

96
19

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN



Correlaciones de Tres Métodos para Determinar la Concentración Espermática de Semen de Ovinos y Caprinos

T E S I S

Que para Obtener el Título de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :
Andrés Martínez Cortés

Asesor: M. V. Z. Arturo A. Trejo González

1985



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.

J U R A D O

PRESIDENTE M.V.Z. MIGUEL ANGEL GALINA HIDAIGO

VOCAL M.V.Z. JOSE P. ALTAMIRANO A.

SECRETARIO M.V.Z. ARTURO ANGEL TREJO G.

1er SUPLENTE M.V.Z. ARMANDO ENRIQUE ESPERON S.

2o SUPLENTE M.V.Z. MIGUEL A. PEREZ RAZO

A mi madre y a mi padre que
me ayudaron a ser mejor y
me ayudaron en todo momento.

A todos mis hermanos con cariño.

A mis amigos que me brindaron su
confianza, su amistad y su ayuda.

INDICE

Resumen	
Introducción	1
Objetivos	5
Material y Métodos	6
Resultados y Discusión	9
Conclusiones	11
Anexos	13
Bibliografía	17

Resumen.

Los métodos utilizados para este trabajo fueron: el de conteo directo en el Hematocitómetro, el Espermatocrito y el Espectrofotómetro. Se utilizaron ovinos y caprinos y vagina artificial.

Las correlaciones entre los tres métodos usados para medir la concentración espermática del semen de ovinos y caprinos permiten destacar lo siguiente:

Los valores más altos fueron observados en el Espectrofotómetro con longitud de onda de 600 nanómetros: $r = .83$ y $r = .71$ para caprinos y ovinos respectivamente.

Las correlaciones anteriores son notablemente diferentes y por ello se sugiere hacer calibraciones separadas ya que estos dos valores se deben posiblemente a que hay componentes distintos en el plasma seminal.

La dilución 1:200 es mejor que la dilución 1:800 en el conteo de la cámara cuenta glóbulos.

El método menos preciso fue el Espermatocrito.

Introducción.

La Inseminación Artificial es una técnica muy importante para el mejoramiento genético de los animales domésticos porque con pocos machos seleccionados mediante pruebas de progenie se producen espermatozoides para inseminar cientos de hembras al año (1, 7, 13, 15). La Inseminación Artificial va acompañada en muchas ocasiones por programas de sincronización de estros y sirve además para prevenir, controlar y eliminar enfermedades que se transmiten entre el macho y la hembra mediante el coito (7, 13), así como para detectar y eliminar sementales que son portadores de genes para características indeseables como la hipoplasia gonadal, el criptorquidismo y otras (15).

Para que los programas de Inseminación Artificial sean eficientes se requiere que el semen se evalúe y sea manejado por personal responsable y capacitado (11).

Para predecir la eficacia reproductiva de un macho se han propuesto las siguientes pruebas generales: a) Evaluación física del individuo, b) Examen del semen, c) Pruebas de libido (7, 10), de estas tres la que presenta mayor correlación con la fertilidad es el examen del semen por lo que requiere mayor atención al momento de realizarlo, es indispensable pa-

ra el uso del semen en forma fresca y congelada así como en los casos en que se sospecha de infertilidad masculina (16). Las principales evaluaciones de rutina en el examen seminal - incluyen la motilidad progresiva de los gametos, la morfología, el volumen de eyaculado y la concentración espermática - (7, 10, 11, 12). Es importante conocer la concentración de los espermatozoides y el volumen eyaculado para calcular la producción espermática durante los exámenes de fertilidad y para determinar el número de dosis por muestra cuando el semen se va a utilizar con fines de inseminar artificialmente - (7, 10). De las pruebas de rutina antes mencionadas, la que representa mayor tiempo empleado en el laboratorio es el cálculo de la concentración espermática en el Hematocitómetro, - sin embargo, puede ser sustituido por otras técnicas que tienen una precisión ligeramente menor pero con ventajas operativas como reducir el tiempo de lectura y el margen general de error, que se presenta al tener que realizar muchas observaciones microscópicas en la cámara cuenta glóbulos (14). De estas técnicas la más utilizada es la nefelométrica o espectrofotométrica en la que se ha reportado un margen de error de 5 a 8 % (10, 14).

Los aparatos que se usan actualmente para medir la concentración de los espermatozoides requieren de una calibración previa realizando diferentes diluciones que se comparan con otros métodos estandarizados como el Hematocitómetro o el

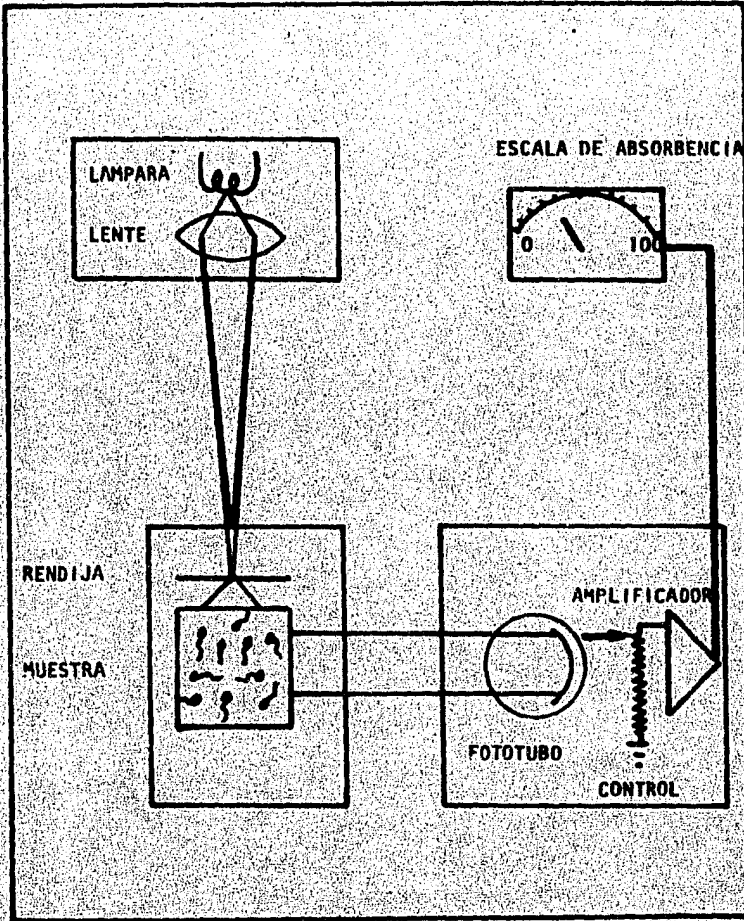
Microerpermatocrito (14).

Foote (7) menciona que después de calibrado el Espectrofotómetro puede ser utilizado para estimar concentración espermática con rapidez y precisión. El mismo principio del Espectrofotómetro el cual se fundamenta en la capacidad de absorción de luz que pasa a través de una muestra diluida en proporciones constantes (figura 1), puede ser utilizado para determinar la motilidad espermática con alta precisión (3, 10, 14).

La presencia de agentes extraños en el semen como leucocitos, restos celulares, etcétera, pueden alterar los valores de lectura nefelométrica, por ello se pueden obtener mejores resultados en cuanto a exactitud de la prueba si se centrifuga el semen y se resuspenden los espermatozoides en un diluyente limpio (14).

Otro método de estimación relacionado con los anteriores es el Microespermatocrito que reúne algunas ventajas tales como flexibilidad de operación al no requerir diluciones rigurosas ni el uso de material lavable (9).

FIGURA 1. DIAGRAMA DE UN ESPECTROFOTOMETRO UTILIZADO PARA LA ESTIMACION DE LA CONCENTRACION ESPERMATICA.



REDIBUJADO Y TRADUCIDO DE: FOOTE R.H., (1980)
ARTIFICIAL INSEMINATION.
REPRODUCTION IN FARM ANIMALS.

Hipótesis.

Con el método espectrofotométrico se puede disminuir el tiempo empleado para contar espermatozoides de ovinos y caprinos.

Objetivos.

- 1) Correlacionar el conteo de la cámara cuenta glóbulos con el valor del Espectrofotómetro y el Microespermatocrito.
- 2) Determinar si los valores pueden aplicarse por igual a la especie ovina y caprina o es necesario hacer calibraciones separadas.

Material y Métodos.

Este trabajo se realizó en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán durante los meses de julio y agosto.

La obtención del semen se hizo por medio de la vagina artificial que ha sido la mejor forma de obtener el semen de ovinos, caprinos y otras especies. El tipo de vagina artificial utilizada consiste en un tubo rígido de material aislante que mide 15 cm de longitud y 5 cm de diámetro, dentro del tubo se coloca una funda de hule(plástico) y entre los dos se agrega agua a una temperatura de 42-44 grados Celsius, de modo que se ejerce una presión hacia la luz del tubo suficiente para estimular la eyaculación. Se utilizaron cinco vaginas artificiales en cada sesión.

Los animales que se utilizaron fueron dos ovinos de raza Rambouillet, dos ovinos de raza Suffolk y una borrega oriolla entrenados para montar. Los machos pueden aprender a realizar la monta, primero, con hembras en celo natural o inducido, haciéndolo después con cualquier hembra en cualquier etapa de su ciclo estral. Se utilizaron además, animales caprinos del rastro de donde se tomaron varias muestras con el aparato electroeyaculador y se completaron las muestras con las de dos caprinos adultos y dos caprinos jóvenes entrenados en la propia Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

El semen recolectado fue en un lugar al aire libre. La borrega se mantuvo inmóvil mientras el macho realizaba su trabajo. Se obtuvo la muestra de cada macho. Se dejaron des-

cansar a los animales de 15 a 30 minutos y luego se tomó una segunda muestra. En forma ocasional se tomaron tres muestras por cada borrego y/o caprino al día. Las recolecciones fueron tomadas dos veces por semana hasta obtener 30 muestras de semen ovino y 30 muestras de semen caprino. Los machos caprinos pueden eyacular varias veces al día durante varias semanas sin que disminuyan las reservas de espermatozoides en el epidídimo, pudiéndose coleccionar de 7 a 20 muestras por semana.

Se preparó una dilución inicial 1:100 con 0.1 ml de semen fresco y 9.9 ml de citrato de sodio al 2.9 %. De esta dilución se toma 1 ml y luego se agrega 1 ml de citrato de sodio 2.9 % para obtener la segunda dilución 1:200 y por último 1 ml de la dilución inicial con 7 ml de Rosa de Bengala al 1% para formar la otra dilución que es 1:800.

Con la cámara cuenta glóbulos (Hematocitómetro) se hace el conteo de espermatozoides de las diluciones 1:200 y 1:800. Se cuenta directamente la cantidad de espermatozoides en un volumen conocido de semen. Esta cámara tiene graduado un cuadrado de 1 mm por lado dividido en 25 cuadros que a su vez también están subdivididos. La altura entre la superficie de la cámara y el cubreobjetos calibrado es de 0.1 mm, por lo tanto el volumen total es de 0.1 mm cúbico. El total de espermatozoides contados en cinco cuadros de la cámara se multiplica por 40 en la dilución 1:800 y se obtiene el valor en millones por mililitro. Este es un método de alta precisión pero

las diluciones se deben realizar cuidadosamente y homogenizar muy bien la muestra antes de cargar la cámara para evitar errores. Una misma muestra se cuenta en los dos lados de la cámara cuenta glóbulos. Se usaron dos cámaras como mínimo en cada sesión.

Para el conteo fue utilizado un microscopio óptico con lentes de 10x y 40x.

El espectrofotómetro utilizado para este trabajo se preade 15 minutos antes de colocar las muestras. Se elige la longitud de onda deseada de 400, 500 y 600 nanómetros para cada muestra. Para calibrar el Espectrofotómetro se realizaron medidas pareadas con la cámara cuenta glóbulos. Se utilizó un tubo blanco con citrato de sodio al 2.9%. La muestra problema se trabajó en dilución 1:100 usando siempre agua destilada.

Para hacer el Espermatoocrito se tomaron las muestras de semen fresco en tubos capilares y colocadas en la centrifuga de microhematocrito a 10 000 r.p.m. durante 20 minutos y se tomó la medida con un Vernier y con un aparato especial para este fin.

Para el análisis de correlación y regresión se utilizó el paquete computarizado SAS 822 y se requirió además de asesoría del Centro de Cálculo de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Resultados y Discusión.

La tabla 1 muestra los coeficientes de correlación entre la cámara cuenta glóbulos en dilución 1:200 y diversos métodos de estimación de la concentración espermática.

Los valores más altos se observaron en el Espectrofotómetro ajustado a una longitud de onda de 600 nm que correspondió a $r = -.83$ y $r = -.71$ para caprinos y ovinos respectivamente, esto concuerda con lo reportado por Ibarquengoitia (1982), (2), (5) y (14), aunque las correlaciones son ligeramente inferiores. Las correlaciones con otros valores de longitud de onda variaron de $r = -.59$ a $r = -.78$, estas correlaciones son negativas debido a que a mayor concentración se reduce el paso de luz.

La correlación entre la dilución 1:800 y 1:200 de la cámara cuenta glóbulos fue de $r = .82$ y $r = .65$ para cabras y ovejas respectivamente con un nivel de significancia de $P < 0.0001$.

La correlación entre la cámara y el Espermatocrito fue de $r = .66$ y $r = .62$ en cabras y ovejas respectivamente. Arscott (2) reporta $r = .87$ para estos dos métodos pero con semen de pollos. En el presente trabajo el valor del Espermatocrito fue el más bajo, lo que indica que este método es quizá menos preciso que los anteriores en semen de ovinos y caprinos.

Mediante un análisis de correlación múltiple y uno de

comparación de medias, se pudo precisar que las lecturas son diferentes y estadísticamente significativas para ambas especies debido quizá, a la diferente composición del plasma seminal.

Foote (8) usando el Espermocrito le resultan porcentajes que van de 8.7 a 12.2 en semen almacenado. En la presente investigación los resultados fueron de 12.3 a 31.9 como valores extremos y 22 % de promedio. Como se observa estos valores son más altos debido tal vez a que estos últimos son de semen fresco. Bartoov (4) muestra una gráfica en la que relaciona concentración de espermatozoides en millones mediante el conteo con la cámara cuenta glóbulos y un nuevo aparato para medir la concentración y motilidad al mismo tiempo.

Algunas muestras fueron tomadas de animales caprinos en el rastro usando un electroeyaculador. Cameron (6) reporta que el uso del electroeyaculador aumenta la cantidad de fluidos y reduce la concentración espermática en los carneros. Los valores obtenidos de esta manera se incluyen en los datos tomados con el método de la vagina artificial; luego se relacionaron resultados de las dos especies ovina y caprina.

El anexo 1 muestra el análisis de regresión para el uso del Espectrofotómetro en evaluaciones de rutina en ovinos.

El anexo 2 muestra también el análisis de regresión para el uso del Espectrofotómetro en evaluaciones de rutina para los caprinos.

Conclusiones.

- 1) Debido a las diferencias en los resultados la calibración de los Espectrofotómetros debe ser independiente para cabras y ovejas.
- 2) La dilución 1:200 resultó más exacta que la dilución 1:800 por lo que es preferible la primera aún requiriendo mayor tiempo para el conteo.
- 3) El uso del Espectrofotómetro dió mayor precisión cuando se ajustó a longitud de onda de 600 nm para ambas especies.
- 4) Debido a la baja correlación que existió con el método del Spermatoocrito es preferible limitar su uso a situaciones extraordinarias y/o de campo.

Tabla 1

Coefficiente de correlación entre diferentes métodos para estimar la concentración espermática en ovinos y caprinos.

Características	n	Ovinos	Caprinos
Cámara en dilución 1:200- cámara en dilución 1:800.	30	r 0.65	0.82 P 0.0001
Cámara en dilución 1:800- Espermatocrito.	30	r 0.62	0.66 NS
Cámara en dilución 1:200- Espectrofotómetro 600 nm.	30	r -.71	-0.83 P 0.0001
Cámara en dilución 1:200- Espectrofotómetro 500 nm.	30	r -0.69	-0.78 NS
Cámara en dilución 1:200- Espectrofotómetro 400 nm.	30	r -0.66	-0.59 NS

Correlaciones significativas P 0.0001

NS No significativas.

Anexo 1

Valores estimados por regresión para el espectrofotómetro en longitud de onda de 600 nm para la concentración espermática (millones de células) en el semen de ovinos.

Longitud de onda nm.	Volumen de semen ml.														
	.3	.4	.5	.6	.7	.8	.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5		
05.0	1615	2154	2692	3230	3769	4307	4846	5384	5922	6461	6999	7538	8076		
05.5	1601	2135	2668	3202	3736	4270	4803	5337	5871	6404	6939	7471	8005		
06.0	1587	2116	2645	3174	3703	4232	4761	5290	5819	6348	6877	7406	7935		
06.5	1573	2097	2621	3146	3670	4194	4719	5243	5767	6292	6816	7340	7864		
07.0	1559	2078	2598	3118	3637	4157	4676	5196	5716	6235	6755	7274	7794		
07.5	1545	2060	2574	3089	3604	4119	4634	5149	5664	6179	6694	7209	7723		
08.0	1531	2041	2551	3061	3571	4082	4591	5102	5612	6122	6633	7143	7653		
08.5	1516	2022	2527	3033	3538	4044	4549	5055	5560	6066	6571	7077	7582		
09.0	1502	2003	2504	3005	3506	4006	4507	5008	5509	6010	6510	7011	7512		
09.5	1488	1984	2480	2977	3473	3979	4465	4961	5457	5953	6449	6945	7441		
10.0	1474	1966	2457	2948	3440	3931	4423	4914	5405	5897	6388	6880	7371		
10.5	1460	1947	2433	2920	3407	3894	4380	4867	5354	5840	6327	6814	7300		
11.0	1446	1928	2410	2892	3374	3856	4338	4820	5302	5784	6266	6748	7230		
11.5	1432	1909	2386	2864	3341	3818	4296	4773	5250	5728	6205	6682	7159		
12.0	1418	1890	2363	2836	3308	3781	4253	4726	5199	5671	6144	6616	7089		
12.5	1403	1872	2339	2807	3275	3743	4211	4679	5147	5615	6083	6551	7018		
13.0	1390	1853	2316	2779	3242	3706	4169	4632	5095	5558	6022	6485	6948		
13.5	1375	1834	2292	2751	3209	3668	4126	4585	5043	5502	5960	6419	6877		
14.0	1361	1815	2269	2723	3177	3630	4084	4538	4992	5446	5899	6353	6807		
14.5	1347	1796	2245	2695	3144	3593	4042	4491	4940	5389	5838	6287	6736		
15.0	1333	1778	2222	2666	3111	3555	4000	4444	4888	5333	5777	6222	6666		
15.5	1319	1759	2198	2638	3078	3518	3957	4397	4837	5276	5716	6156	6595		
16.0	1305	1740	2175	2610	3045	3480	3915	4350	4785	5220	5655	6090	6525		
16.5	1291	1721	2151	2582	3012	3442	3873	4303	4733	5164	5594	6024	6454		
17.0	1277	1702	2128	2554	2979	3405	3830	4256	4682	5107	5533	5958	6384		
17.5	1263	1684	2104	2525	2946	3367	3788	4209	4630	5051	5472	5893	6313		
18.0	1249	1665	2081	2497	2913	3330	3746	4162	4578	4994	5410	5827	6243		
18.5	1234	1646	2057	2469	2880	3292	3703	4115	4526	4938	5349	5761	6172		
19.0	1220	1627	2034	2441	2848	3254	3661	4068	4475	4881	5288	5695	6102		
19.5	1206	1608	2010	2413	2815	3217	3619	4021	4423	4825	5227	5629	6031		
20.0	1192	1590	1987	2384	2782	3179	3577	3974	4371	4769	5166	5564	5961		
20.5	1178	1571	1963	2356	2749	3142	3534	3927	4320	4712	5105	5498	5890		
21.0	1164	1552	1940	2328	2716	3104	3492	3880	4268	4656	5044	5432	5820		
21.5	1150	1533	1916	2300	2683	3066	3450	3833	4216	4600	4983	5366	5749		
22.0	1136	1514	1893	2272	2650	3029	3407	3786	4165	4543	4922	5300	5679		
22.5	1122	1496	1869	2243	2617	2991	3365	3739	4113	4487	4861	5235	5608		
23.0	1108	1477	1846	2215	2584	2954	3323	3692	4061	4430	4800	5169	5538		
23.5	1093	1458	1822	2187	2551	2916	3280	3645	4009	4374	4738	5103	5467		

Anexo 1 Continuación.

Or de ab- bancia	Volumen de semen ml.														
	00 mm.	.3	.4	.5	.6	.7	.8	.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5	
24.0	1079	1439	1799	2159	2519	2878	3238	3598	3958	4318	4677	5037	5397		
24.5	1065	1420	1775	2131	2486	2841	3196	3551	3906	4261	4616	4971	5326		
25.0	1051	1402	1752	2102	2453	2803	3154	3504	3854	4205	4555	4906	5256		
25.5	1037	1383	1728	2074	2420	2766	3111	3457	3803	4148	4494	4840	5185		
26.0	1023	1364	1705	2046	2387	2728	3069	3410	3751	4092	4433	4774	5115		
26.5	1009	1345	1681	2018	2354	2690	3027	3363	3699	4036	4372	4708	5044		
27.0	995	1326	1658	1990	2321	2653	2984	3316	3648	3979	4311	4642	4974		
27.5	980	1308	1634	1961	2288	2615	2942	3269	3596	3923	4250	4577	4903		
28.0	967	1289	1611	1933	2255	2578	2900	3222	3544	3866	4189	4511	4833		
28.5	952	1270	1587	1905	2222	2540	2857	3175	3492	3810	4127	4445	4762		
29.0	938	1251	1564	1877	2190	2502	2815	3128	3441	3754	4066	4379	4692		
29.5	924	1232	1540	1849	2157	2465	2773	3081	3389	3697	4005	4313	4621		
30.0	910	1214	1517	1820	2122	2427	2731	3034	3337	3641	3944	4248	4551		
30.5	895	1195	1493	1792	2091	2390	2688	2987	3286	3584	3883	4182	4480		
31.0	882	1176	1470	1764	2058	2352	2646	2940	3234	3528	3822	4116	4410		
31.5	868	1157	1446	1736	2025	2314	2604	2893	3182	3472	3761	4050	4339		
32.0	854	1138	1423	1708	1992	2277	2561	2846	3131	3415	3700	3984	4269		
32.5	840	1120	1399	1679	1959	2239	2519	2799	3079	3359	3639	3919	4198		
33.0	826	1101	1376	1651	1926	2202	2477	2752	3027	3302	3578	3853	4128		
33.5	811	1082	1352	1623	1893	2164	2434	2705	2975	3246	3516	3787	4057		
34.0	797	1063	1329	1595	1861	2126	2392	2658	2924	3190	3455	3721	3987		
34.5	783	1044	1305	1567	1828	2089	2350	2611	2872	3133	3394	3655	3916		
35.0	769	1026	1282	1538	1795	2051	2308	2564	2820	3077	3333	3590	3846		
35.5	755	1007	1258	1510	1762	2014	2265	2517	2769	3020	3272	3524	3775		
36.0	741	988	1235	1482	1729	1976	2223	2470	2727	2964	3211	3458	3705		
36.5	727	969	1211	1454	1696	1938	2181	2423	2665	2908	3150	3392	3634		
37.0	713	950	1188	1426	1663	1901	2138	2376	2614	2851	3089	3326	3564		
37.5	699	932	1164	1397	1630	1863	2096	2329	2562	2795	3028	3261	3493		
38.0	685	913	1141	1369	1597	1826	2054	2282	2510	2738	2967	3195	3423		
38.5	670	894	1117	1341	1564	1788	2011	2235	2458	2682	2905	3129	3352		
39.0	656	875	1094	1313	1532	1750	1969	2188	2407	2626	2844	3063	3282		
39.5	642	856	1070	1285	1499	1713	1927	2141	2355	2569	2783	2997	3211		
40.0	628	838	1047	1256	1466	1675	1885	2094	2303	2513	2722	2932	3141		
40.5	614	819	1023	1228	1433	1636	1842	2047	2251	2456	2661	2866	3070		
41.0	600	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000	2200	2400	2600	2800	3000		

Anexo 2

Valores estimados por regresión para el espectrofotómetro en longitud de onda de 600 nm para la concentración espermiática (millones de células) en el semen de caprinos.

Longitud de onda nm.	Volumen de semen ml														
	.3	.4	.5	.6	.7	.8	.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5		
05.0	1377	1836	2294	2753	3212	3671	4130	4589	5048	5507	5966	6425	6883		
05.5	1365	1820	2275	2731	3186	2641	4096	4551	5006	5461	5916	6371	6826		
06.0	1354	1805	2256	2708	3159	3610	4062	4513	4964	5416	5867	6318	6759		
06.5	1342	1790	2237	2684	3132	3579	4027	4474	4921	5369	5816	6264	6711		
07.0	1331	1774	2218	2662	3105	3549	3992	4436	4880	5323	5767	6210	6654		
07.5	1319	1759	2199	2639	3079	3518	3958	4398	4838	5278	5717	6157	6597		
08.0	1308	1744	2180	2616	3052	3486	3924	4360	4796	5232	5668	6104	6540		
08.5	1297	1729	2161	2593	3025	3458	3890	4322	4754	5186	5619	6051	6483		
09.0	1285	1713	2141	2570	2996	3426	3855	4283	4711	5140	5568	5996	6424		
09.5	1273	1698	2122	2547	2971	3396	3820	4245	4669	5094	5518	5943	6367		
10.0	1262	1683	2103	2524	2945	3366	3786	4207	4628	5048	5469	5890	6310		
10.5	1251	1668	2084	2501	2918	3335	3752	4169	4586	5003	5420	5837	6252		
11.0	1239	1652	2065	2479	2892	3305	3718	4131	4544	4957	5370	5783	6196		
11.5	1228	1637	2046	2455	2864	3274	3683	4092	4501	4910	5320	5729	6138		
12.0	1216	1622	2027	2432	2838	3243	3649	4054	4459	4865	5270	5676	6081		
12.5	1205	1606	2008	2410	2811	3213	3614	4016	4418	4819	5221	5622	6024		
13.0	1193	1591	1989	2307	2785	3182	3580	3978	4376	4774	5171	5569	5967		
13.5	1182	1576	1970	2364	2758	3152	3546	3940	4334	4728	5122	5516	5910		
14.0	1170	1560	1950	2341	2731	3121	3511	3901	4291	4681	5071	5461	5851		
14.5	1159	1545	1931	2318	2704	3090	3477	3863	4249	4636	5022	5408	5794		
15.0	1147	1530	1912	2295	2667	3060	3442	3825	4207	4690	4972	5355	5737		
15.5	1136	1515	1893	2272	2651	3030	3408	3787	4166	4544	4923	5302	5680		
16.0	1124	1499	1873	2248	2623	2998	3372	3747	4122	4496	4871	5246	5620		
16.5	1113	1484	1855	2226	2597	2968	3339	3710	4081	4452	4823	5194	5565		
17.0	1102	1469	1836	2203	2570	2938	3305	3672	4039	4406	4774	5141	5506		
17.5	1090	1454	1817	2180	2544	2907	3271	3634	3997	4361	4724	5088	5452		
18.0	1079	1438	1798	2158	2517	2877	3234	3596	3956	4315	4675	5034	5394		
18.5	1067	1423	1779	2135	2491	2846	3202	3558	3914	4270	4625	4981	5337		
19.0	1056	1408	1759	2111	2463	2815	3167	3519	3871	4223	4575	4927	5278		
19.5	1044	1392	1740	2089	2437	2785	3133	3481	3829	4177	4525	4873	5221		
20.0	1033	1377	1721	2066	2410	2754	3099	3443	3787	4132	4476	4820	5164		
20.5	1021	1362	1702	2043	2383	2724	3064	3405	3745	4085	4426	4767	5107		
21.0	1010	1347	1683	2020	2357	2694	3030	3367	3704	4040	4377	4714	5050		
21.5	998	1331	1664	1997	2330	2662	2995	3328	3661	3994	4326	4659	3992		
22.0	987	1316	1645	1974	2303	2632	2961	3290	3619	3948	4277	4606	4935		
22.5	976	1301	1626	1951	2276	2602	2927	3252	3577	3902	4228	4553	4878		
23.0	964	1286	1607	1928	2250	2571	2893	3214	3535	3857	4178	4500	4821		
23.5	953	1270	1588	1906	2223	2541	2858	3176	3494	3811	4129	4446	4764		

Anexo 2 Continuación.

Clase de abertencia 600 mm.	Volumen de semen ml.														
	.3	.4	.5	.6	.7	.8	.9	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4	1.5		
24.0	941	1255	1568	1882	2196	2510	2823	3137	4351	3764	4078	4393	4705		
24.5	930	1240	1549	1859	2169	2479	2789	3099	3409	3719	4029	4339	4648		
25.0	918	1224	1530	1837	2143	2449	2755	3061	3367	3673	3979	4285	4591		
25.5	907	1209	1511	1814	2116	2418	2721	3023	3325	3626	3930	4232	4534		
26.0	895	1194	1492	1791	2089	2388	2686	2985	3283	3582	3880	4179	4477		
26.5	884	1178	1473	1768	2062	2357	2651	2946	3241	3535	3830	4124	4419		
27.0	872	1163	1454	1745	2036	2326	2617	2908	3199	3490	3780	4071	4362		
27.5	861	1148	1435	1722	2009	2296	2583	2870	3157	3444	3731	4018	4305		
28.0	850	1133	1416	1699	1982	2266	2549	2832	3115	3398	3682	3965	4248		
28.5	838	1118	1397	1676	1956	2235	2515	2794	3073	3353	3632	3912	4191		
29.0	826	1102	1377	1653	1920	2194	2479	2755	3038	3306	3581	3857	4132		
29.5	815	1087	1358	1630	1902	2174	2445	2717	2989	3260	3532	3804	4075		
30.0	804	1072	1339	1607	1875	2143	2411	2679	2947	3215	3483	3751	4018		
30.5	792	1056	1320	1585	1849	2113	2377	2641	2905	3169	3433	3697	3961		
31.0	781	1041	1301	1562	1822	2082	2343	2603	2863	3124	3384	3644	3904		
31.5	769	1026	1282	1538	1795	2051	2308	2564	2820	3177	3333	3590	3846		
32.0	758	1010	1263	1516	1768	2021	2273	2526	2777	3131	3284	3536	3789		
32.5	746	995	1244	1493	1742	1990	2239	2488	2737	2986	3234	3483	3732		
33.0	735	980	1225	1470	1715	1960	2205	2450	2695	2940	3185	3430	3675		
33.5	724	964	1206	1447	1688	1930	2171	2412	2653	2894	3136	3377	3618		
34.0	712	949	1186	1424	1661	1900	2136	2373	2610	2848	3085	3322	3559		
34.5	700	934	1167	1401	1634	1868	2101	2335	2568	2802	3035	3269	3502		
35.0	689	919	1148	1378	1608	1838	2067	2297	2527	2756	2986	3216	3445		
35.5	678	904	1129	1355	1581	1807	2031	2259	2485	2711	2937	3163	3388		
36.0	666	888	1110	1333	1555	1777	1999	2221	2443	2665	2887	3109	3331		
36.5	655	873	1091	1309	1527	1746	1964	2182	2400	2618	2837	3055	3273		
37.0	643	858	1072	1286	1501	1715	1930	2144	2358	2573	2787	3002	3216		
37.5	632	842	1053	1264	1474	1685	1905	2106	2317	2527	2738	2948	3159		
38.0	620	827	1034	1241	1448	1654	1861	2068	2275	2482	2688	2895	3102		
38.5	609	812	1015	1218	1421	1624	1827	2030	2233	2436	2639	2842	3045		
39.0	597	796	995	1195	1394	1593	1792	1991	2190	2389	2588	2787	2986		

Bibliografía.

1. Acuña M. y Valencia M., (1982). Evaluación de diluentes para congelar semen de borrego Pelibuey. Memorias del VIII / Congreso Nacional de Buiatría. Veracruz, Ver.: 499-503.
2. Arscott, G.H. and R.V. Kuhns, (1969). Packed sperm volume versus optical density as a measure of semen concentration. Poultry Science 48: 1126-1127.
3. Bane A., (1952). A study on the technique of hemocytometric determination of sperm motility and sperm concentration in bull semen. Cornell Veterinary 42: 518-531.
4. Bartoov B., D. Kalay and A. Mayevsky, (1980). A new technique for simultaneous determination of concentration and motility of fresh undiluted semen. 9 th International Congress of Animal Reproduction and Artificial Insemination. Madrid, Spain. Vol II: 289.
5. Bartoov B., D. Kalay and A. Mayevsky, (1981). Sperm motility Analyzer (SMA), a practical tool of motility and cell concentration determinations in Artificial Insemination Centers. Theriogenology. Vol. 15 No. 2: 173- 182.

6. Cameron, R.D.A., (1977). Semen collection and evaluation in the ram. Australian Veterinary Journal. Vol. 53: 380-383.
7. Foote, R.H., (1980). Artificial Insemination in: Reproduction in Farm Animals. 4 th. Ed. Lea and Febiger. U.S.A.: 521-545.
8. Foote, R.H. and P.J. Bredderman, (1968). Sizing of Aging Bull Spermatozoa with an Electronic Counter. Journal Dairy Science. Vol. 52 No. 1: 117-120.
9. Hickman, C.G., (1968). Spermocrit values in facilitating the estimation of spermatozoa concentrations. Journal of Dairy Science. 41: 318-319.
10. Ibarquengoitia, T.Ma.E.A., (1982). Técnica de calibración de un Espectrofotómetro para determinar la concentración espermática en el semen de carnero. tesis. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.

11. López, P.G. y Valencia M., (1982). Técnica descriptiva de la colección, evaluación y congelación de semen del carnero Pelibuey. Memorias del VIII Congreso Nacional de Buiatría Veracruz, Ver.: 494-498.
12. Moss, J.A., D.R. Melrose, H.C.B. Reed and M. Vandeplassche, (1979). Espermatozoa, semen and Artificial Insemination Chapter four. Fertility and Infertility in Farm Animals. 3th Ed. Bailliére Tindall: 59-91.
13. Noriega, N.L., (1984). La Inseminación Artificial en Caprinos. Ganadero. 9 (5): 70-76.
14. Salisbury, G.W., N.L. Van DEmark and J.R. Lodge, (1978). Physiology of Reproduction and Artificial Insemination of cattle. 2a. Ed. Freeman & Co.: 400-427.
15. Trejo, G.A. (1984). Sistemas de selección en cabras lecheras. Ganadero 9 (1): 45-60.
16. Zemjanis, R. (1973). Examen del semen . Patología Clínica Veterinaria. Unión Tipográfica. Ed. Hispano Americana - (U.T.E.H.A.). México: 506-519.