

7  
2ej



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"CUAUTITLAN"

EFFECTO DE LA YEMA DE HUEVO DE GALLINAS RHODE  
ISLAND O LEGHORN Y DEL CENTRIFUGADO SOBRE  
ALGUNAS CARACTERISTICAS DEL SEMEN CAPRINO

## T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

**GUSTAVO JULIO BARBA CALZADA**

ASESOR : MVZ. MR. ARTURO A. TREJO GONZALEZ



1930

CUAUTITLAN, IZCALLI EDO. DE MEX.



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.

## INDICE

	Pag.
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	13
MATERIAL Y METODOS.....	14
RESULTADOS Y DISCUSION.....	19
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	28
BIBLIOGRAFIA.....	29
ANEXO.....	32

## INTRODUCCION.

Uno de los avances de la tecnología de la reproducción más significativos en el mejoramiento genético animal es la utilización de la inseminación artificial, o sea la colocación del semen por medios mecánicos en el aparato reproductor femenino (Foote, 1985; De Lucas, 1986).

La inseminación artificial más antigua data de 1780, pero fue hasta 1900 cuando los estudios extensivos en animales domésticos empezaron en Rusia y poco después en Japón. Se han desarrollado métodos para la inseminación artificial en bovinos, ovinos, cerdos, caballos, perros, gatos y cabras, aunque su utilización ha sido posterior en los caprinos con respecto a los primeros, el éxito y beneficio son similares (Foote, 1985; De Lucas, 1986).

Las principales ventajas de la inseminación artificial son:

- 1.- Mejoramiento genético
- 2.- Control de enfermedades venéreas, éste es de interés sanitario resultante del control regular de los machos y de la prevención de enfermedades infecciosas parasitarias transmitidas por la cópula.
- 3.- Disponibilidad de registros de apareamiento exactos necesarios para un buen manejo del hato.
- 4.- Servicios económicos.
- 5.- Seguridad a través de la eliminación de machos peligrosos en la granja.

Cuando la inseminación artificial se efectúa en forma adecuada tiene pocas desventajas, para esto se debe contar con personal entrenado para proporcionar un servicio eficiente y buenas instalaciones (Quittet, 1982; Foote, 1985)

#### CARACTERISTICAS DEL SEMEN DE CAPRINO.

No. recolecciones/semana	7 - 20
Volumen ( ml. )	0.5 - 1.5
Concentración espermática ( millones/ml. )	3000 - 6000
Motilidad espermática progresiva ( % )	60 - 80
Espermatozoides morfológicamente normales ( % )	80 - 95
	(Hafez, 1985)

#### INSEMINACION ARTIFICIAL EN CABRAS.

En la actualidad la inseminación artificial esta ampliamente difundida en algunos países europeos, entre los que destaca Francia que se ha caracterizado por la producción de leche en la elaboración de quesos (De Lucas, 1986).

La inseminación artificial se basa en que con un eyaculado previamente fraccionado se pueden inseminar 10, 20 y hasta 40 cabras, siendo tan buena y comparable con el servicio natural, teniendo un buen porcentaje de concepción. Se han registrado nacimientos utilizando semen congelado almacenado en nitrógeno líquido por 15 años (Kishore, 1967; Barker, 1978; Quittet, 1982).

Aparte de las grandes ventajas de la inseminación artificial ya mencionadas, en cabras proporciona una alternativa en casos de reposo sexual en los machos debido a la estacionalidad, y se han reducido los promedios de edad de los rebños, teniendo ventajas económicas (Westhuysen, 1978).

#### RECOLECCION DE SEMEN.

A partir de los ocho meses de edad los machos caprinos estan aptos para hacerles una recolección de semen de buena calidad. La recolección se puede hacer de dos maneras: por vagina artificial.

y por electroeyaculador (Corteel, 1981).

**Vagina artificial.**- Es el mejor procedimiento para la recolección de semen. La vagina artificial es de construcción simple y simula la cópula natural. La unidad proporciona temperatura adecuada (42 a 45 grados centígrados), presión y lubricación que favorecen la eyaculación y se adosa un tubo calibrado para recolectar semen (Foote, 1985).

El problema de la vagina artificial es que depende de la libido del macho, por ser estacionales, algunos son entrenados en la estación de cría y fuera de ésta el 8% aproximadamente no trabajan en la vagina artificial, en la estación de cría la libido puede ser deprimida por deficiencia de zinc (Corteel, 1986).

**Electroeyaculador.**- Se utiliza cuando los machos no se pueden entrenar o rehusan la vagina artificial; también en casos de lesiones que hagan la monta imposible. Los machos responden bien a las estimulaciones eléctricas, la eyaculación ocurre por lo general después de 4-7 estímulos, el semen puede recolectarse con el macho en posición de recumbencia o parado en una mesa. El glande del pene debe asegurarse con una gasa estéril dirigido hacia el tubo de recolección para reducir al mínimo la pérdida del semen ( Foote, 1985 ).

Con el método del electroeyaculador se obtiene mayor cantidad de plasma seminal que con la utilización de la vagina artificial. En algunos estudios se ha observado que el plasma seminal obtenido por vagina artificial y por electroeyaculador

son fisiológicamente similares (Cortee1, 1981).

#### FACTORES QUE INFLUYEN EL VOLUMEN Y EL CONTENIDO DEL EYACULADO.

En los mamíferos el eyaculado está constituido por espermatozoides y plasma seminal, el cual, a su vez se compone de la mezcla de líquidos secretados por los testículos y varios órganos accesorios al aparato genital (Cortel, 1980; Hafez, 1985).

#### Efecto de la estación.

Existen variaciones en el volumen del semen por eyaculado durante las estaciones del año. Se ha observado que el volumen máximo se obtiene en otoño y el mínimo durante el invierno (Patil and Raja, 1978).

En algunas razas la concentración espermática no varía en eyaculados fuera de la estación de cría. El aumento del plasma seminal en la estación de cría es por que el epididimo y glándulas accesorias son andrógeno dependientes y los andrógenos fuera de la estación de cría están disminuidos (Cortee1, 1981).

La capacidad espermática se va modificando de acuerdo a la estación y al fotoperíodo; las mejores características seminales en cuanto a motilidad, porcentaje de espermatozoides vivos y de anormales, volumen y color tienen lugar en las razas europeas hacia el otoño, durante la estación de cría, algunas informaciones sobre razas de la India señalan al verano como la época más favorable. Es conveniente recordar que todo el aparato reproductivo se encuentra bajo influencia de complejos

hormonales, entre los que destaca la testosterona, la que es fundamental no sólo en la espermatogénesis sino en el crecimiento y actividad de las glándulas accesorias así tenemos que el mayor volumen de eyaculado y su mejor calidad, mostrada por su contenido de fructuosa, ácido cítrico y proteína, influyen sobre otros aspectos como el de la motilidad espermática, que se ve aumentada. Este efecto ha sido observado incluso en espermatozoides recolectados en otra estación y a los que se les añadió plasma seminal de esta época, el efecto inverso se da cuando se agrega plasma recolectado en estaciones fuera de la de cría; ello parece tener su origen en un factor inhibidor de la motilidad.

Investigaciones realizadas in vitro han demostrado que las glándulas secretan una proteína de bajo peso molecular que inhiben la motilidad espermática y cuyo factor inhibidor puede ser revertido por un constituyente de las glándulas seminales, de tal forma, que todo parece indicar que el macho tiene su propio control sobre la motilidad espermática a través de la secreción de estas glándulas, en relación a la concentración existe aparentemente una relación inversa con el volumen. La motilidad es mejor durante la estación de cría y el porcentaje de espermatozoides anormales disminuye durante la misma.

Los cambios que experimenta la calidad espermática según la estación están en íntima relación con su capacidad fertilizadora (De Lucas, 1986).

La prolactina puede estar asociada con los niveles de

andrógenos, cuando la prolactina se encuentra elevada los niveles de andrógenos están bajos, los niveles de prolactina se elevan cuando los días son más largos (Cortese, 1981).

La motilidad espermática está asociada con la fertilidad, existen diferencias en la motilidad de estación a estación y de individuo a individuo criados en un mismo ambiente, la motilidad puede ser andrógeno dependiente (Cortese, 1981).

#### La Edad, Raza y Diferencias Individuales.

El volumen de eyaculación depende de la edad y del número de servicios en un día, las reservas de espermatozoides bajarían hasta el 62 % al segundo eyaculado. El número de espermatozoides depende también de la raza como de la idiosincrasia de cada animal (Cortese, 1981).

#### Otros factores.

La cantidad de semen y de espermatozoides decrecen por la hipertermia por las altas temperaturas ambientales, por la humedad relativa, por las lluvias y por los bajos niveles de energía (Cortese, 1981).

#### CALIDAD ESPERMÁTICA.

Una posible explicación de la gran variabilidad de la fertilidad después de la inseminación artificial es la calidad del semen (Cortese, et al., 1980).

La calidad espermática se mide por el porcentaje de motilidad espermática progresiva en relación con tiempo, existen pruebas más sofisticadas que incluyen la liberación de enzimas

para la valoración. La calidad espermática debe medirse en vivo durante la estación de cría que es cuando está más alta. Los valores de motilidad de eyaculados diluidos y congelados difieren de un macho a otro, la motilidad al momento del refrigerado o congelado es deprimida (Corteel, 1981).

#### CONSERVACION DEL SEMEN.

El esperma eyaculado no sobrevive durante periodos largos a menos que se hayan añadido varios agentes. Estos deben estar presentes en un buen diluyente que tiene las siguientes funciones:

- 1.- Proporcionar nutrientes como fuente de energía.
- 2.- Proteger contra los efectos dañinos del enfriamiento rápido.
- 3.- Proporcionar un medio amortiguador para evitar los cambios dañinos del pH tal como la formación de ácido láctico.
- 4.- Mantener la presión osmótica adecuada y el equilibrio electrolítico.
- 5.- Inhibir el crecimiento bacteriano.
- 6.- Aumentar el volumen de semen de tal manera que pueda utilizarse para inseminaciones múltiples.
- 7.- Proteger las células espermáticas durante el congelamiento. (Foote, 1985).

Los diluyentes más utilizados son los que tienen como base la yema de huevo o la leche descremada (Foote, 1985; De Lucas, 1986).

Los porcentajes de nacimientos utilizando diluyentes a base de yema de huevo son de 5 - 85 % y utilizando diluyente a base de leche descremada parecen ser mejores, los diluyentes salinos no han sido probados satisfactoriamente en semen de cabra (Corteel, 1981).

En otros trabajos se menciona que la utilización de diluyentes con leche o yema de huevo como base, en la conservación de semen

caprino, no existe diferencia significativa con respecto a la fertilidad (Borghain, et al. 1985).

En 1961 investigaciones realizadas en semen de cabra preservado en medios que contenían yema de huevo se observaron cambios en el color y consistencia de los espermatozoides, así como la inmovilización de estos, en un principio se pensó que la causa era bacteriana, la cual después fue descartada por exámenes bacteriológicos llegando a la conclusión de que estos cambios eran por una enzima llamada "factor de coagulación - yema de huevo - semen de cabra" (Aamdal, et al. 1965).

#### PRINCIPALES PROBLEMAS EN LA CONSERVACION DEL SEMEN CAPRINO.

Diluyente a base de yema de huevo.

La utilización del diluyente yema de huevo como base ha sido cuestionada por la variación de los resultados de fertilidad, el problema se debe aparentemente a que las lecitinas de la yema de huevo son hidrolizadas a lisolecitinas y ácidos grasos, los cuales son tóxicos al espermatozoide. Esta hidrólisis es por una enzima denominada fosfolipasa A, presente en el semen y producida por las glándulas bulbouretrales. Esta hidrólisis depende de, la disponibilidad de calcio libre, pH, temperatura y de la concentración del plasma seminal, así como de la estación en la que fue recolectado el semen (Cortez, 1981; De Lucas, 1986).

La lecitina es un fosfolípido que se encuentra en los tejidos animales, especialmente en el sistema nervioso, semen, yema de huevo y en cantidades menores en la bilis y la sangre (Labor, 1970).

En el testículo caprino la lecitina y la lisolecitina se encuentran dentro del grupo de lípidos polares ocupando el 13.16% del total de lípidos testiculares (Bilasporí and Guraya, 1981).

La yema de huevo está compuesta principalmente por grasas (lípidos) y proteínas (32.5 % y 17.5 % respectivamente). Cuando se combinan las anteriores, se forman lipoproteínas que junto con las lecitinas proveen de protección a los espermatozoides contra el choque frío cuando la yema de huevo es utilizada como diluyente para la conservación de semen caprino (Marck, 1986; Memon, 1981).

En algunos casos la fertilidad resultante del semen caprino con diluyente a base de yema de huevo es extremadamente buena, esto puede ser por que existen diferencias en la producción de la enzima fosfolipasa dependiendo de la raza de la cabra o por las diferentes composiciones de la yema de huevo. Experimentos han demostrado que la motilidad espermática y el tiempo de sobrevivencia es mejor cuando se utilizan huevos de gallinas New Hampshire, seguido de Sussex, Leghorn blanco y café en este orden (Cortesi, 1981).

En un experimento reciente, los resultados manifiestan que conforme se aumenta el porcentaje de yema de huevo, va disminuyendo la motilidad, pero el grado de coagulación se aumenta (Gómez, et al., 1989).

#### Efectos del Plasma Seminal.

La motilidad espermática es influenciada por el plasma seminal, la secreción de glándulas bulbo-uretrales están

implicadas en el efecto depresivo de la motilidad espermática, esta correlación indica que el plasma seminal está involucrado en la fertilidad espermática, debido a la fosfolipasa tipo A secretada por las glándulas bulbouretrales. La presencia de esta enzima en el plasma seminal del macho caprino ha limitado el uso de diluentes con yema de huevo como base. La interacción yema de huevo-semen de cabra no es del todo conocida (Corteel, 1980; Memon y Ott, 1981).

El efecto depresivo del plasma seminal *in vitro* no es un problema sobre la sobrevivencia espermática en la raza de cabras Alpina y Poitevine (Corteel, 1977).

Efectos del "lavado" en los espermatozoides caprinos.

Los mejores resultados con semen congelado se han obtenido cuando antes de congelarse se centrifugan y se diluyen. El "lavado" del espermatozoide mejora la motilidad espermática en semen fresco y descongelado. La forma en que se recomienda el centrifugado del semen es con una solución fisiológica (Ringer-lactato) a 3000 rpm/15 min (Memon y Ott, 1981; Moreno 1984).

Se ha observado que la disminución de espermatozoides vivos es anulada si son "lavados" por centrifugación antes de la dilución, esto es, al descongelamiento después de 3 a 90 días de almacenaje en nitrógeno líquido y reducida al 1.3 % para 91 a 180 días de almacenaje en nitrógeno líquido (Corteel, 1975).

Sin embargo al separar el plasma seminal (sobrenadante) después del centrifugado causa un estado de choque al formarse un paquete compacto de espermatozoides que dificultan su dilución.

(Westhuysen, 1978).

#### FACTORES DE FERTILIDAD.

La elevada fertilidad con la inseminación artificial depende de:

- 1.- Alta calidad del semen.
- 2.- Técnica adecuada de descongelamiento e inseminación.
- 3.- Hembras saludables en condición adecuada de crianza.
- 4.- Inseminación al momento adecuado del ciclo estral.

Lo anterior es extremadamente importante así como el procedimiento de conservación del semen (Foot, 1985).

#### ANORMALIDADES ESPERMATICAS.

Por lo general, las anomalías se dividen en dos clases: primarias y secundarias.

**Anormalidades primarias.**- Estas son de origen testicular. Según se piensa, ocurrió alguna falla durante el proceso espermatogénico y ésta no se corrigió mientras el espermatozoide pasaba por el sistema de conductos.

##### En Cabeza:

- 1.- En forma de pera.
- 2.- Redondos.
- 3.- Alargados.
- 4.- Microcefálicos.
- 5.- Macrocefálicos.
- 6.- Dobles o mellizos.
- 7.- De acrosoma anormal.

##### Segmento Intermedio:

- 1.- Doblado.
- 2.- Doble.
- 3.- Abaxial.

##### Cola:

- 1.- Enrollada.
- 2.- Doble.

**Anormalidades secundarias.**- Se supone que estas anomalías aparecen durante el paso de los espermatozoides por el sistema de conductos, después de salir de los tubos seminíferos y el testículo en sí. Conviene hacer hincapié que en estas anomalías son de índole degradativa (Sorensen, 1982).

- 1.- Cabeza desprendida.
- 2.- Gota citoplasmática en el cuello o cola.
- 3.- Cola en gancho.
- 4.- Cápsula desprendida de la cabeza.

(Pérez, 1984).

Por lo anteriormente expuesto se diseñó un experimento para estudiar el efecto de la yema de huevo de las razas de gallinas más comunes en México sobre la calidad del semen caprino después de la congelación.

## OBJETIVOS.

LOS OBJETIVOS DEL PRESENTE TRABAJO SON EVALUAR EL EFECTO DE LA YEMA DE HUEVO DE GALLINAS DE RAZA RHODE ISLAND O LEGHORN Y LA CENTRIFUGACION DEL SEMEN CAPRINO SOBRE LA MOTILIDAD Y MORFOLOGIA DE LOS ESPERMATOZOIDES DESPUES DE CONGELARLOS.

## MATERIAL Y METODOS.

Para la realización del presente trabajo, se utilizaron las instalaciones de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, localizadas en el municipio de Cuautitlán Izcalli, Estado de México a 2450 msnm, a 19 grados 43 minutos de latitud norte, y a 99 grados 14 minutos de longitud poniente (García, 1973).

Se trabajó durante los meses de Agosto a Noviembre de 1989, utilizándose, para ello, 3 machos caprinos adultos, 2 de la raza Alpina y 1 Nubio; todos ellos entrenados para ser trabajados con vagina artificial (V.A.).

Previo limpieza del prepucio, para evitar posible contaminación del semen, se procedió a la obtención de 30 muestras de semen, siendo un volumen promedio por eyaculado de 0.30 a 0.72 ml.

Las V.A. que se utilizaron, consistían de un tubo rígido de 10-15 cm. de largo y de 5 cm. de diámetro, al que se le colocaba una funda de polietileno sujeta firmemente a ambos extremos; así mismo, en uno de los extremos se colocó un cono de polietileno, el cual contenía a su vez un tubo colector graduado, cubierto con un protector contra la radiación solar, los cambios de temperatura y los golpes.

A cada V.A. se le dió presión y temperatura, mediante la utilización de agua caliente a 44 grados centígrados.

La metodología dentro de éste trabajo fue la siguiente:

Se preparó el diluyente TRIS a base del amortiguador orgánico

Hidroximetil-aminometano (Abdelhakean, 1978; Fukui, 1979).

El diluyente se dividió en dos partes iguales; una conteniendo Yema de Huevo de raza Rhode Island y la otra Yema de Huevo de raza Leghorn. A ambas partes se les subdividió en dos porciones la primera que contenía solo el diluyente (A) y la segunda porción que contenía la otra mitad del diluyente (B), más glicerol al 5 % (ANEXO).

Una vez preparado el diluyente y teniéndolo a temperatura adecuada, se procedió a la obtención del semen de cada macho, utilizando para ello la Vagina artificial antes descrita.

Al obtener cada eyaculado, éste se evaluó, tanto en sus características microscópicas (motilidad progresiva, espermatozoides normales y anormalidades primarias y secundarias), como en su característica macroscópica (volumen).

Para ello se realizó la dilución del semen en citrato de sodio al 2.9 % (0.05 ml. de semen en 9.95 ml. de citrato de sodio quedando una dilución final de 1:200 v/v); y a partir de esta dilución se determinaron sus características microscópicas.

La motilidad progresiva se determinó al observarse al microscopio compuesto en aumento 100X, una gota de dicha solución, determinándose el porcentaje promedio del número de espermatozoides móviles; procurándose trabajar con una temperatura promedio de 37 grados centígrados para evitar alteraciones por cambio térmico.

Para poder evaluar el número de espermatozoides normales y

las anomalías primarias y secundarias, se realizaron frotis, que fueron elaborados a partir de una gota de semen en dilución con citrato, por dos gotas de la tinción de Wells-Awa, permaneciendo en contacto por cinco minutos, antes de que se realizaran los frotis, los cuales fueron observados al microscopio compuesto en aumento 1000X contando 100 células de cada laminilla (Wells y Awa, 1970).

Una vez evaluado el semen en sus características antes mencionadas, se procedió a la división del semen en cuatro alícuotas de 0.1 ml. y se trabajaron de esta forma:

Alicuota 1: Adición de 0.9 ml. de solución Ringer-lactato y se centrifugó a 3000 rpm/15 minutos. Al terminar se separó el sobrenadante y se procedió a adicionar el diluyente (A), conteniendo yema de huevo de gallinas Rhode Island.

Alicuota 2: Adición de 0.9 ml. de solución Ringer-lactato y se centrifugó a 3000 rpm/15 minutos. Al terminar se separó el sobrenadante y se procedió a adicionar el diluyente (A), conteniendo yema de huevo de gallinas Leghorn.

Alicuota 3: Semen sin centrifugar más diluyente (A), conteniendo yema de huevo de gallinas Rhode Island.

Alicuota 4: Semen sin centrifugar más diluyente (A), conteniendo yema de huevo de gallinas Leghorn.

Las cuatro alícuotas se colocaron en vasos de polietileno,

que contenían agua a 37 grados centígrados y que fueron llevados al refrigerador, con una temperatura promedio de 5 grados para iniciar su etapa de adaptación al congelado. El diluyente (B) de igual forma fue llevado al refrigerador.

Se dejaron las alícuotas y el diluyente (B) en el refrigerador durante dos horas (hasta que ambas bajaran su temperatura a 5 grados centígrados, al completar este tiempo se procedió a adicionar 0.5 ml. de diluyente (B) a las cuatro alícuotas, quedando un volumen final de 1.1 ml. (dilución final de 1:10 v/v).

Al terminar de adicionar el diluyente (B), se inició la congelación del semen; para esto se utilizaron pajillas francesas con un volumen de 0.5 ml., las que una vez llenadas y selladas con alcohol polivinílico, fueron depositadas durante 15 minutos en vapor de nitrógeno, a una temperatura aproximada de -79 grados centígrados, después fueron puestas en gobelats y almacenadas en nitrógeno líquido (-196 grados centígrados), de 10 a 15 días.

Al concluir el período de almacenamiento, se descongelaron las pajillas en baño maría a 37 grados centígrados por once minutos. Posterior a esto se colocó el contenido de estas en 0.5 ml. de citrato de sodio al 2.9 %. Todo ello trabajado a 37 grados centígrados (Trejo, 1983).

Se procedió a la evaluación de la motilidad progresiva de las muestras al momento del descongelado, así como a la elaboración de frotis, utilizando la misma técnica que para el semen fresco, con esto se cuantificaron las anomalías

primarias, secundarias y espermatozoides normales de todas las muestras.

Se observaron cinco laminillas (frotis) de cada muestra; una del semen fresco y cuatro del descongelado.

A partir de estos frotis, se contaron 100 espermatozoides en el microscopio compuesto en aumento 1000X, y se clasificaron según las anomalías primarias, secundarias y normales.

Una vez obtenidos todos los datos, se procedió a transformar los valores al arcoseno, para que posteriormente estos se trabajaran en análisis de varianza simple y factorial, utilizando la prueba de rango múltiple de Duncan para la comparación entre medias (Snedecor, 1971; Steel y Torrier, 1980), utilizando el siguiente modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + H_j + C_k + SH_{ij} + SC_{ik} + HC_{jk} + SHC_{ijk} + E_{ijkl}$$

DONDE:

$Y_{ijkl}$  = Es la  $l$ ésima observación asociada al  $k$ ésimo centrifugado a la  $j$ ésima yema de huevo al  $i$ ésimo semental.

$\mu$  = Medía poblacional constante.

$S_i$  = Es el efecto del  $i$ ésimo semental. ( $i=1,2,3,4$ )

$H_j$  = Es el efecto de la  $j$ ésima yema de huevo. ( $j=1,2$ )

$C_k$  = Es el efecto del  $k$ ésimo centrifugado. ( $k=1,2$ )

$E$  = Error aleatorio.

## RESULTADOS Y DISCUSION

Se observó con respecto a las características de motilidad progresiva que:

La motilidad progresiva de los espermatozoides presentó efectos significativos para machos ( $P < 0.01$ ), para el tipo de yema ( $P < 0.01$ ) y un efecto combinado del tipo de yema y el centrifugado ( $P < 0.01$ ) (CUADRO 3).

Se puede apreciar en el Cuadro uno que la motilidad progresiva en el semen fresco no tuvo diferencias significativas entre machos, siendo en todos los casos superior o igual al 70 %.

En el mismo cuadro se destaca que la motilidad en el semen fresco fue estadísticamente igual a la de los tratamientos que fueron :

Para el macho uno en yema de huevo Rhode Island sin centrifugar 61.67 % ( $P < 0.05$ ).

Para el macho dos en yema de huevo Rhode Island centrifugada 58.75 % ( $P < 0.05$ ).

Para el macho tres en yema de huevo Rhode Island sin centrifugar 56.67 % ( $P < 0.05$  %).

Para el macho cuatro (muestra heterospermica de macho de raza Alpina y Nubia) en yema de huevo Leghorn sin centrifugar 53.33 % y en yema Rhode Island sin centrifugar 76.67 % ( $P < 0.05$ ). Notandose en este caso una marcada tendencia de esta combinación a mejorar la calidad del semen congelado cuando no se centrifuga.

El semen diluido en la yema de huevo Rhode Island sin centrifugar tuvo la mejor motilidad en tres de los cuatro machos utilizados.

Esto no coincide con lo publicado por Castro y Peralta (1986) y Moreno (1987), quienes trabajando bajo condiciones similares encuentran que los espermatozoides del semen fresco siempre tuvieron mejor motilidad progresiva que los del semen descongelado, pero ellos utilizaron yema de huevo de raza Leghorn y nunca de Rhode Island.

Para la recuperación de la motilidad progresiva de los espermatozoides, los efectos significativos fueron :

El efecto del macho ( $P < 0.01$ ); el efecto de la yema ( $P < 0.01$ ); el efecto del centrifugado ( $P < 0.05$ ) y la interacción yema-centrifugado ( $P < 0.01$ ) (Cuadro 5).

En el Cuadro cuatro se observa algo similar a lo que ocurrió para la motilidad progresiva total :

Para el macho uno la mejor recuperación de la motilidad progresiva se dió cuando el semen se diluyó sin centrifugar en yema de huevo de raza Rhode Island 80.09 % ( $P < 0.05$ ).

Para el macho dos fue cuando no se centrifugó el semen y se diluyó con yema de huevo Rhode Island 79.45 % ( $P < 0.05$ ).

Los espermatozoides del macho tres, se recuperaron mejor sin centrifugar y diluidos en yema de huevo Rhode Island 75.93 % ( $P < 0.05$ ).

Mientras que para el macho cuatro los mejores resultados se obtuvieron sin centrifugar en ambas yemas 76.17 % y 100 % (P< 0.05) para la Leghorn y Rhode Island respectivamente.

A diferencia de lo mencionado por Cortesal (1975 y 1980) y por Moreno (1987) que obtuvieron los mejores resultados "lavando" los espermatozoides por centrifugación, en el presente trabajo se observó que la mejor recuperación en general se dió cuando el semen no se centrifugó, sin embargo esto no fue cierto para el macho dos por lo que la interacción plasma seminal--yema--centrifugado, depende en primer lugar de la susceptibilidad de cada macho.

Por otro lado Westhuysen (1978), dice, que al separar el plasma seminal centrifugandolo se produce un estado de choque mecánico al formarse un paquete compacto de espermatozoides que no se puede diluir apropiadamente.

Con respecto a la morfología espermática (espermatozoides normales, anomalías primarias y secundarias) no se encontraron efectos significativos para el tipo de yema o para el centrifugado (P> 0.05), pero si entre machos para espermatozoides normales y anomalías primarias (P< 0.05), pero no para anomalías secundarias (Cuadros 6 a 11).

CUADRO 1  
 PORCENTAJE DE MOTILIDAD PROGRESIVA PARA EL SEMEN FRESCO Y DESCONGELADO  
 DE MACHOS CAPRINOS UTILIZANDO DILUENTE TRIS CON YEMA DE HUEVO DE LAS  
 RAZAS LEGHORN Y RHODE ISLAND, CENTRIFUGADO Y SIN CENTRIFUGAR.

MACHOS	SEMEN FRESCO	SEMEN DESCONGELADO			
		YEMA LEGHORN		YEMA RHODE ISLAND	
		CENTRIFUGADO	SIN CEN- TRIFUGAR	CENTRIFUGADO	SIN CEN- TRIFUGAR
1 n=12	76.6±7.7 a	38.3±18.0 de	40.3±21.9 cde	35.8±21.9 e	61.6±23.2 ab
2 n=8	71.5±6.4 a	45.0±22.4 bcde	13.7±21.3 f	58.7±18.8 ab	10.0±24.4 f
3 n=6	71.6±9.8 a	33.3±19.6 e	45.0±25.8 bcde	33.3±20.6 e	56.6±31.4 abcd
4 n=3	70.0±0.0 a	30.0±17.3 e	53.3±15.2 abcd	36.6±15.2 de	76.6± 5.5 a

n = Número de eyaculados.  
 Letras diferentes en los renglones representan diferencias  
 significativas (P<0.05).  
 MACHO 1 y 2 = ALPINOS.  
 MACHO 3 = NUBIO.  
 MACHO 4 = MEZCLA HETEROSPERMICA DE ALPINO Y NUBIO.

## CUADRO 2

ANALISIS DE VARIANZA PARA LA MOTILIDAD PROGRESIVA DEL SEMEN FRESCO Y DESCONGELADO DE MACHOS CAPRINOS UTILIZANDO DILUENTE TRIS YEMA DE HUEVO DE RAZA LEGHORN Y RHODE ISLAND, CENTRIFUGADO Y SIN CENTRIFUGAR.

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F.
TOTAL	144	41329.25		
TRATAMIENTO	19	27821.71	1464.30	17.03**
BLOQUES	3	3019.09	1006.36	11.70**
ERROR	122	10488.45	85.97	

\* (P&lt;0.05)

\*\* (P&lt;0.01)

NS (P&gt;0.05)

## CUADRO 3

ANALISIS DE VARIANZA CON ARREGLO FACTORIAL PARA LA MOTILIDAD PROGRESIVA DEL SEMEN FRESCO Y DESCONGELADO DE MACHOS CAPRINOS UTILIZANDO DILUENTE TRIS CON YEMA DE HUEVO LEGHORN Y RHODE ISLAND, CENTRIFUGADO Y SIN CENTRIFUGAR.

FUENTES DE VARIACION	G.L.	B.C.	C.M.	F.
TOTAL	115	29718.97		
TRATAMIENTO	15	12797.77	853.18	6.15**
BLOQUES	3	3476.30	1158.77	8.36**
YEMA (Y)	1	687.49	687.49	4.96**
CENTRIFUGADO (C)	1	167.38	167.38	1.21NS
Y x C	1	11942.90	11942.90	86.16**
ERROR	97	13444.90	138.60	

\* (P&lt;0.05)

\*\* (P&lt;0.01)

NS (P&gt;0.05)

CUADRO 4  
 PORCENTAJE DE RECUPERACION DE LA MOTILIDAD PROGRESIVA DEL SEMEN  
 CAPRINO UTILIZANDO DILUENTE TRIS CON YEMA DE HUEVO RAZA LEGHORN  
 Y RHODE ISLAND, CENTRIFUGADO Y SIN CENTRIFUGAR.

MACHOS	YEMA LEGHORN		YEMA RHODE ISLAND	
	CENTRIFUGADO	SIN CEN- TRIFUGAR	CENTRIFUGADO	SIN CEN- TRIFUGAR
1 n=12	49.92±22.5 cd	55.07±32.0 c	45.4±26.5 cd	80.0±29.8 ab
2 n=8	63.04±31.9 bc	18.9±29.9 de	79.4±22.7 ab	12.7±30.6 e
3 n=6	48.53±31.3 cd	64.13±38.7 bc	42.2±30.5 bc	75.9±39.9 abc
4 n=3	42.87±24.7 cde	76.1±21.8 abc	52.3±21.7 cd	100.0±0.0 a

n = Número de eyaculados.

Letras diferentes en los renglones representan diferencias significativas (P<0.05)

MACHO 1 y 2 = ALPINOS.

MACHO 3 = NUBIO.

MACHO 4 = MEZCLA HETEROESPERMICA DE ALPINO Y NUBIO.

CUADRO 5

ANALISIS DE VARIANZA CON ARREGLO FACTORIAL PARA LA RECUPERACION  
 DE LA MOTILIDAD PROGRESIVA DEL SEMN CAPRINO UTILIZANDO DILUENTE  
 TRIS CON YEMA DE HUEVO RAZA LEGHORN Y RHODE ISLAND, CENTRIFUGADO Y  
 SIN CENTRIFUGAR.

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F.
TOTAL	115	94166.28		
TRATAMIENTOS	15	33565.56	2237.70	4.17**
BLOQUEB	3	8540.22	2846.74	5.30**
YEMA (Y)	1	4948.40	4948.40	9.22**
CENTRIFUGADO (C)	1	2567.74	2567.74	4.78*
Y x C	1	26049.48	26049.48	48.53**
ERROR	97	52060.50	536.71	

\* (P<0.05)

\*\* (P<0.01)

NS (P>0.05)

CUADRO 6.  
 PORCENTAJE DE ESPERMATOZOIDES NORMALES PARA EL SEMEN FRESCO Y  
 DESCONGELADO DE MACHOS CAPRINOS UTILIZANDO DILUENTE TRIS CON YEMA DE  
 HUEVO DE LAS RAZAS LEGHORN Y RHODE ISLAND, CENTRIFUGADO Y SIN  
 CENTRIFUGAR.

MACHOS	SEMEN FRESCO	SEMEN DESCONGELADO			
		YEMA LEGHORN		YEMA RHODE ISLAND	
		CENTRIFUGADO	SIN CEN- TRIFUGAR	CENTRIFUGADO	SIN CEN- TRIFUGAR
1 n=12	93.5±5.1	94.4± 5.0	95.1± 5.3	97.2± 2.5	97.1± 2.5
2 n=8	96.3±4.3	96.0± 2.8	96.6± 4.3	97.1± 2.3	96.8± 2.4
3 n=6	95.5±5.6	92.8± 5.7	94.3± 2.7	93.0± 4.3	94.5± 4.6
4 n=3	97.6±1.1	95.6± 3.0	96.6± 2.5	94.6± 3.2	94.3± 6.6

n = Número de eyaculados.

MACHO 1 y 2 = ALPINOS.

MACHO 3 = NUBIO.

MACHO 4 = MEZCLA HETEROSPERMICA DE ALPINO Y NUBIO.

CUADRO 7

ANALISIS DE VARIANZA PARA ESPERMATOZOIDES NORMALES DEL SEMEN  
 FRESCO Y DESCONGELADO DE MACHOS CAPRINOS UTILIZANDO DILUENTE TRIS  
 CON YEMA DE HUEVO DE RAZA LEGHORN Y RHODE ISLAND, CENTRIFUGADO Y  
 SIN CENTRIFUGAR.

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F.
TOTAL	144	4334.51		
TRATAMIENTO	19	608.51	32.03	1.12 NS
BLOQUES	3	235.36	78.45	2.74 *
ERROR	122	3490.58	28.61	

\* (P<0.05)

\*\* (P<0.01)

NS (P>0.05)

CUADRO 8.  
 PORCENTAJE DE ANORMALIDADES PRIMARIAS PARA EL SEMEN FRESCO Y  
 DESCONGELADO DE MACHOS CAPRINOS UTILIZANDO DILUENTE TRIS CON YEMA DE  
 HUEVO DE LAS RAZAS LEGHORN Y RHODE ISLAND, CENTRIFUGADO Y SIN  
 CENTRIFUGAR.

MACHOS	SEMEN DESCONGELADO				
	SEMEN FRESCO	YEMA LEGHORN		YEMA RHODE ISLAND	
		CENTRIFUGADO	SIN CEN- TRIFUGAR	CENTRIFUGADO	SIN CEN- TRIFUGAR
1 n=12	0.58±1.16	0.33±0.65	0.58±1.00	0.25±0.45	0.00±0.00
2 n=8	0.50±0.76	0.00±0.00	1.97±3.81	0.25±0.46	0.65±0.92
3 n=6	0.67±1.21	2.33±5.24	0.67±0.82	1.50±2.74	0.83±1.60
4 n=3	0.67±0.58	1.67±2.08	0.33±0.58	1.00±1.73	1.00±1.73

n = Número de espermatozoides.

MACHO 1 y 2 = ALPINOS.

MACHO 3 = NUBIO.

MACHO 4 = MEZCLA HETEROSPERMICA DE ALPINO Y NUBIO.

CUADRO 9

ANALISIS DE VARIANZA PARA ANORMALIDADES PRIMARIAS DEL SEMEN  
 FRESCO Y DESCONGELADO DE MACHOS CAPRINOS UTILIZANDO TRIS CON YEMA  
 DE HUEVO DE RAZA LEGHORN Y RHODE ISLAND, CENTRIFUGADO Y SIN  
 ENTRIFUGAR.

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F.
TOTAL	144	2151.92		
TRATAMIENTOS	19	212.22	11.17	0.74 NS
BLDQUES	3	120.49	40.16	2.70 *
ERROR	122	1819.21	14.91	

\* (P<0.05)

\*\* (P<0.01)

NS (P>0.05)

CUADRO 10.  
 PORCENTAJE DE ANORMALIDADES SECUNDARIAS PARA EL SEMEN FRESCO Y  
 DESCONGELADO DE MACHOS CAPRINOS UTILIZANDO DILUENTE TRIS CON YEMA DE  
 HUEVO DE LAS RAZAS LEGHORN Y RHODE ISLAND, CENTRIFUGADO Y SIN  
 CENTRIFUGAR.

MACHOS	SEMEN FRESCO	SEMEN DESCONGELADO			
		YEMA LEGHORN		YEMA RHODE ISLAND	
		CENTRIFUGADO	SIN CEN- TRIFUGAR	CENTRIFUGADO	SIN CEN- TRIFUGAR
1 n=12	5.92±4.34	5.33±4.72	4.25±4.77	2.50±2.35	2.83±2.52
2 n=8	3.13±4.22	4.00±2.38	2.88±3.31	2.88±1.81	2.50±1.60
3 n=6	3.83±4.54	4.83±2.14	5.00±2.28	5.50±2.81	4.67±3.27
4 n=3	1.67±1.53	2.67±1.53	3.00±2.00	4.33±1.53	4.67±5.03

n = Número de eyaculados.

MACHO 1 y 2 = ALPINOS.

MACHO 3 = NUBIO.

MACHO 4 = MEZCLA HETEROSPERMICA DE ALPINO Y NUBIO.

CUADRO 11

ANALISIS DE VARIANZA PARA ANORMALIDADES SECUNDARIAS DEL SEMEN  
 FRESCO Y DESCONGELADO DE MACHOS CAPRINOS UTILIZANDO DILUENTE TRIS  
 CON YEMA DE HUEVO DE RAZA LEGHORN Y RHODE ISLAND, CERNTRIFUGADO Y  
 SIN CENTRIFUGAR.

FUENTES DE VARIACION	G.L.	S.C.	C.M.	F.
TOTAL	144	3704.82		
TRATAMIENTOS	19	542.07	28.53	1.17 NS
BLOQUES	3	180.57	60.19	2.46 NS
ERROR	122	2982.18	24.44	

\* (P<0.05)

\*\* (P<0.01)

NS (P>0.05)

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Una vez analizados los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir lo siguiente :

- Existió un marcado efecto del macho para la centrifugación y para el tipo de yema de huevo utilizada.
- Se obtuvieron mejores resultados cuando se utilizó diluyente con yema de huevo de la raza Rhode Island que cuando se utilizó de la raza Leghorn.
- Para la mayoría de los machos fueron mejores los resultados cuando no se centrifugó el semen.
- No existió efecto de tratamiento sobre la morfología de los espermatozoides caprinos.

Se sugiere hacer una evaluación de cada macho para saber cual tratamiento se ajusta mejor a sus características seminales.

Sin embargo como primera opción es conveniente utilizar el diluyente yema de huevo Rhode Island sin centrifugar.

## BIBLIOGRAFIA

- Abdelhakean S.M.T., Yassen A.M. and El-Alamy M.A., (1978). Ram sperm motility aged in glucose and TRIS buffered extenders at 5C. Journal Agricultural Research, 26 (20): 301-308.
- Aamdal J., Lyngset O. and Fossum K., (1965). Toxic effect of lysolecithin on sperm. Norway Vet. Med. 17: 633-634.
- Barker C.A.V., (1978). Fifteen-year-old semen produces kids. Dairy Goat Journal, 56: 44-45.
- Borghain A.C., Deka B.C. and Rajkonwar C.K., (1985). Preservation of Buck Semen. Indian vet. J. 62: 81-82.
- Bilaspori G.S. and Guraya S.S., (1981). Comparative lipid composition in the testes of buffalo, goat and ram. Indian J. Anim. Sci. 51 (11): 1038-1044.
- Castro M.P., y Peralta L.M., (1986). Efecto del glicerolado lento y rápido sobre la motilidad progresiva y el daño acrosomal en espermatozoides congelados de carnero y macho caprino. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Corteel J.M., (1975). Efect du "lavage" sur la conservation des spermatozoides de bouc a basse température. I.N.R.A. France. Annales de Biologie animale, 15:525-526.
- Corteel J.M., (1977). Production, storage and insemination of goat semen. En Symposium Management of Reproduction in Sheep and Goats. Wisconsin U.S.A.
- Corteel J.M., (1980). Efect du plasma seminal sur la survie et la fertilité des spermatozoides conservés in vitro. Reprod. Nutr. Develop. 20:1111-1123.
- Corteel J.M., Leboeuf B., Baril G. and Marcellier, N. (1980) In vitro survival and fertilizing of dairy goat sperm collected during the breeding of season. Memorias del Congreso de Reproducción animal. Madrid, España.
- De Lucas T.J., (1981). Inseminación Artificial en Cabras. En Producción de Caprinos AGT Editores. México.: 275-290.
- De Lucas T.J., (1980). Reproducción. En producción de caprinos AGT Editores. México.: 195-197.
- Footo R.H., (1985). Inseminación Artificial. En. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 4a. ed. Editorial Interamericana. México, D.F.

- Fukui Y., (1979). Effects of different diluents, thawing temperatures and materials of thawing containers on survival of ram spermatozoa frozen by the pellet method. Japan J. Animal Reprod. 25: 160-169.
- García E., (1973). Modificaciones al sistema de clasificación climática de Kopen. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Gómez R.D., García C., Gómez R.N.M. y Urestis J.F., (1989). Variabilidad en la producción del factor cuagulado del semen de sementales caprinos y su efecto en la motilidad espermática. Memorias de la V Reunión Nacional Sobre Caprinocultura. Zacatecas.
- Hafez E.S.E., (1985). Introducción a la reproducción animal. En Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 4a ed. Editorial Interamericana. México, D.F.
- Kishore P.J., (1967). Artificial Insemination in goats. Indian J. Vet. 44: 509-511.
- Cortada F.J., (1970). Diccionario Médico. Editorial Labor. Argentina.
- Marck D.N. (1986). Manual de Producción Avícola. Editorial el Manual Moderno. México, D.F.
- Memon M.A. and Ott R.S., (1981). Methods of semen preservation and artificial insemination in sheep and goats. World Review of Animal Production. 17(1): 19-25
- Moreno M.M.V., (1987). Comparación de las características seminales in vitro y la fertilidad del semen caprino utilizando dos diluentes y el lavado seminal. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Moreno V.C., (1984). Inseminación Artificial en el Ganado Caprino. Revisión Bibliográfica. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Patil R.V and Raja., (1978). Effect of season on the semen characteristics of Mlabari bucks. Mannuly J. Vet. 55: 761-766.
- Pérez E.D.A., (1984). Elaboración de un cuadro básico de anomalías espermáticas en ovinos. Tesis de licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Quittet E., (1971). La Cabra. Guía práctica para el ganadero. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

- Snedecor G.W. and Cochran W.G., (1971). Métodos Estadísticos. Editorial C.E.C.S.A. México. 674-677.
- Sorensen A.M.Jr., (1982). Reproducción Animal. principios y prácticas. Editorial McGraw-Hill. México. 137-141.
- Steel R.G.D. and Torrier J.M., (1980). Principles and Procedures of Statistics a Biometral Approach. 2a Edición McGraw-Hill.
- Trejo G.A., (1983). Congelación de semen de carnero en pastillas (pellets). 1. Efecto de la congelación sobre la motilidad progresiva, la morfología espermática y la fertilidad. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México.: 110-113.
- Wells M.E. and Awa D.A., (1970). New technique for assessing acrosomal characteristics of spermatozoa. J. Dairy Sci. 53 (2): 227-232.
- Westhuyzen J.M., (1978). Observations on the deep-freezing of Angora goat semen. Stellenbosch. J. Anim. Sci. 8: 111-113.

## ANEXO

## CONTENIDO DE LOS DILUYENTES UTILIZADOS EN ESTE TRABAJO

* TRIS	TRIS	6.54 g
	Acido citrico	3.66 g
	Fructuosa	2.70 g
	Agua desmineralizada	200 ml

\* Este diluyente a su vez se dividió de la siguiente forma:

Diluyente		A	B
TRIS	80 ml	50 ml	45 ml
Yema Leghorn	20 ml		
Glicerol			5 ml
Penicilina	1000 U l/ml		
Estreptomicina	1 mcg/ml		

2

Diluyente		A	B
TRIS	80 ml	50 ml	45 ml
Yema Rhoda Island	20 ml		
Glicerol			5 ml
Penicilina	1000 U l/ml		
Estreptomicina	1 mcg/ml		