

Nº/08
281



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**DETERMINACION DEL TIEMPO DE LA MOTILIDAD
DEL SEMEN DEL MACHO CABRIO POST
DESCONGELACION E INCUBANDOLO A 36°C,
EN UN PERIODO DE 0 A 8 HRS.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A :
JUSTINO HERNANDEZ GARCIA**

**ASESORES: M.V.Z. ROSA BERTA ANGULO MEJORADA
M.V.Z. ANDRES DUCOING WATTY
M.V.Z. LORENA E. CHAVEZ GUITRON
M.V.Z. JULIO CERVANTES MORALI**



MEXICO, D. F.

1992

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



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.

RESUMEN

Hernández García Justino. Determinación del tiempo óptimo de la motilidad del semen del macho cabrío post-descongelación e incubándolo a 36°C en un período de tiempo de 0-8 hr. (bajo la dirección de la M.V.Z. Rosa Berta Angulo Mejora da, M.V.Z. Andrés Ducoing Watty, M.V.Z. Lorena E. Chávez Güitrón y M.V.Z. Julio Cervantes Morali.)

El objetivo del presente trabajo fue determinar el tiempo óptimo de la motilidad del semen del macho cabrío post-descongelación. El experimento se realizó en el Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional -- de México. Se utilizaron tres sementales, dos de la raza Alpina francesa y -- uno de la raza Toggenburg de los cuales se congelaron 160 pajillas de cada uno. El semen se obtuvo por medio de una vagina artificial, se evaluó y se diluyó - en el diluyente Tris, ácido cítrico, fructuosa, glicerina y yema de huevo. El semen diluido se congeló en pajillas francesas de 0.25ml con 300 millones de - espermatozoides motiles que fueron almacenados en nitrógeno líquido por un mes. La descongelación del semen fue realizada sumergiendo las pajillas en agua -- caliente a 38°C durante 8 segundos, y posteriormente se incubaron a 36°C en un lapso de 0 hr hasta completar un total de 8 hr. Se evaluó el movimiento pro-- gresivo (motilidad) al microscopio y el porcentaje de vivos y muertos. El -- análisis estadístico se realizó por medio de pruebas de homogeneidad y análisis de varianza factorial con dos factores, donde uno es el animal y el segun-- do el tiempo de incubación. No existen diferencias significativas entre los sementales, tanto en la motilidad como en el porcentaje de vivos y muertos -

con (P 0.05). Existiendo diferencia significativa en cuanto al tiempo de incubación (P 0.05). Por lo que se demostró que mientras los sementales permanezcan bajo las mismas condiciones de alimentación, climatológicas y de manejo, no existirán alteraciones en la calidad del semen.

INTRODUCCION

En esta última década hemos visto como el hombre se ha esforzado por producir más, en un menor tiempo y costo. Dada la situación se han ido especializando técnicas de producción en las diferentes especies, con el objeto de producir un mayor número de animales. Para poder proporcionar a la población una mejor alimentación y un acceso a la carne en un menor costo.

Las estadísticas referidas por la SARH de 1972-1985, indican que la disponibilidad per cápita de carne de caprino en canal (kg/hab.) ha disminuido de 0.513 kg. en 1972 a 0.450 kg en 1985 (14). A la fecha sigue existiendo una disminución del consumo de carne de caprino, ya que el último informe pecuario de la SARH de 1991 muestran que el consumo per cápita es de 0.436 Kg/hab. (15)

Es indudable que la imperiosa necesidad de producir proteína de origen animal haya sido la causa de la búsqueda de alternativas que hagan eficiente la producción. Dentro de las que la inseminación artificial (I.A.) tuviera una gran importancia. Esta ha sido utilizada con semen fresco y congelado, presentando en el primer caso ciertas limitantes, como utilizar un macho el cual se encuentra en lugares lejanos a las hembras, siendo necesario desplazarlo a grandes distancias o viceversa, limitando el número de cabras que se inseminarían. Ya que el estrés que se produce con el transporte disminuye el porcentaje de fertilidad. (1)

Sin embargo el uso de la I.A. con semen congelado ha brindado un sinnúmero de beneficios tales como: a) mejorar sus características tanto productivas, --

b) el uso de animales genéticamente superiores, c) realizar pruebas del pro-
genie en los sementales, d) la utilización de sementales de buena calidad sin
tener que transportarlos, e) la eliminación o reducción en el número de semen-
tales durante el celo, f) disminución de la transmisión de enfermedades, g) -
el empadre de un gran número de animales en el mismo día cuando se aplican mé-
todos de sincronización y h) aumento en la producción de leche entre otros.
(2), (9), (10), (12).

No existe mucha literatura disponible sobre las características del semen --
del macho cabrío congelado. hay factores que pueden afectar la viabilidad de
éste, como la formación de hielo intracelular, tanto en la congelación como en
la descongelación. Los espermatozoides pueden sufrir la pérdida de la integri-
dad de las membranas celulares, inactivación de un 20% de las enzimas acrosoma-
les y pérdida de fosfolípidos. (1)

Existe además una hipótesis que menciona que el semen del macho cabrío no re--
siste muchas diluciones, lo que muestra mucha diferencia en los rangos de so-
brevivencia, después del descongelamiento, pero tratando de reducir las dosis
de inseminación para aumentar la motilidad del espermatozoide se utilizan do--
sis de 0.2ml con una buena fertilidad. (3)

Asimismo se sugiere que al preparar el semen en el diluyente para su posterior
congelación, hay que remover el plasma seminal, ya que ha sido identificado -
como un poderoso factor limitante en la congelación del semen del macho cabrío
(3). Esto lo muestra también una tesis realizada en Alemania por Tierarztli--
che Hochschule H; en la que utilizó un detergente llamado Orvus es Paste (OEP)

con el objeto de lavar el esperma (17), ya que de esta manera se mantiene la acción de las lipoproteínas y lecitinas que protegen al esperma del shock térmico (4), (8); De otra manera las lecitinas de la yema de huevo son hidrolizadas a lisolectinas y ácidos grasos los cuales son tóxicos para el espermatozoide, esta hidrólisis es provocada por una enzima llamada fosfolipasa A, --- producida en las glándulas bulbouretrales (17). Este trabajo mostró resultados significativamente altos en la motilidad espermática cuando el detergente estaba presente (17). Con ésto se logra obtener un aumento en la vida del espermatozoide cuando se almacena en termos de nitrógeno líquido (11).

Se han probado diversos diluyentes con el objeto de conservar las características de los espermatozoides el mayor tiempo posible, por lo que éstos deben de reunir ciertas características: a) proporcionar nutrientes como fuente de energía, b) mantener la presión osmótica y un equilibrio electrolítico adecuado, c) proporcionar un medio amortiguador para prevenir cambios dañinos de Ph tal como la formación de ácido láctico d) proteger contra los efectos detrimentales del enfriamiento rápido, e) inhibir el crecimiento bacteriano, f) aumentar el volumen del semen de tal manera que pueda emplearse para inseminaciones múltiples y g) proteger las células espermáticas durante el congelamiento (8), (9).

Para la elaboración de un diluyente, se añade por lo general un carbohidrato simple, como la glucosa, como fuente de energía para los espermatozoides; es necesario protegerlos contra el choque térmico para lo cual se ha utilizado tanto la yema de huevo como la leche, además de que estos compuestos contienen nutrientes (9).

Los diluyentes que tienen como base la yema de huevo han demostrado ser los más eficaces (8). Por lo general se adiciona glicerol para proteger a los espermatozoides contra los efectos letales del congelamiento (9). Estudios han demostrado que una concentración del 5% de glicerol en el diluyente es la óptima para la protección del espermatozoide (1). En otros estudios se comprobó que el diluyente que contenía glicerol-tris-yema de huevo fue considerado el mejor para el congelamiento, utilizando un 7% de glicerol con óptimos resultados, un mayor porcentaje en la motilidad de los espermatozoides y un menor daño acrosomal antes y después del congelamiento (4), (6).

En un trabajo realizado por M.A. Memon y colaboradores en el que se aplicó como diluyente Tris - yema de huevo - glicerol, la motilidad espermática fue observada en períodos de dos horas, hasta completar un total de ocho horas. El promedio de motilidad espermática inmediatamente después del descongelamiento fué de 53.6 ± 5.1 . No hubo variación espermática en lo que respecta a la motilidad entre el descongelamiento inmediato y las ocho horas de observación (13). Estudios realizados por Deka, B.B. Y Rao, A.R. mencionan la evaluación de cuatro diluyentes, y el que contenía Tris - ácido cítrico - yema de huevo - glicerol y fructuosa, resultó ser el óptimo para semen de caprino ya que la motilidad espermática fue significativamente alta si se realizaba un descongelamiento rápido, sin que esto llegara a ocasionar un daño acrosomal (5), (7).

HIPOTESIS

El semen del macho cabrío presenta una menor motilidad recién descongelado, - que incubándolo a 36°C durante el período de tiempo hasta 8 hr. y realizando - observaciones de su motilidad cada hora.

OBJETIVO

Determinar el efecto del período de incubación post-descongelación sobre la motilidad del semen del macho cabrío.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó en el CEPIER Centro de Enseñanza Práctica, Investigación y Extensión en Rumiantes, localizado en el Km 28.9 de la carretera federal México - Cuernavaca; El centro se encuentra ubicado a 19 latitud Norte y 99 longitud Oeste a una altura de 2760 msnm, con una precipitación pluvial de 800 a 1200 mm anuales y una temperatura promedio de 19°C (1). Se utilizaron tres machos cabríos, dos de la raza Alpina francesa y uno de la raza Toggenburg, cuyos eyaculados se obtuvieron por medio de una vagina artificial (1).

La evaluación de los eyaculados se realizó tomando en cuenta las siguientes características: a) volumen, b) motilidad, c) concentración y d) determinación de anomalías morfológicas (1), (12).

Una vez evaluado será diluido en una proporción de 1:9 utilizando el diluyente Tris (tris (tris [hidroximetil amino metano 36.05 g], ácido cítrico 20.24 g, - fructuosa 14.88 g, agua bidestilada 1000 ml; y adicionando un 20% de yema de - huevo y un 5% de glicerol) (1). Posteriormente los eyaculados fueron centrifugados a 200 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante fue decantado, dejando - el paquete de los espermatozoides y fue aforado al volumen final para envasar con 300 millones de espermatozoides móviles, en pajillas francesas de 0.25 ml. cada una. Según técnica (1).

Las pajillas fueron sumergidas en un recipiente de poliuretano con agua a 22°C y se introdujeron al congelador 0°C durante dos horas, tiempo en que paulatinamente el semen alcanza una temperatura a 5°C sin sufrir choque térmico (1).

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Transcurrido este período de equilibrio, las pajillas se expusieron a vapores de nitrógeno a una distancia de 8.0 cm sobre el nitrógeno, durante 10 minutos obteniendo una temperatura de -80°C aproximadamente (1), (18). ya congeladas las pajillas se introdujeron al nitrógeno líquido del termo (-196°C) y se almacenaron por un mes.

Las pajillas se descongelaron en baño María a 38°C durante 8 segundos. Posteriormente éstas se incubaron en agua a 36°C observando el movimiento progresivo y porcentaje de vivos y muertos de 20 pajillas por cada semental desde la hora 0 de incubación hasta que se completaron un total de 8 hrs. de observación.

El análisis estadístico para la evaluación del movimiento progresivo y porcentaje de vivos y muertos es el de: Pruebas de homogeneidad y análisis de variancia factorial con dos factores donde una es el animal y el segundo el tiempo de incubación (21).

RESULTADOS

Para el porcentaje de vivos como para el porcentaje de motilidad no existió ninguna diferencia significativa ($P < 0.05$); En las tres primeras horas de incubación de la hora 0-3, donde se observaron porcentajes adecuados para la I.A.; siendo el comportamiento de los sementales muy homogéneo. Gráfica I y II.

En la gráfica III se observa que la motilidad del semen en las tres primeras horas fue de (54.50, 54.58, 49.94) para el semental 1, de (54.26, 55.47, 53.59) para el semental 2, y (54.44, 55.32, 53.53) para el semental 3, no encontrándose diferencia significativa entre los tres sementales ($P < 0.05$) -- observando que la motilidad que presentan durante este tiempo es aceptable para la I.A. Existiendo una diferencia significativa para el tiempo de incubación ($P < 0.05$), ya que a partir de la cuarta hora se muestra una disminución en la motilidad siendo ésta inadecuada para la I.A.

En la gráfica IV se observa que la motilidad mínima es decir a qué hora los espermatozoides tienen la menor motilidad aceptable para la I.A. donde el semental 1 el 30% de las pajillas observadas en la primera hora son aptas para la I.A., el 42.9% para la segunda hora y el 36.8% para la tercer hora.

En el semental 2 fue del 36.7% para la primera hora, el 14.3% para la segunda hora y el 36.8% para la tercer hora; Y para el tercer semental el 33.3% para la primera hora, el 42.9% para la segunda hora y el 26.3% para la tercer hora, no existiendo una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los sementales; -- aunque existe una variación en el semental 2 a la segunda hora pero la diferencia

cia no es significativa.

En la gráfica V se observa la motilidad máxima, es el tiempo en que los espermatozoides alcanzaron el mayor movimiento progresivo sin importar el tiempo de incubación. En el seminal 1 se obtuvo que el 40.7% de las pajillas muestreadas a la primera hora obtuvieron su máxima motilidad, el 25% a la segunda hora, y el 33.3% a la tercer hora; para el segundo seminal el 29.6% para la primera hora, el 41.7% para la segunda hora, y el 22.2% para la tercer hora y para el tercer seminal el 29.6% para la primera hora, el 33.3% para la segunda hora y el 44.4% para la tercer hora, no existiendo diferencia significativa para (P 0.05) entre los seminales.

DISCUSION

Como se menciona en los resultados no se encontró diferencia estadísticamente significativa tanto para la motilidad, como para el porcentaje de vivos y muertos. lo que indica que los sementales durante el experimento se comportaron de manera homogénea, es decir, que ningún estímulo del medio ambiente, del animal o de la técnica de congelación provocaron alguna alteración en el semen. Como se observa en la gráfica I y II la motilidad aceptable para la I.A. es hasta la tercer hora (14), posteriormente esta decae de manera considerable, la cual no es apta para la I.A.

Sin embargo algunos investigadores han encontrado que la motilidad de los espermatozoides, no presenta diferencia significativa desde la primera hora de incubación, hasta la octava manteniéndolos a una temperatura constante de 36°C. (13, 3). Existe un trabajo realizado por Tuli, R.K. et al que menciona que los espermatozoides permanecieron con un porcentaje de fertilidad adecuado (14), hasta la cuarta hora de incubación (19).

Existen otros reportes donde se obtienen resultados superiores en cuanto a motilidad con la descongelación rápida, siendo el tiempo de congelación menor. Sin embargo tiene la desventaja de que si existen pequeñas variaciones en el tiempo de descongelación estas pueden provocar daños irreversibles en la sobrevivencia de los espermatozoides (20).

Por tal motivo en este trabajo se evaluó el tiempo óptimo de motilidad de los espermatozoides a 36°C ya que a esta temperatura no se necesitan tiempos de -

descongelación muy precisos, existiendo menos probabilidades de causar daño a los espermatozoides. Por lo anterior se obtuvo la motilidad mínima y máxima - apta para la I.A., no existiendo diferencia significativa para los sementales en las tres primeras horas de incubación, permitiendo un período de tiempo muy amplio para realizar la I.A. En cuanto a la motilidad se menciona anteriormente que existió una diferencia significativa ($P < 0.05$) en cuanto a los tiempos - de incubación.

Por razones de manejo en la I.A. se recomienda que los espermatozoides sean - incubados durante la primera hora, ya que no existió diferencia significativa tanto en la motilidad mínima como en la máxima.

En este trabajo hacemos mención, que en el caso de que por alguna razón la I.A. no se pudiera realizar en la primera hora de incubación, se puede estar seguro de que no va a existir alguna diferencia de la primera a la tercer hora de incubación en el que hay un movimiento adecuado para la I.A.

Por lo anterior se concluye que al no haber diferencia significativa entre las tres primeras horas de incubación, es posible inseminar en el tiempo antes mencionado, tomando en cuenta que es más recomendable la inseminación a la primera hora por agilizar el trabajo, además de que se recomienda la descongelación a 36°C por la facilidad que presenta tanto el obtener la temperatura como de - mantenerla sobre todo a nivel de campo, además de evitar el riesgo de que existan errores en el tiempo de descongelación cuando se utilizan altas temperaturas, que provoquen un descongelamiento insuficiente causando un daño irreversible en los espermatozoides.

LITERATURA CITADA

1. Angulo, M.R.B.: Determinación de la temperatura y tiempo óptimo para la -
descongelación del semen de ovino.- Tesis de Lic. Fac. de Med. Vet. y Zoot. -
Universidad Nacional de México. México, D.F. 1988.
2. Brawn, W.F. D.V.M.: Artificial insemination of goat Dairy Goat Journal -
59: 1, (1981)
3. Colas, G. and Courot, M.: Storage of ram semen. In.: Sheep Breeding. Ed.: G.L. Tones, D.E. Robertson y R.J. Lightfoot Buttaworths. Second edition. -
(1979).
4. Corteel J.M.: Production Storage and insemination of goat semen. I.N.R.-
A.: A.J. 57-380: 41-55 (1985).
5. Chauhan, M.S., Anand, S.R.: Effects of egg and yolk lipids on the freezings
of goat semen. National Dairy Research Institute 5: 1003-1015 (1990).
6. Deka, B.C., Rao, A.R.: Effect of extenders on sperm motility and acrossomal
integrity of frozen buck semen. Indian Vet.J.5: 414-417 (1985).
7. Deka, B.C., Rao, A.R.: Effect of glycerol level in Tris based extenders -
and equilibration period on quality of frozen goat semen. College Vet. Sci. 2:
231-238 (1986).

8. Deka, B.C., Rao, A.R.: Effect of extenders and thawing methods on past - thawing preservation of goat semen. Indian Vet. J. 7: 591-594 (1987).
9. De lucas, Tron, J.: Inseminación artificial en cabras. En: Producción - de caprinos. Editado por: Santos, I., Aguirre, A., 275-289 Ed. A.G.T. S.A., México, D.F. (1981).
10. Foote R.H.: Inseminación artificial. En: Veterinary endocrinology and - reproduction por Mcdonal L.E., 336-356. Ed. Interamericana, México, D.F. - (1980).
11. Grash, M., Nazander, M.K. and Garwami K.K.: Studies of fertility rate -- under artificial insemination in pashminia goats. Indian Vet. J. 60: 371-373 (1983).
12. Hendrick, K.: Artificial Insemination of Dairy goats. Edited by: Hunter, S. University of California ot Davis. (1982).
13. López, G.A.P. y Valencia, M.: Técnica descriptiva de la colección, evalua - ción y congelación del carnero, pelibuey. En memorias de VIII Congreso Nacio - nal de Buiatria, México, (1990).
14. Memon, M.A., Bretzlaff K.N. and Ott R.S.: Freezability of washed and -- unwashed goat semen in different extenders. Dairy Goat J. 61: 1021 (1983).
15. S.A.R.H. Serie Histórica Estadística de la Producción Pecuaria 1971-1985.

16. S.A.R.H. Anuario de Producción Caprina en la República Mexicana. 1991. -

17. Serensen, A.M. Jr.: Principios y Prácticas. En: Producción Animal. --
Editado por: Serensen, A.M. Jr. 339-342 McGraw Gill, México, (1982).

18. Strophmeyer, M.: Freezing of goat semen with regard to season, centrifuga-
tion and use of detergent. Thesis, Hochschule Hannover, German Federal Repu-
blic, 1988.

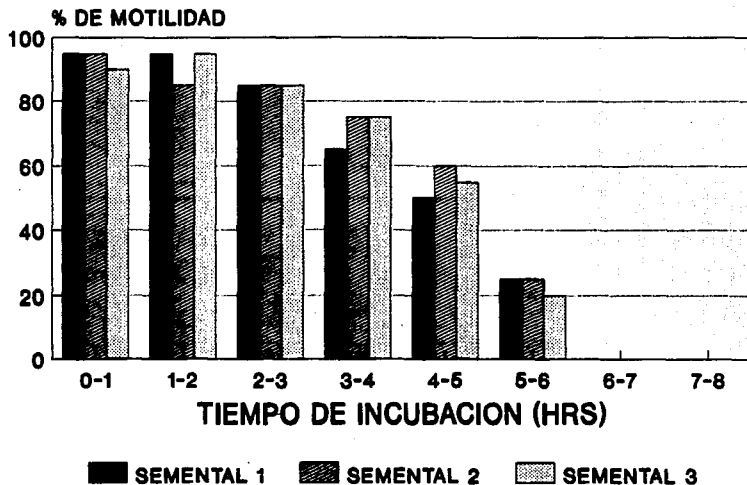
19. Tuli, R.K.: Schmidt-Baulain, R.: Holtz, W.: Animal Reproduction Science
25: 125-131 (1991).

20. Vincent. A.: Aportaciones sobre recogida y congelación de esperma capri-
no de la raza murciana granadina. Indian Vet. J. 39: 71-84 (1985.)

21. Wayne W. Daniel.: Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias
de salud. Ed. Limusa, México, D.F. (1984).

GRAFICA I

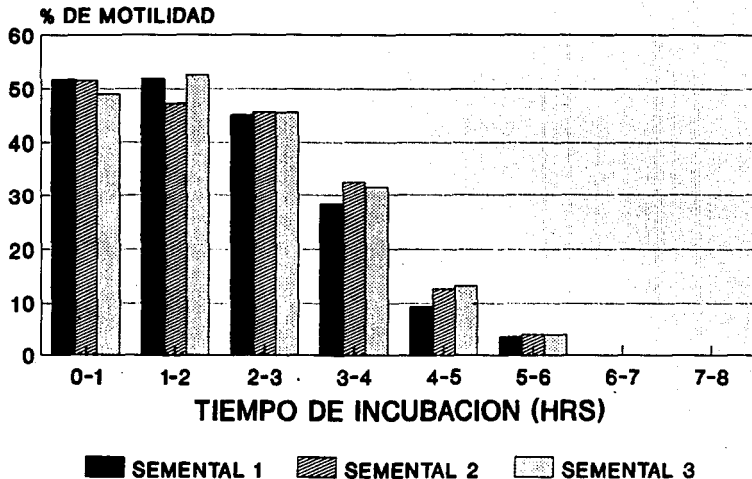
PORCENTAJES DE VIVOS



COMPARACION DE TRES SEMANTALES

GRAFICA II

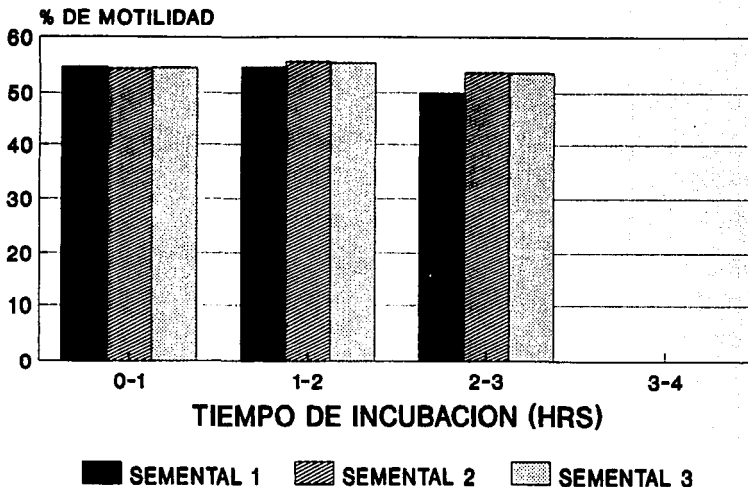
PORCENTAJE DE MOTILIDAD



COMPARACION ENTRE TRES SEMENTALES

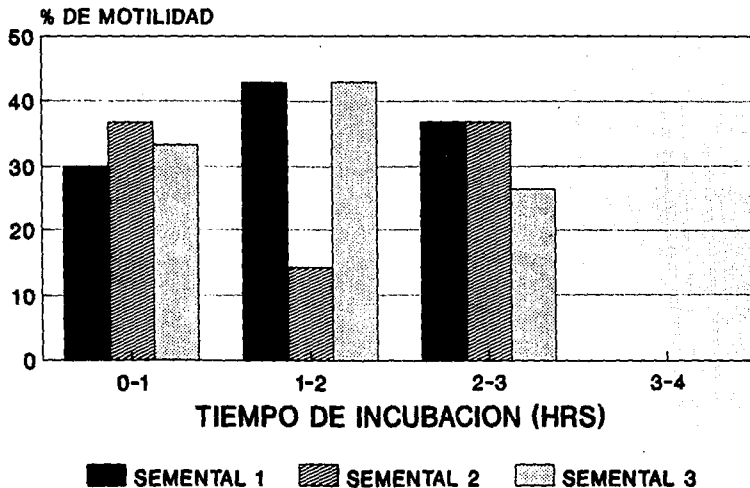
GRAFICA III

MOTILIDAD ACEPTABLE PARA LA I.A.



GRAFICA IV

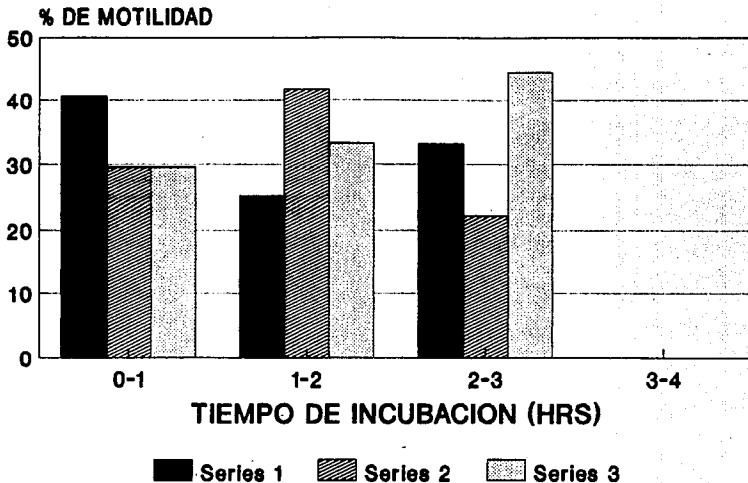
MOTILIDAD MINIMA PARA LA I.A.



COMPARACION ENTRE TRES SEMENTALES

GRAFICA V

MOTILIDAD MAXIMA PARA LA I.A.



COMPARACION ENTRE TRES SEMENTALES