

25
2Ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

Reservas espermáticas gonadales y extragonadales
en cabritos tratados con GnRH al inicio
de la pubertad.

T E S I S
Que para obtener el Título de:
Medica Veterinaria Zootecnista
P r e s e n t a n:
Alma Delia Felipe Santiago
Ma. Dolores Márquez Meza

Director de tesis: Arturo Angel Trejo Glez.



1988

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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

	página.
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	5
OBJETIVO GENERAL.....	9
MATERIAL Y METODO.....	10
RESULTADOS Y DISCUSION.....	17
GRAFICA No. 1.....	19
CUADRO No. 1.....	20
CUADRO No. 2.....	21
BIBLIOGRAFIA.....	22

RESUMEN:

El presente trabajo, se realizó durante los meses de Julio a Septiembre y tuvo como objetivo central, evaluar el efecto de la aplicación de GnRH sobre las reservas gonadales y extragonadales de espermatozoides en cabritos púberes.

Se utilizaron 8 animales con una edad promedio de 270 ± 5.0 días. Cada uno fue pesado, se les midió el perimetro escrotal y se sangró una vez por semana durante siete semanas. También de cada animal se obtuvo una muestra de semen por semana durante cuatro semanas, utilizando un electroeyaculador y se midieron los siguientes parámetros:

- a).- Volumen del semen.
- b).- Motilidad espermática progresiva
- c).- Concentración espermática.
- d).- Morfología espermática.

Los cabritos, se dividieron en dos grupos iguales que recibieron los siguientes tratamientos:

- a).- 0.012 mg/dla de GnRH sintético por vía intramuscular durante ocho días, aplicando la mitad de la dosis diaria en la mañana y la otra mitad por la tarde.
- b).- Lote testigo sin tratar.

A partir de la octava semana, se fueron sacrificando o castrando un animal de cada grupo con el fin de estimar las

reservas espermáticas por gramo en los testículos, epidídimo y conductos deferentes, homogeneizando una masa conocida de tejido en un volumen conocido de medio homogeneizador a base de solución salina fisiológica y Tritón X100.

La testosterona en el suero, se midió por radioinmunoanálisis una vez por semana a cada animal. Los datos se analizaron estadísticamente mediante pruebas de hipótesis utilizando la prueba de "Z" para comparación entre dos medias y pruebas de correlación lineal simple.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

El peso promedio de los cabritos fue de 23.1 ± 4.0 Kg. y 23.6 ± 2.2 kg. para los grupos tratados y control respectivamente, no existiendo diferencias significativas ($P > 0.05$).

El perímetro escrotal promedio de 21.0 ± 2.3 cm. y 20.5 ± 1.8 cm para tratados y no tratados respectivamente, no existiendo diferencias significativas ($P > 0.05$).

Las características saminales antes del tratamiento con GnRH, no mostraron tampoco diferencias significativas entre grupos ($P > 0.05$) teniendo los siguientes valores:

- a).- Volumen 0.4 ± 0.3 y 0.2 ± 0.1 ml.
- b).- Motilidad progresiva 37.1 ± 30.2 y $45.0 \pm 25.9\%$.
- c).- Anormalidades espermáticas secundarias 5.5 ± 5.3 y $3.7 \pm 4.6\%$.

d).- Concentración 3216 ± 982 y 3081 ± 927 espermatozoides $\times 10^6$ /ml, para el grupo tratado y control respectivamente en todos los casos.

El valor del perímetro escrotal y la concentración espermática fue similar a la publicada por Salau (1984) para machos adultos en Nigeria, sin embargo las características seminales restantes alcanzaron solamente la mitad de los valores.

Post-tratamiento, los valores para las reservas espermáticas en el testículo, epidídimo y conductos deferentes no tuvieron diferencias significativas entre grupos ($P > 0.05$). La reserva espermática total en el testículo, mostró una tendencia a ser mayor a los animales tratados, 2499 contra 2343 espermatozoides $\times 10^7$, pero las reservas totales en el epidídimo y en los conductos deferentes mostraron una tendencia en favor de los animales no tratados, lo cual sugiere que el tratamiento a base de Factor Liberador de Gonadotropinas no tuvo efecto sobre la espermatogénesis de los cabritos al inicio de la vida reproductiva, posiblemente debido a la falta o escasez de receptores hormonales específicos.

En los perfiles de testosterona se observó en los controles un pico antes y durante el tratamiento, con una meseta y caída pronunciada en las dos últimas semanas (6 y 9 del experimento). No existieron diferencias significativas para los niveles totales de testosterona ni antes ni después del tratamiento entre grupos. Los niveles de testosterona se correla

cionaron significativamente con el peso del epididimo en los animales tratados $r = 0.96$ ($P < 0.05$) y con el peso testicular $r = 0.93$ ($P < 0.05$) y con el peso del epididimo $r = 0.88$ ($P < 0.05$) en los animales no tratados.

El tratamiento con GnRH no pareció tener efecto sobre los niveles hormonales ni sobre la producción y reserva de espermatozoides en cabritos pábberes bajo las condiciones del presente trabajo.

La testosterona estuvo altamente correlacionada con el crecimiento testicular y epididimario. Aunque la concentración espermática del eyaculado, alcanzó niveles similares a los machos adultos, estos no deben ser utilizados aún como sementales, ya que sus reservas de espermatozoides son escasas.

Se requiere más investigaciones con diferentes dosis y mayor número de animales para identificar los efectos de las hormonas exógenas durante la pubertad en esta especie.

INTRODUCCION:

El aprovechamiento precoz de los sementales, trae como consecuencia un adelanto en la productividad al reducirse el valor del denominados en la estimación genética de la ganancia anual, este valor es llamado intervalo entre generaciones y se define como la edad apta de los progenitores al nacer la progenie (Dalton, 1980).

Otras de las ventajas de la pubertad precoz es la obtención de más partes de por vida en las hembras y podrían obtenerse también más crías por semental, y los resultados de --- pruebas de progenie se tendrían en animales jóvenes (Ferreira, 1976).

La pubertad aparece en forma gradual, manifestaciones de conducta, la más aparente es la aparición del comportamiento sexual, mientras que en los cambios físicos destacan la aparición de los caracteres sexuales secundarios acompañados por la aparición de gametos y el establecimiento de otra categoría en el control neuroendócrino de las gonadas (Habault, --- 1973).

Sin embargo una de las limitantes para este uso precoz es la baja fertilidad que presentan los machos jóvenes y que afecta la cosecha neta de cabritos (Ostrowski, 1980), ya que producen semen de escaso volumen y gran cantidad de espermatozoides anormales (Jiménez, 1984), por lo que se han manejado

los términos de edad a la pubertad y edad apta para el primer apareamiento, siendo la aparición de la libido y gametos en el primer caso y la posibilidad de cubrir con un aceptable -- porcentaje de fertilidad a una determinada cantidad de cabras los indicadores de estos momentos críticos. En los caprinos la diferencia entre la pubertad y la edad para el apareamiento en los machos es de aproximadamente uno a cuatro meses --- (Noakes, 1979).

La pubertad en los machos caprinos, en la mayoría de las razas se alcanza a los 5 meses de edad, sin embargo se recomienda no usar a los machos para la cría antes de los 9-10 meses. La espermatogénesis comienza aproximadamente a los 110 días de edad en esta especie (Smidt y Ellendorf, 1972).

La producción espermática diaria es definida por el número de espermatozoides producidos por los dos testículos. Las reservas espermáticas, reportado por Salau, 1983, en promedio fueron: en testículo $44.32 \pm 5.79 \times 10^9$; en epidídimo, cabeza 8.82 ± 1.95 , cuerpo 4.99 ± 0.86 , y en cola $45.64 \pm 7.87 \times 10^9$.

La producción espermática está controlada primariamente por las hormonas LH, FSH y Testosterona, así como la disponibilidad de receptores para cada una de ellas (Hocheteraru, et al, 1985), por lo que sería posible inducir la pubertad y reducir la edad apta para el servicio mediante la inyección de estos compuestos o sus análogos (Jochle y Ross, 1980), pero -

también existe la posibilidad de lograr el mismo efecto mediante la administración exógena del Factor Liberador de Gona dotropinas GnRH (Land, 1982).

La producción diaria de esperma puede ser calculada dividiendo el valor de las reservas espermáticas testiculares entre el número de días que representa la producción espermática de estas reservas (Amann y Almquist, 1961).

Un método indirecto de medir la capacidad de fertilización de un macho es mediante la evaluación de la calidad seminal (Rasbech, 1983). Las características seminales más afectadas en los animales púberes son la motilidad progresiva de los espermatozoides, la concentración espermática y el porcentaje de espermatozoides normales (Colas, 1984) y en esta especie donde la proporción de machos es muy baja con relación a las hembras, la reserva intra y extragonadal de gametos es también de gran importancia (Courot, 1979).

Kopp (1985), logró mejorar la calidad seminal en toros inyectados con un análogo de GnRH, incrementando la concentración, la motilidad progresiva y reduciendo las formas anormales en forma significativa.

El uso del Tritón X100 al 0.05% en Solución Salina facilita el conteo de los espermatozoides para así obtener el resultado total de las reservas espermáticas en epidídimo y testículo, reportado para conejos adultos, (Amann y Lambiase, 1969).

La importancia que tiene la extracción de las reservas -
espermáticas gonadales y extragonadales es con el objetivo de
determinar cuantos espermias viables podrian ser recolectados,
para así poder estimar la producción testicular y saber la --
producción diaria de cada animal, (Amann y Almquist, 1961).

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar el efecto de la aplicación de GnRH sobre las reservas gonadales y extra-gonadales de espermatozoides en cabritos puberes.

MATERIAL Y METODO:

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Reproducción animal y en el módulo caprino de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, cuya ubicación geográfica es: - 19° 43' Latitud norte y 99° 14' Latitud poniente, a 2450 mts. -- snm. Se llevó a cabo durante los meses de Julio, Agosto y -- Septiembre de 1987.

Para este trabajo se utilizaron 8 cabritos púberes de la raza Alpina de entre 210 y 240 días de edad y con un peso promedio de 22 kg. Además, se utilizaron otros materiales de la laboratorio como:

- 1 Báscula
- 1 Cinta métrica
- 1 Centrífuga
- 8 Jeringas de 10 ml. con agujas de 20 x 30
- 70 Frascos de 10 ml. con tapón.
- 30 Tubos de ensaye.
- 30 Portaobjetos
- 8 Tubos colectores graduados
- 1 Electroeyaculador.
- 1 Camilla
- 1 Baño maría con gradilla
- 4 Cámaras de New Bawer
- 1 Microscopio de contraste de Fases.
- 1 Microscopio óptico

- 8 Jeringas insulínicas
- 1 Licuadora
- 1 Colador
- 1 Probeta de 100 ml
- 1 Probeta de 500 ml
- 1 Embudo
- 1 Espectrofotómetro
- 1 Kg. de Citrato de sodio.
- 100 ml. de Tritón x-100
- 20 ml. de Tiomersal 1:1000
- 1 Frasco de 10ml. de Conceptual (Acetato de Buserelina, --
analogo de GnRH).
- Agua destilada, Gasas, Navajas, Hilo de seda o algodón, --
Tijeras y Pinzas "de ratón".

Se trabajó con los cabritos un solo día a la semana, ---
siendo el mismo día, a la misma hora en todas las semanas. --
Primero, se pesaba en una báscula con capacidad máxima de 50
kg. y una división mínima de 0.5 kg., se medía el perímetro -
escrotal con una cinta métrica dividida en centímetros y se -
sanguinaba por punción en la vena yugular obteniendo 10 ml. de
sangre y anotando los datos en una libreta especial, la san-
gre se centrifugó durante 20 min., a 10 000 RPM para obtener
el suero y colocarlo en frascos identificados para cada ani-
mal y por cada semana para su posterior análisis de cuantifi-
cación de testosterona por el método de Radio Inmuno Ensayo -

en el Laboratorio de Medicina Nuclear del Centro Médico "La Raza".

Después, los chivos se electroeyacularon siguiendo la metodología descrita por Cameron, 1961:

- Cortar el pelo y eliminar la suciedad que se encuentra alrededor del orificio prepucial.
- Sentar al chivo y protruir el pene empujando hacia arriba la flexura sigmoidea.
- Sujetar el pene con una tira de gasa para evitar que se retraiga.
- Acostar al chivo e introducir el electrodo del electroeyaculador por el recto a la vez que se coloca el pene dentro de un tubo colector para recibir el semen.
- Dar estímulos de tres segundos con 8-12 volts y descansos de tres segundos hasta que se logre el eyaculado, a partir de entonces, se dan cinco estímulos de tres segundos alternados con descansos de tres segundos.

Una vez obtenido el semen, se trasladó inmediatamente al baño María a 37°C y se midió el volumen en tubo graduado, se diluyó 0.1 ml. de semen en 9.9 ml. de solución de citrato de sodio al 2.9% que se había puesto previamente en baño María. De la dilución se tomó una gota y se observó al microscopio - para valorar motilidad progresiva, se tomó otra gota que se mezcló con 2-3 gotas de colorante Wells-Awa, se dejó durante

cinco minutos para hacer con él un frotis y posteriormente observar al microscopio para evaluar porcentaje de anomalías primarias y secundarias en los espermatozoides.

Para medir concentración espermática, se utilizó lo que restó de la dilución, la cual se colocó en tubos especiales para leer en el espectrofotómetro que, previamente se ajustó con un tubo lleno de citrato de sodio en solución al 2.9%, -- los resultados se estimaron en base a tablas preestablecidas.

Todo lo anterior, se realizó durante las primeras cuatro semanas de experimentación.

En la quinta semana, se dividió a los chivos en dos grupos de cuatro chivos cada uno, eligiéndolos en base al peso -- procurando que fuesen lo más parecidos en este aspecto ambos grupos; al grupo experimental se le aplicó el GnRH en dosis -- de 0.156 ml. durante la mañana (8:00 A.M.) y 0.156 ml. durante la tarde (6:00 P.M.) dosis que equivale a 12.5 μ g/día, en esta semana solo se pesaron los chivos, se tomaron muestras -- de sangre para obtener suero y se midió el perímetro escrotal.

En la sexta semana y en la séptima, sólo se pesaron los chivos, se tomaron muestras de sangre para obtener suero y se midió el perímetro escrotal.

En la octava semana de experimentación, se castró a un -- chivo de cada grupo, la castración no se hizo en la forma en que convencionalmente se hace, sino que se hizo a manera de --

obtenerlo más que se pudiera del conducto deferente; según --
los siguientes pasos:

- Sujetar al chivo en una camilla y lavar la zona de incisión con solución de yodo, aplicar 10 ml. de anestésico local y rasurar la base del escroto.
- Cortar el escroto hasta localizar el paquete testicular.
- Localizar los conductos deferentes de cada lado y jalarlos suavemente para obtener cuando menos 10 cm. de longitud de este órgano.
- Ligar los vasos testiculares y cortar para obtener los otros órganos: testículos, epidídimo y conducto deferente.
- Unir la piel donde se hizo la incisión y suturar, poner antibiótico y antiinflamatorio los tres días posteriores a la operación.

Las muestras obtenidas se procesaron de la siguiente manera:

- Preparar una solución para homogeneizar el tejido testicular según la metodología de Amann y Lambiase, 1967. -- (Anexo 1).
- Se disecarán los órganos para obtener sus partes por separado y se pesarán.

De el testículo, se pesaron 2.5 gr. los cuales se licuaron durante cinco minutos con 100 ml. de la solución homoge--

neizante, una vez licuado, se pasó a través de un colador y se observó al microscopio de contraste de fases; para obtener la concentración se contaron todos los espermatozoides que se encontraron en los 25 cuadritos de los dos lados de la cámara de New-Bauer y se sacó un promedio de estos para posteriormente calcular la concentración.

El epidídimo se licuó completo con 500 ml. de la solución homogeneizante y se procedió con la misma forma que con el testículo. De esta muestra se contaron cinco de los 25 cuadros, estos podían ser los cuadros en diagonal o los cuatro de los extremos más el del centro, el resultado se multiplicó por cinco, esto se hizo con los dos lados de la cámara y se sacó un promedio para después calcular la concentración.

De el conducto deferente, se tomaron 10 cm. y se licuaron durante cinco minutos con 50 ml. de solución homogeneizante y se procedió igual que con las muestras anteriores, contando en la cámara todos los espermatozoides de ambos lados y se sacó un promedio para calcular la concentración.

En la novena semana, se sacrificaron dos chivos, uno de cada grupo, escogiéndolos por su talla y peso eligiendo los más grandes, se les sacrificó con pistola de émbolo oculto y de ellos se obtuvieron los testículos, epidídimos, conductos deferentes, ampulas, glándulas vesiculares y próstata.

Todas las muestras obtenidas se procesaron del mismo mo-

do que las de los chivos castrados y, en el caso de las ámpulas y glándulas vesiculares, se procesaron de la siguiente forma:

- Se pesaron
- Se licuaron con 100 ml. de solución homogeneizante, esto se hizo con cada uno de los órganos por separado.
- Se observó al microscopio de contraste de fases y se contaron los 25 cuadrillos de ambos lados de la cámara y se sacó un promedio para posteriormente calcular la concentración.

Durante la décima y onceava semana, se pesaron, sangraron y se les midió el perimetro escrotal a los chivos restantes. En ambas semanas, se castraron dos chivos, uno de cada grupo, se obtuvieron los mismos órganos que en la octava semana y se procesaron igual.

Los datos se analizaron estadísticamente mediante pruebas de hipótesis, utilizando percentiles de "Z" y pruebas de correlación lineal simple, (Daniel, 1977).

RESULTADOS Y DISCUSION:

El peso vivo promedio de los cabritos fue de 23.15 ± 4.03 kg. y 23.65 ± 2.29 kg. para los grupos tratado y control respectivamente no existiendo diferencias significativas ($P > 0.05$).

El perimetro escrotal promedio fue de 21.05 ± 2.34 cm., y 20.56 ± 1.83 cm., para tratados y no tratados respectivamente, no existiendo diferencias significativas ($P > 0.05$).

Las características seminales antes del tratamiento con GnHR se mostraron tampoco diferencias significativas entre grupos obteniéndose los valores que aparecen en el cuadro No. 1 La concentración obtenida fue similar a la reportada para machos adultos (Trejo, 1984).

El perimetro escrotal, presentó el mismo valor que el publicado por Salau (1984), para chivos adultos en Nigeria, pero las características seminales restantes alcanzaron solamente la mitad de los valores publicados para adultos.

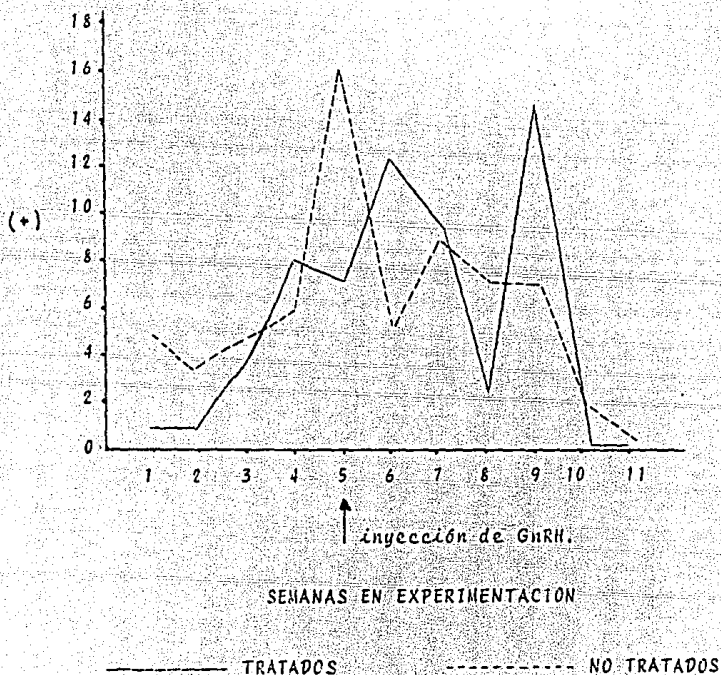
En el cuadro No. 2 se presentan los valores para las reservas espermáticas en el testículo, epididimo y conductos deferentes y, se observa que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos ($P > 0.05$). La reserva total espermática en el testículo mostró una tendencia a ser mayor en los animales tratados, pero las reservas totales en el epididimo y en los conductos deferentes mostraron la tendencia en favor de los animales no tratados, lo cual indica que el -

tratamiento a base de Factor Liberados de Gonadotropinas no tuvo efecto sobre la espermatogénesis. ce los cabritos al inicio de su vida reproductiva, posiblemente debido a la falta o escasez de receptores hormonales específicos.

En la gráfica uno, se presentan los niveles de testosterona para los grupos tratados y no tratados, observándose en los controles un pico antes y durante el experimento, con una meseta y caída pronunciada en las dos últimas semanas, mientras que los tratados presentaron picos en las semanas 6 y 9 del experimento. No existieron diferencias significativas para los niveles totales de testosterona ni antes ni después del tratamiento entre grupos y los picos presentes en la gráfica pueden ser debidos a la variación individual.

Los niveles de testosterona, se correlacionaron significativamente con el peso del epididimo en los animales tratados $r = 0.96$ ($P < 0.05$), con el peso testicular $r = 0.93$ ---- ($P < 0.05$) y con el peso del epididimo $r = 0.88$ ($P < 0.05$) en los animales no tratados.

GRÁFICA 1.- NIVELES DE TESTOSTERONA EN CABRITOS PUBERES, TRATADOS Y SIN TRATAR CON UN ANALOGO DE GnRH DURANTE LA PUBERTAD.



(+) TESTOSTERONA EN EL SUERO ng/mL.

CUADRO 1.- RESERVAS ESPERMÁTICAS DEL TESTICULO, EPIDIDIMO Y CONDUCTO DEFERENTE EN CABRITOS PUBERES TRATADOS CON GnRH.

CARACTERÍSTICAS	GRUPO TRATADO	GRUPO NO TRATADO
Peso testicular (g)	60.12 \pm 16.15	54.61 \pm 2.20
Concentración espermática testicular $\times 10^5/g$	4158 \pm 1823	4292 \pm 1571
Reservas espermáticas testiculares totales $\times 10^7$	2449	2343
Peso del epididimo (g)	10.62 \pm 1.4	9.58 \pm 1.7
Concentración espermática epididimal $\times 10^7/g$	1932 \pm 1122	2414 \pm 1804
Reservas espermáticas epididimarias totales $\times 10^8$	2053	2312
Concentración espermática del conducto deferente $\times 10^4/cm.$	364 \pm 136	374 \pm 232

CUADRO 2.- COEFICIENTE DE CORRELACION SIGNIFICATIVOS PARA LOS NIVELES DE TESTOSTERONA EN EL SUERO.

CARACTERISTICA		
CORRELACIONADA	GRUPO NO TRATADO	GRUPO TRATADO
Peso testicular	NS	0.93 (P<0.01)
Peso epididimo	0.96 (P<0.01)	0.88 (P<0.05)

NS = No significativo P<0.05

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

Amann, R.P. and Almquist J.O. (1961). Reproductive capacity of dairy bulls I. Technique for direct measurement of gonadal sperm reserves. *J. Dairy Sci.* 44: 1537.

Amann, R.P. and Almquist J.O. (1961). Reproductive capacity of dairy bulls II. Gonadal and extragonadal sperm reserves as determined by direct counts and depletion trials; dimensions and weight of genitalia, *J. Dairy Sci.* 44: 1668-1679.

Amann, R.P. and Lambiase, JR. J.T. (1967). Use for triton X-100 in determining sperm reserves. *J. Animal Sci.* 25; 917.

Amann, R.P. and Lambiase, Jr. J.T. (1969). The male rabbit III. Determination of daily sperm production by means of testicular homogenates, *J. Animal. Sci.* 28: 369-374.

Colas, G. (1984). Factors affecting quality of rams semen. *Sheep Production*. 2nd ed, Butterworth. U.K. 453-465.

Courot, M. (1979) Semen quality and quality in the ram. *Sheep Production*. 2nd ed. Butterworth. U.K. 495-504

Dalton, D.C. (1980). Population genetics, selection and breeding An introduction to practical animal breeding. Granada, Pub. U.K. 42-46.

Daniel, W.W. (1977). *Bioestadística*. ed. Limusa, México.

Ferreira, N.J. (1976). *Aspectos de reprodução ovina et caprina*. Centro Nacional de Pesquisas com Caprinos e Ovinos Deslanados EMBRAPA. Brazil. Mimeografo. 24pp.

Habault P. (1973). *Elemento de zootecnia general*. Ed. Mundi - Prensa. España: 35-69.

Hochercan de Reviers, M.T., Blanc, M.R., Colas, G., and Pelletier J. (1985). *Parameters of male fertility and their genetic variation in sheep*. *Genetics of reproduction in sheep*. London, U.K. Butterworth. 301-314.

Jimenez S.H. (1984). *Determinación de la pubertad en corderos de diferentes cruza en el antiplano mexicano*. Tesis. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.

Jochle, W. and Ross, L.D. (1980). *Control of normal reproductive functions in domestic animal*,. VEG. Gustav Fischer Verlag Jena. German Democratic Republic. 132-182.

Kopp A., (1985). *Evaluación de la buserelina (Análogo de la GnRH) sobre la calidad del eyaculado en sementales bovinos*. *El Libro Azul 22*: 836-840.

Land, R.B. (1982). Indicators of reproductive potentials. Proc. World cong sheep and beef cattla breed. Dunmore Press. New Zealand Vol. 1: 365-373.

Noakes, D.E. (1979). The normal breeding animal. Fertility and infertility in domestic animals. 3th. ed. Baillinere Tindal. U.K. 5-36.

Ostrowski, J.E.B. (1980). Causas de disminución de los proceos ovinos. Temas sobre manejo reproductivo e inseminación artificial en bovinos y ovinos. Ed. Hemisferio Sur, Argentina. 289-304.

Rasbeck, N.O. (1983). The male and fertility of domestics animal (Al or natural mating). C.E.C. Symposium on "The male in reproduction", INRA. France, 6-7 October 20.

Salau, D.C. (1983). Spermatozoa output, testicular sperm reserve and epididymal storage capacity of the Red Sokoto goats in digenous to Northern Nigeria. Theriogenology. 21(2). 217-223.

Smidt D., y Ellendorf F., (1972). Endocrinologla y Fisiologla de La reproducción de los Animales Zootecticos. Ed. Acribia. España.

ANEXO 1.- FORMULA PARA PREPARAR LA SOLUCION HOMOGENIZANTE DE
TEJIDO TESTICULAR.

Tritón X-10.....0.05%

Thiomersal 1:1000.....100 ppm.

Solución salina fisiológica.....c. b. p.

Amann & Lambiase. 1967.