerarse que una manutención irregular, un prolongado régimen de establo etc., influyen sobre la espermátogénesis así como sobre el desarrollo de cualquier enfermedad especialmente si es toxicoinfecciosa y sobre todo durante el estado febril, Bonadona 1962.

K).-Acción de los tóxicos de determinados fármacos.

Siendo el aparato genital una vía menos importante -- que otras en la eliminación de toxinas endógenas, así como para determinados medicamentos que existen en la circulación sanguínea, se puede pensar en una posible alteración transitoria o definitiva de la espermátogénesis, Bonadona 1962.

Las investigaciones son muy escasas al respecto.

Jackson et, al 1975 obtuvo resultados en el estudio de los efectos que produce el methoxychlor y malatión en semen de carneros y sugieren que éstos pueden consumir los insecticidas mencionados en cantidades múltiples de su respectiva tolerancia en el heno de alfalfa por un tiempo prolongado sin efecto apreciable en el volumen, motilidad espermática,

concentración o morfología y por esta razón presumiblemente sin efecto en su integridad reproductiva.

ORIGEN DE LAS ANORMALIDADES ESPERMATICAS.

1.-Anormalidades cefálicas.

a).-Los macrocéfalos y microcéfalos con conformación aberrante en forma de pera, no puede afirmarse que estas modificaciones sean exclusivamente de procedencia testicular ya que podrían derivar de condiciones anormales del epidídimo o de otros sectores de las vías deferentes, Bonadona 1962.

b).-Desprendimiento de la cabeza. Cuando las cabezas mantienen una conformación normal debe presumirse que el desprendimiento constituye una consecuencia debido a la manipulación in vitro (soluciones no espermiogénicas, calentamiento excesivo a la flama), Blom citado por Bonadona 1962.

Si su aparición en el eyaculado es abundante, continua o periódica, se debe suponer una alteración testicular o del epidídimo (orquitis, epididimitis aguda o crónica).

Anormalidades de cuello.

Estas anomalías son raras, las posiciones angulares de la cabeza con respecto a la pieza intercalar constituyen la anomalía más frecuente (1 - 2.66 por frotis).

3.-Anormalidades de la cola.

Ha sido muy discutida y son consideradas como anomalías graves.

a).-Entre las colas sin cabeza representan el 3.17% de las anomalías caudales en los toros fecundos y el 2.97% en los infecundos, pero en estos casos la atipia se presenta en mayor cantidad y aumenta en los eyaculados sucesivos al primero.

b).-Espermatozoides de cola incurvada o retorcida.
Expresan la existencia de condiciones endógenas o exógenas.

c).-Espermatozoides con cola doble.
Son relativamente frecuentes, muchas veces la cola se dispone en arco y en ésta última permanece como reliquia.
Los espermatozoides con cola diversamente replegada aparece frecuentemente en los toros que se masturban, Blom citado por Bonadona 1962.

d).-Colas constantemente enrolladas en anillo.
Representan la anomalía más frecuente entre todas las que tienen su sede en la cola, Rollison citado por Bonadona 1962.

e).-Colas curvadas.
Representan el 10.22% de las anomalías de la cola, con frecuencia relativamente mayor en los toros normales - 12.19% con respecto a las anormales.

f).-Colas rotas o fragmentadas.

Han sido encontradas con frecuencia del 14.63% de --- todas las anomalías de la cola y solo en toros con semen -- normal, por lo que se considera que se trata de una conse -- cuencia mecánica más fácil de encontrar si el semen es denso.

g).-Colas replegadas en forma de bucle.

Aún no se ha podido encontrar claramente un nexo genético entre los animales examinados, la lesión es considerada como hereditaria refiriendo que la presencia de espermato -- zoides con pieza intercalar ~~anormal~~ está asociada a hipoplasias testiculares hereditarias, Lagerlöf, citado por Bonadona 1962.

h).-Las colas muy dobladas y que dan varias vueltas - alrededor de la cabeza son consideradas como anomalías gra- ves.

i).-Las colas dobladas en 180° sobre la parte media -- constituyen una anomalía frecuente que la mayoría de las ve- ces sería debido al frío o artificios de la técnica.

j).-Cuando la flexión de la cola es verdadera un por - centaje de espermatozoides posee la gota protoplasmática en el lazo formado por la flexión.

4.-La gota protoplasmática.

Este corpúsculo puede encontrarse tanto en la base - de la cabeza en correspondencia con el llamado cáliz basal y menos frecuente a lo largo de la pieza intercalar o al -

final de la misma.

Es más fácil verla en los animales jóvenes de preferencia en los meses primaverales, más que en los reproductores viejos y en los meses restantes del año, también es fácil encontrarla en los espermatozoides contenidos en las diversas porciones del epidídimo pero en posiciones distintas.

El significado biológico y la composición histoquímica no están todavía totalmente aclarados, Bonadona 1962.

Numerosos autores estiman que la gota interviene en la nutrición de los espermatozoides durante el paso a través -- del epidídimo antes de entrar en contacto con el plasma seminal, Bonadona 1962.

Blom et al, 1950 citado por Bonadona 1962, estiman que la gota debe considerarse como fisiológica expresando hasta cierto punto el grado de juventud de los espermatozoides, es decir que entre más próxima esté a la base de la cabeza, menos se deben considerar como viejos a los espermatozoides.

Cabe mencionar que los espermatozoides procedentes del testículo o cabeza del epidídimo la gota es mucho más frecuente en la base de la cabeza, Bonadona 1962.

La forma nudosa corresponde a una alteración del acrosoma con disminución de la aptitud fertilizante, Bonadona 1962.

Gunn, 1942; Hancock 1959., citado por Cameron 1977, en varios trabajos han reconocido que la morfología del espermatozoide puede ser alterada por los métodos usados para examinarlos al microscopio, causando cabezas y cuellos rotos.

Moss et al, 1979, menciona que existen cambios morfológicos terciarios que son debido a técnicas de manejo del semen como el shock de calor, agua u orina, esto causará cola y pieza intermedia doblada.

La presencia de espermatozoides con acrosoma anormal-consideran que puede ser atribuida a un gen recesivo, Hancock y Donald, citado por Bonadona 1962.

El número elevado de copias cefálicas separadas es interpretado como síntoma de anomalía genital de escasa fertilidad de la muestra, Bonadona 1962.

TECNICAS DE TINCION

Existen diversas técnicas de tinción, las cuales se describen como sigue:

TINCTION DE TINTA CHINA.

La tinta china es el colorante más fácil y sencillo para ser utilizado. La tinta se mezcla en la proporción de cuatro por una de semen.

La mezcla se consigue extendiendo el colorante y el semen diluido a lo largo del portaobjetos con ayuda de otro limpio. El frotis se seca al aire, se coloca sobre ella un cubre y se examina por inmersión en aceite, Herrick y Self - 1965.

TINCTION CON EOSINA-NIGROSINA.

Es otro método de tinción simple. Se mezcla una gota de solución acuosa de eosina al 5% con otra gota de semen para añadir seguidamente dos gotas de nigrosina y se remueve a continuación con suavidad.

El frotis a examinar se prepara pasando un porta limpio sobre la mezcla líquida del colorante y el semen dejando luego secar al aire.

Los espermatozoides muertos se tiñen de rojo y los que estaban vivos durante el proceso de coloración se conservan incoloros, Herrick y Self 1965.

TINCION DE WRIGHT.

Utilizado comúnmente para teñir frotis de sangre, también empleado para exámenes de semen. Este colorante no es tan satisfactorio porque tiende a precipitar en el portaobjetos, produciendo formas caprichosas y no colorea tan efectivamente a los espermatozoides.

El semen debe extenderse suavemente sobre un portaobjetos limpio y fijarse por secado al aire. Luego hay que sumergirlo en una solución de cloramina T al 0.5% o al 1% para eliminar el exceso de moco, aunque esto puede romper algunos espermatozoides.

Después de su inmersión en esta solución clorada durante 5 a 7 minutos, la película de semen se lava suavemente primero con agua destilada y luego con alcohol de 95% y se seca.

La película del semen se cubre con el colorante de Wright durante un minuto, luego se le agrega agua destilada hasta la aparición de un brillo metálico.

El colorante se deja sobre el portaobjetos durante 2 a 5 minutos antes de lavarlo e quitarlo con agua destilada.

Después de secar al aire se le puede observar por inmersión en aceite o con el mayor aumento del microscopio, Roberts, 1971.

COLORANTE DE CASARETT.

Se fijan películas finas de semen fresco en portaobjetos de vidrio sumergiéndolas durante 3 minutos en una mezcla de partes iguales de alcohol etílico y éter, los porta-

objetos se secan al aire. Se colorea por inmersión durante -- 5 a 7 minutos en una solución de colorante calentada de 40 a 60°C.

La solución de colorantes consiste en 30 ml o 2 volumes de eosina B en solución acuosa al 5% y 15 ml, e un volumen de solución acuosa de fenol al 1%. Los frotis coloreados se lavan con agua destilada, se les seca al aire y se montan en bálsamo.

La estructura de los espermatozoides se delinea muy -- claramente con éste colorante, Roberts 1971.

TINCION DE HEMATOXILINA-EOSINA.

La pelcula se seca y se tiñe por 24 horas en hematoxilina y enseguida se lava con agua de la llave y se mantiene -- por 10 segundos en alcohol saturado de eosina, Moss et, al 1979.

TINCION DE METILVIOLETA.

Una solución de metilvioleta al 1% es alcalinizada justo antes de usarse con una solución de carbonato sódico al 1%.

Después se lava la pelcula seca en agua destilada, la -- tinción se aplica por 5 minutos.

La pelcula se lava por 10 segundos en agua destilada se seca y se monta, Moss et el 1979.

TINCION DE CARBOFUCSINA.

Las pelculas se dejan secar por dos o tres horas.

Cuando se llenan con 0.5 de la solución de cloramina, -

por un minuto se remueve el moco, se lava en agua destilada-- y se pone alcohol al 96%.

Estas se tiñen en una mezcla de dos partes de una solución al 1% de carbofucsina a una parte de alcohol saturado de eosina por 2 a 5 minutos, se lava en agua y se mantiene la tinción con azul de metileno de Looffler's por 5 segundos. Moss et, al 1979.

TINCION DE AZUL OPALO.

Puede ser usada en la misma forma que la nigrosina, la solución azul ópalo si está caliente se deja enfriar y unas cuantas gotas se mezclan con una gota de semen.

La película se hace como se describe para frotis, se -- seca y se monta antes de ser examinado, Moss et al, 1979.

TINCION DE WILLIAMS.

Tiene la doble ventaja: simplicidad y rapidez.

La técnica es fácil y la visión microscópica es en general bastante nítida. Se procede fijando el frotis a la llama -- tratar con solución de cloramina al 0.5% o al 1 - 2%, durante -- el primer minuto para eliminar el moco y demás material heterogéneo.

Se lava con agua destilada y secar, tratar rápidamente con alcohol al 95%, Bonadona 1962.

Teñir durante 1 - 5 minutos con solución de fuchina fúnica y eosina. Lavar con agua y secar, por último colorear para dar contraste con azul de metileno durante 2 a 5 segundos.

La cabeza del espermatozoide adopta una coloración rojo lila; la pieza intercalar rojo-oscuro, así como la cola.

TINCION DE AZUL DE ANILINA.

Este método ha sido usado con éxito, como directo para el reconocimiento del capuchón cefálico.

Primero fijar en sublimado acético, lavar perfectamente con agua destilada.

Tratar con ácido fosfomolibdico como mordiente al 5% - durante 5 minutos, secar con papel filtro y teñir con azul de anilina acética de Berblinger y diferenciar en alcohol absoluto de 95⁰.

El capuchón cefálico se tiñe en azul tenue, las estrías marginal y transversal en azul oscuro, Bonadona 1962.

TINCION DE GRAM ORIGINAL.

Se fija el frotis, se tiñe con violeta fenicada de Nicolle durante 2 a 3 minutos, se vierte el exceso de solución colorante sin lavar y secar.

Se trata con agua de Lugol diluido en agua destilada - durante 45 segundos, se vierte la solución de Lugol, se seca con papel filtro y diferenciar en alcohol absoluto durante 5 segundos, secar con papel filtro nuevamente y diferenciar en alcohol absoluto durante 40 seg.

Montar en bálsamo de Canadá sin tinción de contraste, Bonadona 1962.

O B J E T I V O

El siguiente trabajo tiene por objeto elaborar un cuadro básico de anomalías primarias y secundarias en el semen ovino que servirá como referencia en los trabajos subsiguientes de investigación en reproducción de ovinos en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán U N A M .

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

El presente trabajo se realizó en el Centro ovino de Chapa de Notá durante los meses de enero a mayo de 1982.

Se observaron 93 muestras de semen de carneros de -- 2 a 4 años de edad, pertenecientes a cinco razas.

El semen se recolectó por medio de la vagina arti - ficial, Cameron 1977.

De cada muestra de semen se realizó una dilución -- 1:100 en citrato de sodio al 2.9%, a una temperatura de 37⁰C.

De cada tubo se tomó una gota de semen diluido con - una pipeta Pasteur para teñirse con la técnica de eosina-ni - grosina, Moss et al 1979.

Se observaron 93 frotis para determinar el porcentaje de anomalías primarias y secundarias. Se contaron 200 -- células espermáticas en cada laminilla con el objetivo de - inmersión 1000 X, Zemjanis 1966.

Todas las laminillas fueron rastreadas con el micros - copio de contraste de fase para fotografiar cada anormali - dad diferente que se presentó y analizar su clasificación -- como primaria o secundaria.

Los datos se analizaron estadísticamente mediante un - análisis de varianza totalmente al azar con réplicas dife - rentes en cada tratamiento, Steel y Torrie 1980.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro (2) se presentan los porcentajes de anomalías primarias y secundarias para cada una de las razas.

En las anomalías primarias podemos observar que cuatro razas tienen valores similares dentro del rango de 4% y solamente la raza Rambouillet mostró 1.57% lo cual fué una diferencia estadísticamente significativa, sin embargo todos los valores quedan por abajo del 10% considerado como crítico para la fertilidad, Hulet y Ercanbrack 1962.

Las anomalías secundarias muestran mayor variación siendo la más alta de 11.28 para la raza Romney Marsh y la más baja de 2.66 para la raza Rambouillet, pero tampoco excedieron del 15% considerado como el límite de la baja fertilidad, Hulet y Ercanbrack 1962.

Consecuentemente la suma de anomalías primarias más anomalías secundarias no excedió en ningún caso el 25%.

Con el tipo de tinción usada en este trabajo no fué posible observar anomalías del acrosoma.

En las figuras de la 1 a 28 se muestran espermatozoides normales y anormales de ovino clasificadas de acuerdo al tipo de malformación en primarias, secundarias y alteraciones mecánicas.

En éste trabajo la anomalía encontrada mas frecuentemente fué la de espermatozoides con cola enrollada en su porción proximal, distal y sobre la cabeza.

Lo anterior está de acuerdo con, Bonadona 1962 quién reporta que en el carnero el tipo de anomalía que encontró -- con mayor frecuencia fué el de la cola enrollada que hizo su aparición durante el invierno reafirmando de ésta manera el -- dato citado anteriormente, dado que las muestras obtenidas para este trabajo se realizaron abarcando las estaciones de invierno y primavera.

Le sigue en importancia la anomalía de la cola incurvada formando asas, de la cual no se sabe nada acerca de su -- aparición en ovinos.

Cuadro # 2. Resultados de anomalías primarias y secundarias en el eyaculado de carneros de cinco razas durante los meses de enero a mayo de 1982.

Raza	n	% de anomalías primarias	% de anomalías secundarias	% total de anomalías
Suffolk	25	4.42(a)	5.29(b)	9.71
Romney Marsh	15	4.24(a)	11.28(a)	15.52
Criollo	24	4.43(a)	7.51(a)	11.94
Rambouillet	14	1.57(b)	2.66(c)	4.23
Pelibuey	15	4.48(a)	7.63(a)	12.11

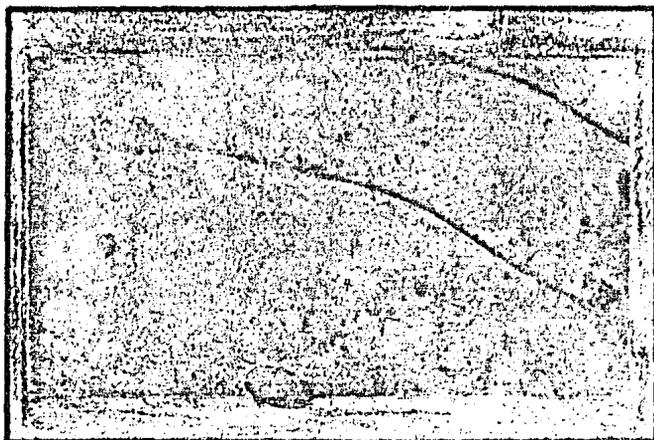
Letras diferentes en las columnas representan diferencias significativas $P < 0.01$ Steel y Torrie, 1980.

Cuadro # 3. Tablas de ANOVA para anomalías primarias y secundarias en los espermatozoides ovinos.

	ANORMALIDADES PRIMARIAS		F
	FV	GL	
TOTAL	92	3128.75	
TRATAMIENTO	4	703.96	6.38
ERROR	88	2424.79	

	ANORMALIDADES SECUNDARIAS		F
	FV	GL	
TOTAL	92	1183.22	
TRATAMIENTO	4	218.64	4.98
ERROR	88	964.58	

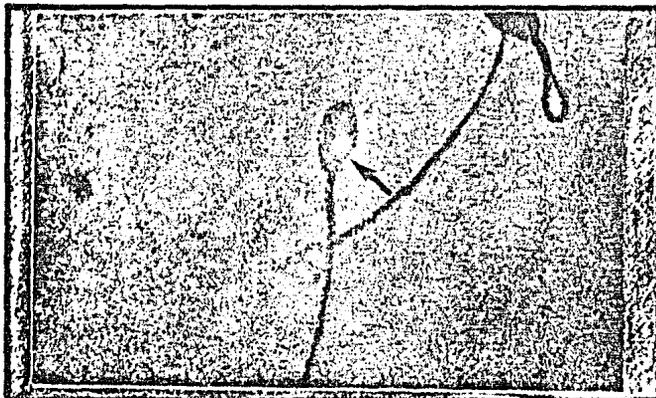
Steel y Torrie, 1980.



1

ESPERMATOZOIDE
NORMAL.

A N O R M A L I D A D E S P R I M A R I A S .



2

ESPERMATOZOIDE
CON CABEZA
PIRIFORME.



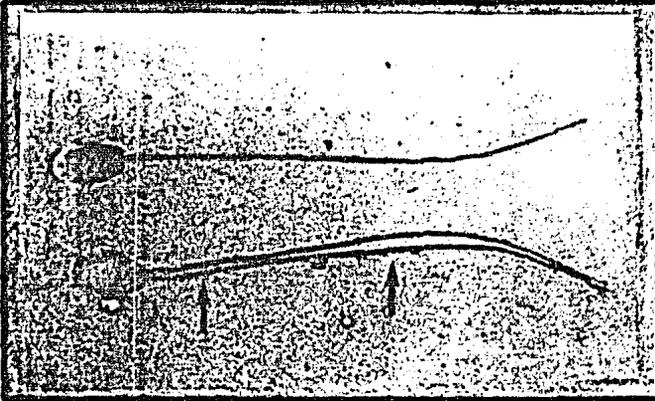
3

ESPERMATOZOIDE
MICROCEFALO.
(CABEZA RUDIMENTA
RIA).



4

ESPERMATOZOIDE
CON DOBLE CABEZA
Y COLA ENROLLA-
DA.



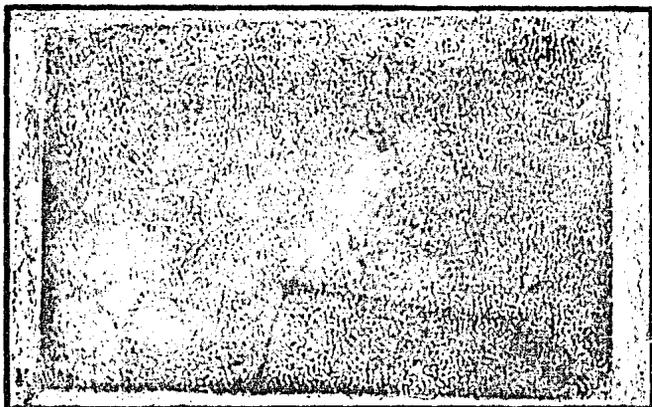
5

ESPERMATOZOIDE
CON DOBLE PIEZA
MEDIA Y DOBLE
COLA.



6

ESPERMATOZOIDE
CON DOBLE COLA



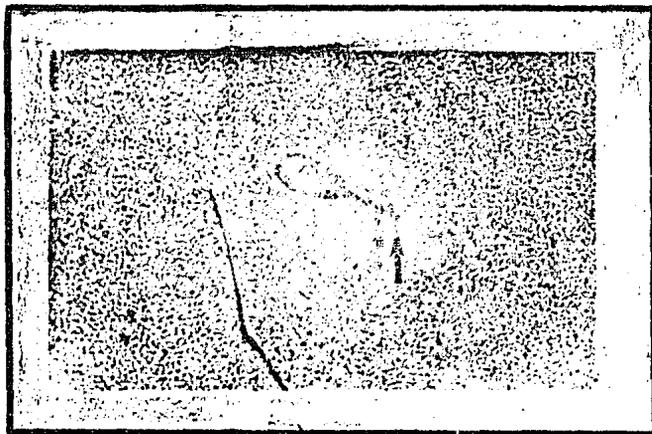
7

ESPERMATOZOIDE CON
IMPLANTACION ABA--
XIAL DE LA COLA.



8

ESPERMATOZOIDE CON
LA COLA ENROLLADA
SOBRE LA CABEZA.



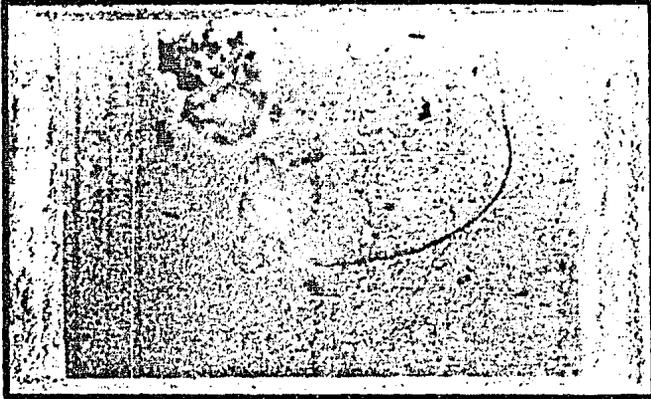
9

ESPERMATOZOIDE CON
COLA RUDIMENTARIA.



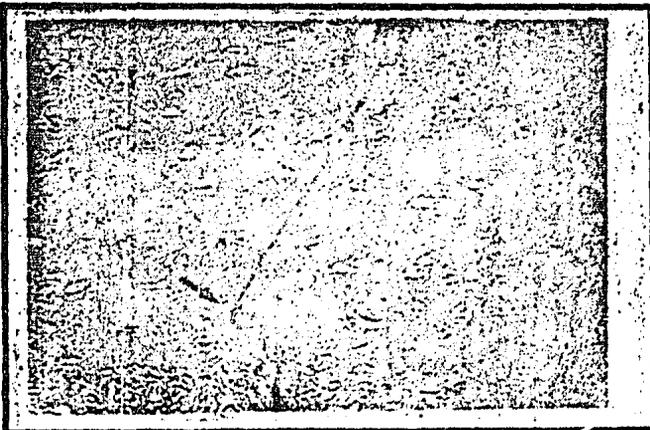
10

ESPERMATOZOIDE CON
COLA ENROLLADA.



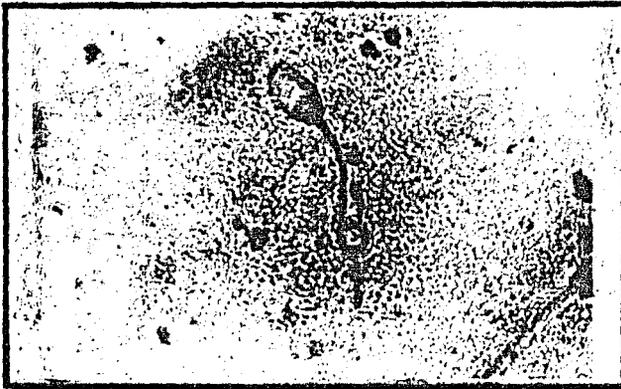
11

ESPERMATOZOIDE CON
COLA ENROLLADA EN
FORMA DE OCHO.



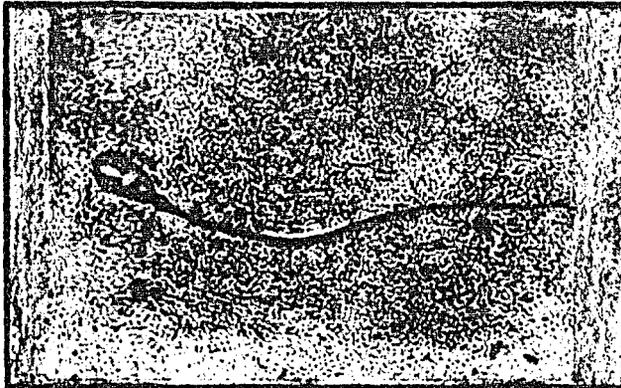
12

ESPERMATOZOIDE CON
COLA ENROLLADA EN
SITUACION DISTAL.



13

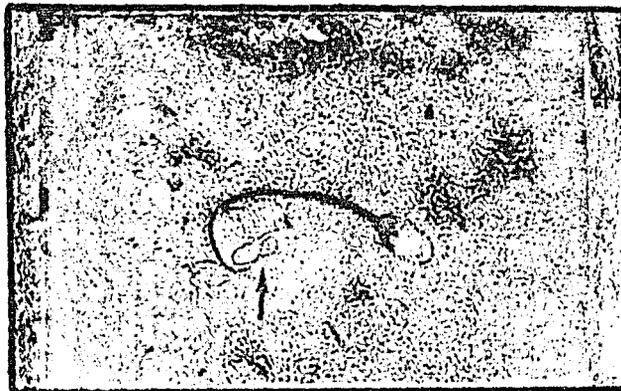
ESPERMATOZOIDE CON
LA COLA ENROLLADA
EN SITUACION --
PROXIMAL.



14

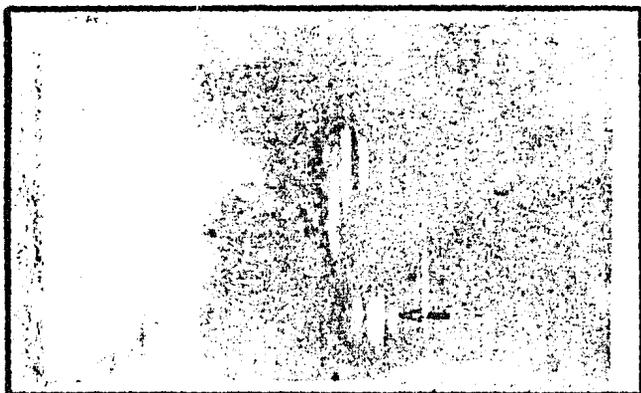
ESPERMATOZOIDE CON
GOTA PROTOPLASMA
TICA PROXIMAL.

ANORMALIDADES SECUNDARIAS.



15

ESPERMATOZOIDE CON
COLA DOBLADA EN LA
PORCION DISTAL.



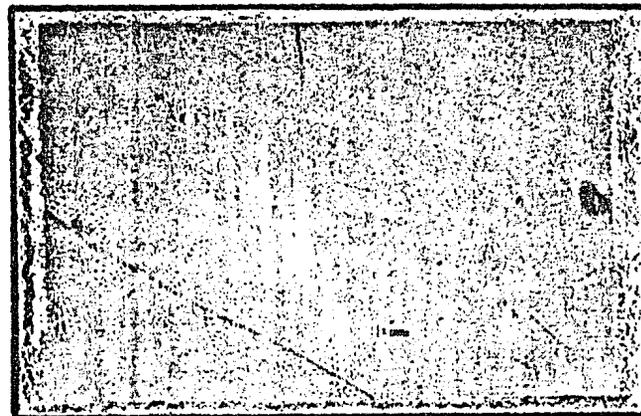
16

ESPERMATOZOIDE CON
COLA DOBLADA EN LA
PORCION PROXIMAL.



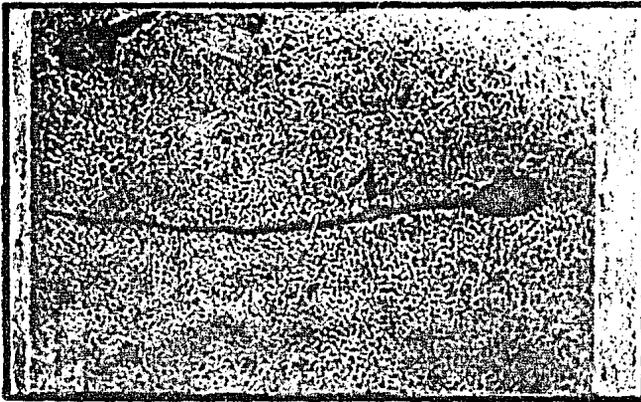
17

ESPERMATOZOIDE CON
UNA ASA EN LA POR-
CION DISTAL DE LA-
COLA.



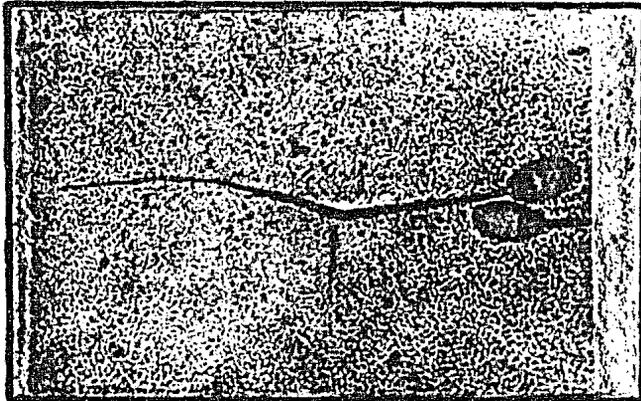
18

ESPERMATOZOIDE CON
COLA EN FORMA DE -
GANCHO.



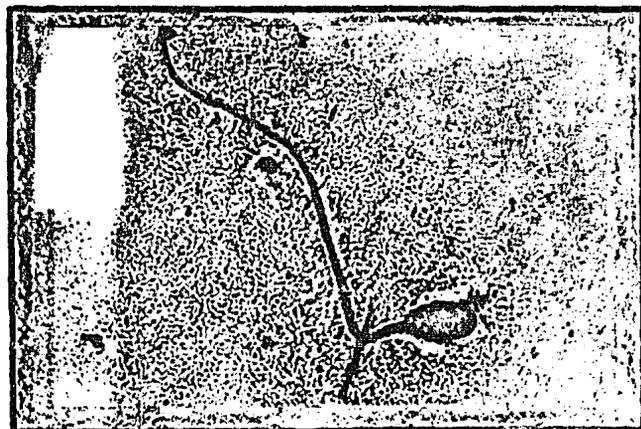
19

ESPERMATOZOIDE CON
UNA GOTA PROTOPLAS
MATICA EN LA PARTE
MEDIA DE LA COLA.



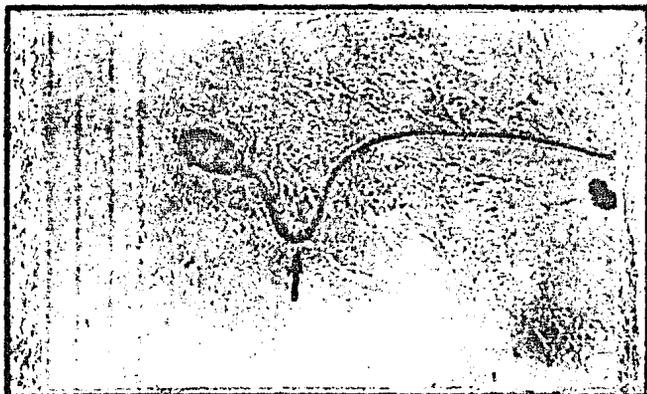
20

ESPERMATOZOIDE CON
LA COLA DOBLADA EN
ANGULO.



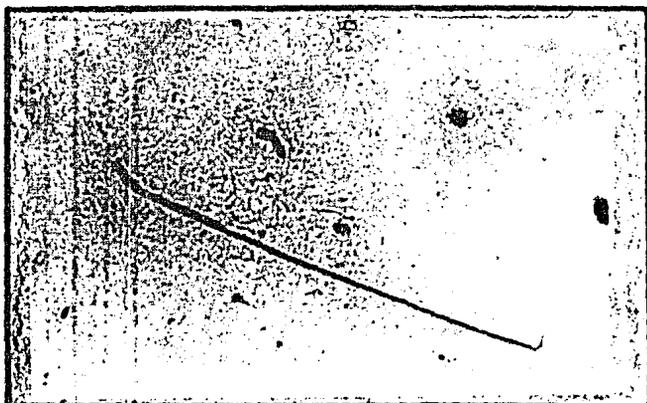
21

ESPERMATOZOIDE CON
LA COLA DOBLADA EN
ANGULO RECTO.



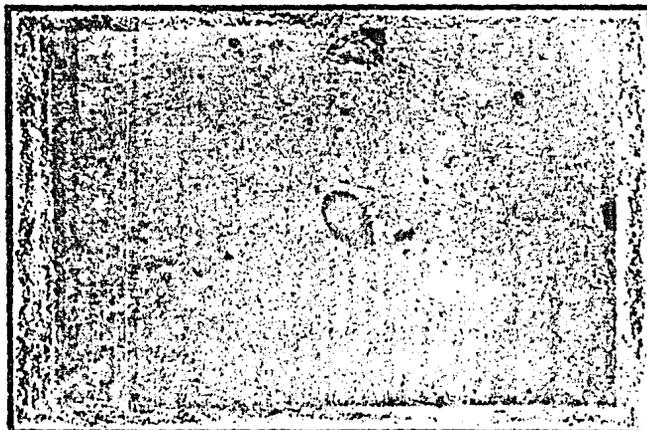
22

ESPERMATOZOIDE CON
LA COLA DOBLADA.



23

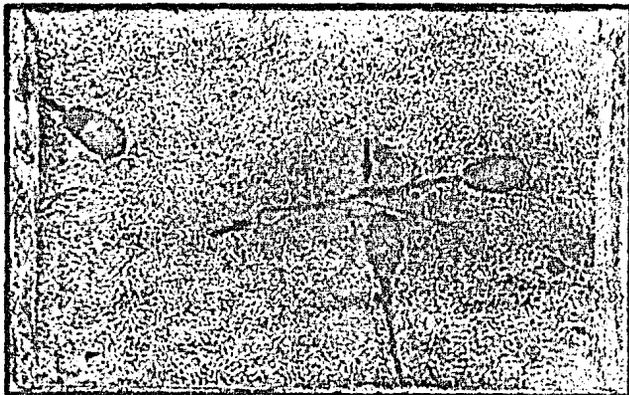
COLA ESPERMATICA
DESPRENDIDA DE LA
CABEZA.



24

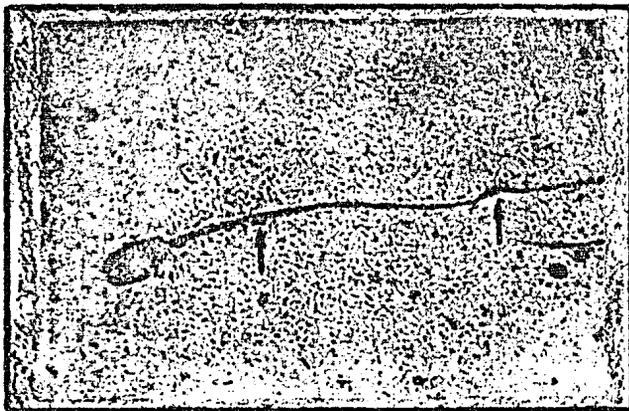
CABEZA DE UN ESPE-
MATOZOIDE, DESPREN-
DIDA DE LA COLA.

ESPERMATOZOIDES CON DOBLE ANORMALIDAD.



25

ESPERMATOZOIDE CON
COLA EN FORMA DE -
GANCHO Y GOTA PRO-
TOPLASMATICA EN LA
PORCION MEDIA.



26

ESPERMATOZOIDE CON
COLA DOBLADA EN LA
PORCION DISTAL Y -
GOTA PROTOPLASMATI
CA.

ALTERACIONES MECANICAS.

Algunas alteraciones de forma mecánica pueden ser causadas a los espermatozoides al realizar el frotis para observar al microscopio.



27

ESPERMATOZOIDE
CON LA
COLA ROTA Y DO
BLADA.



28

ESPERMATOZOIDE
CON LA
COLA DOBLADA Y
DESPRENDIDA.

CONCLUSIONES

Se presenta un cuadro de anomalías espermáticas clasificadas como primarias y secundarias, --- para servir de base en la evaluación de los frotis de semen de carnero.

Se sugiere realizar un cuadro de anomalías acrosómicas utilizando otro tipo de tinciones.

B I B L I O G R A F I A

- 1.-Berg E., Bonadona G., Bovati R., Pozzi G.C y Sommi G. (1962).
Fisiología de la Reproducción y de la fe -
cundación Artificial de los Animales Domés -
ticos. 1a Ed. Salvat Editores S.A.: 879-1073.
- 2.-Berruecos V. J. M. (1981). Mejoramiento genético de los ovinos
Dpto. de Reproducción FMVZ. UNAM.: 123-126.
- 3.-Cameron R. D. A., (1977). Semen collection and evaluation in -
the ram. The preparation of spermatozoa for -
morphological examination. Australian Vete -
rinary Journal. 53: 384-386.
- 4.-Dalton D. C., (1980). An introduction to practical Animal Bree -
ding. Granada. Pub. Limited. London U. K.: 1-80.
- 5.-Eaton N. O., and Simmons L. V., (1952). A semen study of goats.
American Journal Veterinary Research. 13: -
537-544.
- 6.-Fraser A. F., (1970). Clinical examination of rams for fer -
tility. Vet. Rec. August.

- 7.-Herrick J.B., and Self H.L., (1965). Evaluación de la fertilidad del toro y del verraco. Ed. Acribia - Zaragoza España. :1-80.
- 8.-Hulet C.V. and Ercanbrack S.K., (1962). A fertility index for rams. Journal Animal Science. 21:489-493.
- 9.-Ibargüengoitia T.M.E. (1982). Calibración de un espectrofotómetro para determinar la concentración del semen de carnero. Tesis. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM.
- 10.-Jackson Ch. Jr., Lindahl I.L., Reynolds P., and Sidwell G. M. (1975). Effects the Methoxychlor and -- Malathion on semen characteristics of -- rams. Journal of Animal Science. 40(3). : - 514-517.
- 11.-Moss J.A., Melrose D.R., Reed H.C.B., and Vandeplassche M., (1979). Spermatozoa, semen and Artificial - Insemination. In Fertility and Infertility in Domestic Animals. 3th. Ed. Bailliere Tindal. U.K. :59-91.

- 12.-Rathore A.K.,(1969).A note on effect of scrotal wool -- cover on morphological changes in ram spermatozoa due to heat stress.Animal Prod. -- 11(4):561-563.
- 13.-Rathore A.K., y Yeates N.T.M.,(1967).Morphological changes in ram spermatozoa due to heat stress. The Veterinary Record:343-344.
- 14.-Roberts S.J.,(1971).Veterinary obstetrics and genital-diseases.Ed.For Edwards Brothers Inc.Ann. Arbor.Mich.U.S.A.:70-120.
- 15.-Sahni K.L.and Roy A.,(1972).A note on seasonal variation in the occurrence of abnormal spermatozoa in different breeds of sheep and goats under tropical conditions.Indian -- Journal Animal Science.42(7):501-504.
- 16.-Salisbury G.W. y Vandemark N.L.,(1964).Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial de los Bovinos.Ed.Acribia,Zaragoza España.: 359-369.

- 17.-Steel R.G.D., and Torrie J.H., (1980). Principles and procedures of statistics. A biometrical Approach. 2nd. Ed. McGraw Hill, Inc. U.S.A.
- 18.-Trejo G.A., (1982). Manejo del semental ovino. Ganadero. - 7(2):46-59.
- 19.-Zemjanis R., (1966). Reproducción animal, diagnóstico y técnicas terapéuticas. Ed. Limusa. México.: 168-172.