

23

2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN

CATEDRA DE REPRODUCCION Y GENETICA EN  
OVINOS Y CAPRINOS. (EFECTO DEL NIVEL DE  
GLICEROL SOBRE LAS CARACTERISTICAS  
ESPERMATICAS EN SEMEN CONGELADO  
DE CARNERO)

SERVICIO SOCIAL  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA  
P R E S E N T A :  
SUSANA CRUZ JIMENEZ

ASESOR: MVZ. MC. ARTURO ANGEL TREJO GONZALEZ.

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1998.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

265527



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 esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLAN  
ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
P R E S E N T E

AT'N: Q. Ma. del Carmen García Mijares  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de:

el informe de Servicio Social: " Cátedra de Reproducción  
y Genética en Ovinos y Caprinos. Efecto del nivel de  
glicerol sobre las características espermáticas en semen  
congelado de carnero "  
que presenta la pasante: Susana Cruz Jiménez  
con número de cuenta: 8700404-1 para obtener el TITULO de:  
Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO

A T E N T A M E N T E.

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 1 de Junio de 199 8

PRESIDENTE M. en C. Fernando Osaya Gallardo  
VOCAL M. en C. José de Lucas Irón  
SECRETARIO M. en C. Arturo Irejo González  
PRIMER SUPLENTE MVZ. C. Humberto Flores Vázquez  
SEGUNDO SUPLENTE M. en C. Rosalba Soto González

Dedico este trabajo :

A mis señores padres Eladio y Lucy por su amor , cariño, paciencia y por sus grandes consejos . Por estar siempre cerca, cuando mas los necesito aliviando tristezas, derrotas y ante todo compartiendo alegrías, triunfos e ilusiones.

A mis hermanos Petrita, Lalo, Victor y Liz por su amor, comprensión y motivación durante estos años de convivencia y de estudios.

A mis hermanos Ricardo y Luisa por su amistad y cariño.

En especial dedico este trabajo a mis sobrinos José Ignacio y Enrique por ser unos seres maravillosos y encantadores.

Le agradezco el Dr. Arturo Trejo por su tiempo y paciencia para realizar esta investigación.

A los buenos amigos que me he encontrado en la vida por sus consejos, enseñanzas y confianza.

A ti Dona por tu compañía.

## INDICE.

RESUMEN.....	i
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	18
CUADRO METODOLOGICO.....	19
DESCRIPCION DE ACTIVIDADES.....	20
RESULTADOS.....	23
DISCUSION, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	26
LITERATURA CITADA.....	28
ANEXO 1.....	31

## RESUMEN

Con el fin de determinar el mejor porcentaje de glicerol (4%,6%,8%) adicionado al diluyente utilizado para la congelación de semen de carnero, se evaluó la motilidad progresiva ante y post congelación y la integridad acrosomal en las células recuperadas después de descongelado el semen.

Se recolectaron 21 muestras de semen de carnero adulto, por medio de vagina artificial. El semen fue diluido en Tris glucosa-yema de huevo. Se trabajó cada muestra por duplicado.

El frotis de cada muestra se sometió a una tinción a base de Giemsa, durante 48 horas, para proceder después a su observación y evaluación en el microscopio de contraste de fases.

Dicha evaluación consistió en observar y contar 100 células espermáticas, determinando de éstas, las que tenían el acrosoma normal, hinchado, roto y ausente.

Los datos obtenidos se evaluaron por medio de un análisis de varianza; utilizando como covariables, los valores de semen congelado y fresco, para cada característica (Motilidad Progresiva, Motilidad Progresiva Recuperada e integridad acrosomal del semen congelado).

Observando los resultados se vio una mejor conservación de los espermatozoides con glicerol al 8%.

## INTRODUCCION.

El ovino ha probado ser un animal muy conveniente y con distintas adaptaciones para satisfacer gran variedad de necesidades, las cuales se mantienen a través del tiempo hasta nuestros días. Desde el comienzo de la historia, los ovinos han provisto al hombre de carne, leche y lana para vestidos (Cordero y Sandoval, 1991; Luna, 1994; Lucas de y Arbiza, 1997).

Comparativamente con otras especies animales, no ha sido explotada en algunos países como es debido, por ser considerada aún en nuestros días como una ganadería de apoyo, subsistencia o autoconsumo (Luna, 1994).

La investigación documental y un estudio de compra internacional realizado en nuestro país, permite afirmar que en materia de ganadería ovina, la producción nacional actual de carne y lana, no satisfacen la gran demanda existente (Pérez, 1979; De Lucas, 1988; Luna, 1994; León, 1994).

La ovinocultura nacional no cumple con las funciones que corresponden al sector ganadero, las cuales influyen en el proceso de Desarrollo Nacional y que en general son las siguientes:

- 1.- Producir alimento y materias primas en cantidad y calidad adecuadas, a precios bajos.
- 2.- Proporcionar un nivel de ingresos decorosos a la población rural, que le permita mejorar su nivel de vida y generar ahorro para invertir en actividades intra y extrasectoriales.
- 3.- Obtener divisas con las que se pueda autofinanciar la actividad y ayudar indirectamente a la industria (León, 1994; Luna, 1994; De Lucas, 1988; Salas, 1988).



Esto se debe a varios factores, entre los que se encuentran en primer lugar:

- 1.- La ausencia de regularización productiva del territorio nacional.
- 2.- El que se le considere como una actividad poco rentable.
- 3.- La ubicación actual de este ganado en cuanto al tipo de tenencia de la tierra de sus propietarios.
- 4.- La baja productividad de los rebaños, dada en parte por la mala calidad del ganado y los tradicionales sistemas de explotación.
- 5.- La falta de asistencia técnica y de financiamiento que aún cuando ha sido fomentado por la Administración Pública Agropecuaria a través de Centros de Fomento, Instituto Nacional Ovino y Lanas y Fideicomisos para la Producción, Industrialización y Comercialización de la Lana.
- 6.- La carencia de planeación en el desarrollo ovino nacional.
- 7.- Los canales de mercadeo de los productos ovinos, que son obsoletos o que limitan los ingresos al productor, beneficiando a los intermediarios.
- 8.- En cuanto a la industrialización y comercio exterior, sabemos que la oferta nacional de productos ovinos no satisface la demanda interna, recurriéndose sistemáticamente a las importaciones (Pérez, 1979; Salas, 1988; Luna, 1994).

En éste marco, es frecuente encontrar rebaños en pésimas condiciones productivas, en los que los aspectos nutricionales y sanitarios se presentan como los factores limitantes de mayor jerarquía (Pérez, 1979; León, 1994).

Por otra parte, aproximadamente el 70% del territorio nacio-

nal, es potencialmente aprovechable para la cría de ovejas (León, 1994).

El último censo (INEGI, 1994) reporta que la población ovina en nuestro país es de 3,887,000 cabezas, de las cuales sólo se considera que el 5% son de raza pura, utilizándose principalmente las siguientes: Ramboulliet, Hampshire, Suffolk y Corriedale; mientras que el 95% restante son los ovinos denominados criollos (León, 1994)

México produce anualmente un aproximado de 15 mil toneladas de carne en canal, a pesar de lo anterior de 1989 a 1993 el país importó anualmente un aproximado de 15,000 toneladas de carne en canal con un costo de 634.86 millones de dolares (INEGI, 1995), asimismo se importa ganado en pie y germoplasma (semen y embriones). Los programas de inseminación artificial han sido la base para aumentar la producción pecuaria, ya que permite una mayor utilización de sementales sobresalientes, cuando se logra la preservación de espermatozoides a través de la congelación (Graham, 1978).

En el país existen 4 zonas de producción ovina:

- 1.- Las zonas áridas y semiáridas del norte y centro. Estas poseen el 39% de los ovinos, dominando el tipo definido Ramboulliet o sus cruzas.
- 2.- La zona templada central del país, que constituye solamente el 12% del área nacional, pero posee el 42% del total del ganado ovino. Con dominancia de la raza Suffolk.
- 3.- La zona tropical (húmeda y seca). Comprende casi el 25% del territorio nacional. Extendiéndose la raza Pelibuey.
- 4.- La zona de la montaña, que comprende el resto del país (León,

1994).

Así, hay por lo menos dos alternativas para impulsar la producción ovina. La primera es incrementar la productividad de las granjas actualmente existentes, mediante la introducción de la tecnología adecuada al medio. En segundo lugar, promover la expansión de la cría de ovinos en zonas actuales de producción (León, 1994).

Dentro de las técnicas disponibles se encuentra la Inseminación Artificial, que tiene ventajas para el mejoramiento genético. Consiste en depositar el esperma, por vía instrumental y en el momento más oportuno, en la zona más idónea de las vías genitales femeninas (Derivaux, 1982; Buxade, 1984; Hafez, 1987; Valencia, 1987; Arthur y Noaker, 1991).

La técnica de la Inseminación Artificial en la actualidad tiene 4 puntos fundamentales que merecen ser analizados:

- a) Obtención de esperma.
- b) Evaluación del semen.
- c) Conservación del mismo.
- d) Aplicación del semen a la hembra reproductora (Buxade, 1984; Hafez, 1987).

Con la Inseminación Artificial de los animales domésticos con fines de crianza, se dispone de un instrumento eficaz y versátil para la realización de proyectos de mejoramiento de las existencias de animales domésticos. El ámbito de su aplicación zootécnica se extiende sobre todo a los siguientes criterios:

- 1) Incremento de la disponibilidad de sementales valiosos.
- 2) La Inseminación Artificial es la técnica más importante creada para el mejoramiento genético de los animales. Mediante de la

utilización de la Inseminación Artificial con semen congelado, en los ovinos sería posible acelerar dicho mejoramiento.

- 3) Mejor utilización del semental.
- 4) Realización de apareamientos individuales programados.
- 5) Prevención de enfermedades.
- 6) Disponibilidad de registros de apareamientos exactos, necesarios para un buen manejo del hato.
- 7) Facilita la implementación de programas de sincronización y cruzamiento.
- 8) Ventajas económicas (Smidt y Ellendorf, 1972; Graham, 1980; Valencia, 1981; Acuña y Valencia, 1982; Derivaux, 1982; Sorensen, 1982; Orizaga et al., 1982; Armstrong y Evans, 1984; Foote, 1984; Trejo et al., 1984; Valencia, 1986; Valencia, 1987 Hafez, 1987; Arthur y Noaker 1991).

Las desventajas son:

- 1) El alto costo de instalaciones y material para la Inseminación Artificial.
- 2) El necesario entrenamiento del inseminador.
- 3) Los sementales deben ser entrenados para la recolección del semen.
- 4) Se obtienen bajos porcentajes de preñez en especial con semen congelado.
- 5) La utilización de un número reducido de machos de forma extensiva y continuada puede dar la oportunidad de una amplia distribución de genes nocivos y su concentración en ciertas explotaciones (Graham, 1980; Sorensen, 1982; Foote, 1984; Greyling et al., 1988; Arthur y Noaker, 1991).

Los rusos fueron los primeros en darse cuenta de la impor-

tancia que podía representar la Inseminación Artificial. Formaron sus primeras técnicas y la pusieron en práctica en 1914, de tal forma que en 1938, miles de cabezas de ganado vacuno y equino y millones de ganado ovino se habían reproducido de ésta forma (Derivaux, 1982; Arthur y Noaker, 1991).

En la oveja, el desarrollo de métodos efectivos para la sincronización del celo y la ovulación, junto con el incremento en la intensificación de su explotación, puede incrementar la demanda del servicio de Inseminación Artificial, hasta ahora muy limitada en la mayoría de los países (Valencia, 1981; Foote, 1984; Arthur y Noaker, 1991).

Actualmente los ovinos poseen ciertas características que los hacen ser una especie con un futuro favorable en nuestro país, su gran adaptabilidad al medio ambiente, el ser rumiante, su tamaño pequeño hace que requiera un espacio reducido, además de su docilidad y fácil manejo, todo esto les permite aprovechar las zonas geográficas cuyas características climáticas y topográficas no permiten la introducción de otras especies (Martínez et al., 1980; Luna, 1994; León, 1994).

Sin embargo, pese a éstas dificultades se han intentado con algún éxito programas de Inseminación Artificial a rebaños comerciales en México. Aguirre en 1978, inseminó ovejas de la zona del Ajusco, utilizando semen fresco. Cruz et al., en 1988, publican resultados de un programa en San Luis Potosí, utilizando semen fresco diluido, donde se obtuvo una fertilidad del 69%. Cuadra et al., (1990), inseminaron borregas encastadas de Suffolk utilizando semen fresco con una fertilidad promedio del 80%, pero no existen datos acerca de inseminación en rebaños con semen conge-

lado.

Entre las posibles causas de los pobres resultados obtenidos con semen congelado, se señala el daño acrosomal por dilución y congelación del semen ocasionados por falta de protección de diluyentes ordinarios a la célula espermática, durante la congelación, así mismo, al segmento del cervix de la borrega en donde es depositado el semen (Armstrog y Evans, 1984; Rival et al., 1984; Hafez, 1987).

Bajo el concepto de conservación de células germinales se entiende, en el más amplio sentido, toda medida encaminada a la conservación de la capacidad de fecundación de las células germinales, así como a la capacidad de vida y potencia de desarrollo del cigoto. Dentro de éste concepto se comprenden tanto la inactividad reversible de las células germinales masculinas o femeninas y embriones (Smidt y Ellendorf, 1972; De Alba, 1985).

El fundamento básico de la inactividad es el de la anabiosis, en la que se suprime o mantienen separadas sustancias y condiciones necesarias para el proceso generativo, sin provocar perjuicios en las estructuras de las unidades conservadas. La conservación es de gran importancia práctica, pues gracias a ella se posibilita el mayor aprovechamiento y la conservación de las disposiciones genéticas (Smidt y Ellendorf, 1972).

El mayor aprovechamiento de las células germinales masculinas se consigue por dilución del eyaculado. Los medios empleados para reducir la concentración de espermatozoides deben cumplir ciertas condiciones, pues de lo contrario pueden producirse alteraciones irreversibles de los espermatozoides (Smidt y Ellendorf, 1972; De Alba, 1985).

Las situaciones hipertónicas o hipotónicas del medio dan lugar a una pérdida transitoria o duradera de la motilidad, siendo mejor toleradas las soluciones hipertónicas que las hipotónicas. Como medios que cumplan los requisitos en concentración de hidrogeniones y sean correctos desde el punto de vista osmótico, se han elegido, sobre todo, los amortiguadores de fosfatos y las soluciones de electrólitos que junto con los iones  $\text{Na}(+)$  y  $\text{Mg}(++)$ , contienen también iones sulfato (Smidt y Ellendorf, 1972).

La importancia de estos medios estriba en su utilización para la conservación de células germinales, particularmente en combinación con el mantenimiento de los espermatozoides a temperaturas bajas. Además de los criterios ya citados: estabilidad, incluso después de largos períodos de conservación, existencia de substratos que neutralicen los productos metabólicos perjudiciales de los espermatozoides, contenido eventual en sustancias nutritivas y, finalmente, su disponibilidad y economía (Smidt y Ellendorf, 1972; Sorensen, 1982).

Muchas células tienen alta recuperación sólo si un crioprotector está presente en el medio que las suspende durante el enfriamiento. Estos compuestos se han clasificado en:

- a) Penetrantes como el Glicerol y el Dimetilsulfóxido.
- b) No penetrantes como PVP y HES.

La protección de estos compuestos se basa en la restricción de la congelación intracelular y reducción al mínimo del daño celular debido a los solutos concentrados en el medio durante el enfriamiento. Esto se debe a la acción coligativa de los compues-

tos, tanto penetrantes como no penetrantes, reduciendo la cantidad de agua intracelular. Esto se lleva a cabo en forma diferente por estos compuestos. Los agentes penetrantes crean el ambiente adecuado para la reducción del contenido de agua de la célula a temperaturas suficientemente bajas para reducir el efecto nocivo de los solutos concentrados en la célula (Bustamante, 1981).

Entre los componentes de los diluentes, destacan los criopreservadores, dentro de éstos, la yema de huevo se ha manifestado particularmente adecuada debido a su valor de descenso crioscópico, similar al del semen y a su función protectora frente al choque por frío. Esta protección se basa en una fracción lecitínica u otros fosfolípidos, ayudada por el valor de pH, la capacidad amortiguadora y el contenido en electrólitos. La yema de huevo con diluyente de fosfatos se caracteriza por buenas propiedades conservadoras y elevada capacidad amortiguadora, pero tiene la desventaja de una escasa transparencia, que puede ser inconveniente a la hora del enjuiciamiento microscópico de los espermatozoides conservados (Smidt y Ellendorf, 1972; Bustamante, 1981; De Alba, 1985).

La porción nutriente, la más común, yema de huevo. Esta se separa cuidadosamente de los demás componentes del huevo, ya que éstos son dañinos para los espermatozoides (Sorensen, 1982). La investigación realizada por Delgado y Trejo (1996), nos menciona que el porcentaje de yema afectó a la motilidad progresiva y a la recuperación de motilidad posdescongelado, siendo mejor el nivel de 20%, debido a la acción protectora de la yema, al aumentarse su nivel sin llegar a puntos tóxicos, favorece a los espermatozoides.



El diluyente de citrato no tiene éste inconveniente (Smidt y Ellendorf, 1972), El diluyente de citrato-yema posee ventajas sobre el fosfato-yema por ser más claro el medio y más útil para lecturas de motilidad progresiva individual (De Alba, 1985).

A partir del citrato se propusieron numerosos diluyentes, consistentes en modificaciones en la concentración y en la adición de diversas sustancias, como gelatina, bicarbonato, glucosa, fructosa, y glicerol entre otras (Smidt y Ellendorf, 1972; Bustamante, 1981; Sorensen, 1982).

El extremo de prolongación de vitalidad por reducción de temperatura sólo se logra mediante congelación. Para ésto es indispensable que los diluyentes contengan glicerol. El éxito completo de recuperación de motilidad y fertilidad después de la congelación con glicerol, ha tenido más éxito y aplicabilidad en el bovino que en otras especies (De Alba, 1985).

Lo único que se sabe es que sin haber ocurrido el descubrimiento fortuito de la ventaja de agregar glicerol, aún no existiría el enorme desarrollo que ha ocurrido en el uso de semen congelado (De Alba, 1985).

El papel que juega el glicerol en la congelación del espermatozoide de mamíferos, no ha sido del todo aclarado. En primera instancia se piensa que se trata de reducir la formación de cristales. Otra, más lógica, es la relativa a la pérdida de estabilidad de las membranas que rodean al espermatozoide, la cual se puede disminuir y además se tiene el conocimiento de que son menos estables las membranas de espermatozoides viejos que las de jóvenes (De Alba, 1985).

Se ha teorizado que el glicerol ejerce acción protectora evitando la formación de cristales, pero tiene más adeptos la explicación de que es la capacidad de retención de agua dentro del espermatozoide la que evita que en el proceso de congelación se concentren los solutos en el medio de suspensión de los espermatozoides (Bustamante, 1981; Sorensen, 1982; De Alba, 1985).

Se ha intentado sustituir al glicerol por otros agentes protectores. Pero hasta el momento el glicerol es el protector predominante. Su forma de ingreso a través de las membranas del espermatozoide se ha estudiado, pero a pesar de que la penetración se facilita a mayor temperatura, el hecho experimental persiste de que la protección al espermatozoide es mucho más completa si se mezcla el diluyente con glicerol con el semen diluido inicialmente sin glicerol a temperatura de 5°C (De Alba, 1985).

Particularmente importante para la conservación eficaz de semen es la inhibición del crecimiento de gérmenes en el medio, mediante la adición de antibióticos (Smidt y Ellendorf, 1972; De Alba, 1985) Además el de reducir el metabolismo del espermatozoide (Sorensen, 1982).

La anabiosis, como condición inherente a la conservación, se puede alcanzar por diversas vías, si se recurre al empleo de bajas temperaturas hay que distinguir entre refrigeración y congelación. El principal problema que se presenta en el descenso térmico desde 37 a 2-5 grados centígrados, reside en el peligro de un choque por frío (Smidt y Ellendorf, 1972; Sorensen, 1982; De Alba, 1985; Arthur y Noaker 1991). Este choque significa pérdida irreversible de la motilidad, de la actividad metabólica

y de la capacidad de fecundación. El choque por frío provoca alteraciones en la superficie de los espermatozoides, puede ser evitado por enfriamiento gradual (Smidt y Ellendorf, 1972; Arthur y Noaker, 1991). La segunda zona crítica se halla entre -15 y -25 grados centígrados. Existe aquí el peligro de la cristalización y con ella, la separación del agua, electrólitos y materia coloidal. Esta zona debe ser sobrepasada lo más rápidamente posible, tanto para la conservación a bajas temperaturas, como durante el proceso de descongelación (Smidt y Ellendorf, 1972; De Alba, 1985).

El método de la refrigeración profunda tiene una gran importancia para el aprovechamiento zootécnico de la inseminación en animales domésticos y en cuyo curso se congela el esperma hasta temperaturas de -196 grados centígrados. Hoy se emplea generalmente el procedimiento TGN2, en el que la baja temperatura necesaria se alcanza con nitrógeno líquido. En el se conserva el semen a -195 grados centígrados (Smidt y Ellendorf, 1972; Sorensen, 1982; De Alba, 1985).

El semen congelado mantenido a la temperatura del nitrógeno líquido expuesto a presión atmosférica, se encuentra a -196 grados centígrados. La supresión de toda actividad metabólica es casi total, pero no absoluta. Las mayores pérdidas de fertilidad ocurren si la inmersión en Nitrógeno líquido no es constante y esto significa que el manejo de semen congelado está expuesto a errores de manipulación (Sorensen, 1982; De Alba, 1985).

Con el advenimiento de métodos de congelación más rápida en vapor de Nitrógeno y el envase en pajillas se ha demostrado que el descongelamiento rápido propicia la mayor recuperación de

motilidad y fertilidad (Sorensen, 1982; De Alba, 1985).

Recientemente se ha investigado la relación existente entre la viabilidad al descongelamiento con algunos factores como son el porcentaje de glicerol la osmolaridad de los diluyentes y el ritmo de descenso de temperatura (Valencia, 1987).

Las inconveniencias del método de congelación con Nitrógeno líquido son la necesidad de un recipiente adecuado y de una fuente de refrigerante (Sorensen, 1982)

El proceso de congelación se puede efectuar en forma idéntica en ampolletas y en pajillas de diferentes tipos y tamaños. La conveniencia de las pajillas por el espacio menor que ocupan en el termo, la facilidad de envasar y taponar en pequeña escala, y los buenos resultados en el campo, van inclinando la balanza en favor de las pajillas (Sorensen, 1982; De Alba, 1985; Arthur y Noaker 1991).

El semen diluido se envasa en pajillas de plástico, antes de la utilización del semen, se descongela por inmersión de las pajillas en un baño de agua a 37 grados centígrados durante 30 segundos (De Alba, 1985; Arthur y Noaker 1991).

La congelación disminuye la viabilidad de los espermatozoides y reduce su capacidad para atravesar el cuello uterino, por lo que un número menor de espermatozoides alcanza el oviducto y la fertilización es menos eficaz. Por ello, una proporción menor de ovejas quedan gestantes con semen congelado, diagnosticando la gestación por la determinación de los niveles de progesterona a los 18 días de la inseminación (Arthur y Noaker 1991).

La inseminación debe realizarse entre las 12-18 horas del comienzo del celo, la oveja se sujeta en un soporte adecuado y a

una altura adecuada al inseminador. El semen diluido se coloca a una pipeta graduada acoplada a una jeringa y se introduce aproximadamente a un centímetro en el interior del cuello uterino, se retira el espéculo y se aplica el semen (Smidt y Ellendorf, 1972; Arthur y Noaker 1991).

Desafortunadamente el cervix de la oveja posee varios anillos que dificultan el paso de una pipeta para alcanzar la cavidad uterina, por lo que la inseminación intrauterina solo se consigue en un reducido número de hembras (Valencia, 1987) o utilizando un laparoscopio lo cual encarece la técnica (Evans y Maxwell, 1987).

De ahí que la colocación intrauterina del semen se haya intentado por diversas técnicas:

- 1) Por laparotomía depositando el semen directamente en los cuernos uterinos.
- 2) Por Sujeción del cervix por vía vaginal e introducción de la pipeta a través del canal cervical.
- 3) Por laparoscopia.
- 4) Con impulso por medio del gas CO<sub>2</sub> (Bustamante, 1981; Valencia, 1987).

En la evaluación del semen se realizan las siguientes pruebas:

- 1) El volumen seminal. Se mide directamente en un tubo colector graduado en décimas de mililitro y en los carneros varia de 0.3 a 2.0 mililitros en un semen muy concentrado. El volumen varia considerablemente entre los individuos y las razas (Pérez y López, 1984).
- 2) La concentración espermática. La concentración espermática se

obtiene comúnmente en un hematocitómetro o bien en un espectrofotómetro calibrado (Pérez y López, 1984; Sorensen, 1982; Arthur y Noaker, 1991). Se determina el número de espermatozoides por unidad de volumen y permite conocer el número total de espermatozoides por eyaculado que en carneros es de 2000 a 3000 millones/ml (Sorensen, 1982).

El espectrofotómetro una vez calibrado permite medir directamente la concentración de una muestra en una tabla que relacione la transmisión de la luz y la concentración (Sorensen, 1982).

3) La motilidad progresiva se observa en muestras diluidas con una solución isotónica. La evaluación se realiza al microscopio en aumentos de 100 a 400 X, se observan varios campos de la preparación y la calificación se expresa en porcentaje (Sorensen, 1982; Pérez y López, 1984).

La motilidad se expresa como el porcentaje de células móviles o vivas, dichas células pueden avanzar en cualquier dirección pero siempre hacia adelante y parece no importar la velocidad con que lo hacen. El porcentaje de espermatozoides móviles del carneros suele ser del 95% (Sorensen, 1982).

Cuando se examina a la temperatura de recolección a pocos momentos de haber sido tomado el semen, el semen sin diluir, aparece como una masa espermática y con un movimiento ondulante o masal. Las muestras de escasa calidad carecen de motilidad en masa y baja motilidad individual o bien esta es solamente de carácter oscilatorio o rotatorio (Arthur y Noaker, 1991).

La motilidad progresiva de los espermatozoides ovinos al descongelar no presenta una buena correlación con la fertilidad ya que aunque los espermatozoides avancen, su acrosoma puede

estar seriamente dañado impidiendo la fecundación. Los espermatozoides ovinos, son especialmente susceptibles a sufrir daño acrosomal, por lo que la revisión de esta característica es básica para estimar la posible fertilidad del semen (Salamon, 1987; Delgado y Trejo, 1996). Los bajos porcentajes de fertilidad obtenidos con semen congelado han sido el principal freno de la inseminación artificial ovina (Muñoz, 1986; Trejo y Valencia, 1988).

4) La integridad acrosomal es una técnica que tiene alta correlación con la fertilidad y es de gran utilidad cuando se emplea semen congelado. La evaluación se realiza utilizando la solución de Hanckock o el colorante de Wells y Awa (Sorensen, 1982; Pérez y López, 1984; Trejo, 1984; Arthur y Noaker, 1991).

La integridad del acrosoma es un prerequisite importante de la capacidad fertilizante debido a que el acrosoma contiene las enzimas implicadas en la penetración del ovocito, una de ellas aparece sólo en acrosomas intactos y es la acrosina (Arthur y Noaker, 1991).

El estudio morfológico permite distinguir dos tipos de espermatozoides, normales y anormales y expresar los resultados como un porcentaje. El examen de los mismos se efectúa mediante un microscopio de contraste de fases, ya que da un efecto tridimensional y permite ver con mayor claridad los componentes celulares. Las anomalías primarias tienen origen testicular ya que ocurre alguna falla en el proceso espermatogénico. Los tipos de anomalías de la cabeza tienen nombres descriptivos como cabezas piriformes, microcéfalos, entre otros (Sorensen, 1982; Arthur y Noaker, 1991).

Las anormalidades secundarias aparecen durante el paso de los espermatozoides por el sistema de conductos, las cuales son de origen degradativo como cabezas desprendidas, cola de gancho y gota citoplasmática entre otras (Sorensen, 1982).



## OBJETIVOS.

### OBJETIVO GENERAL.

Determinar la concentración de glicerol más conveniente, adicionada a un diluyente a base de Tris-yema de huevo, para lograr una mejor conservación y viabilidad de las células espermáticas recuperadas en el proceso de congelación de semen de carnero.

### OBJETIVO ESPECIFICO.

Capacitar a los prestadores de servicio en la preparación y manejo de semen congelado.

### OBJETIVO ACADEMICO.

Apoyar los trabajos de investigación que se realizan en el área de reproducción y mejoramiento genético en los ovinos y en los caprinos.

### OBJETIVO SOCIAL.

Sentar las bases para la preparación de generaciones futuras de Medicos Veterinarios al dejar montadas técnicas particulares que seran utilizadas en trabajos futuros.

### CUADRO METODOLOGICO.

Para alcanzar los objetivos propuestos, se pretende evaluar diferentes diluentes en semen de varios machos, separado por alícuotas durante la estación reproductiva de los ovinos.

## DESCRIPCION DE ACTIVIDADES.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México. Localizado geográficamente en el Estado de México, kilómetro 2.5 de la Carretera Federal Cuautitlán-Teoloyucan, a una longitud poniente de 99°11'42" y latitud norte 19°41'35" a 2252 msnm.

Se obtuvieron por medio de la vagina artificial 21 muestras provenientes de tres carneros adultos de las razas Rambouillet (2 machos) y Pelibuey (1 macho), teniéndose en total 7 muestras por cada macho.

El semen se recolectó en un tubo graduado protegido por un capuchón de hule espuma, para protegerlo de la luz y mantenerle una temperatura adecuada durante su transporte al laboratorio.

Una vez obtenida la muestra de semen se procedió a su evaluación que consistió en la determinación de la motilidad progresiva en una dilución 1:100 en citrato de sodio al 2.9%, mantenido a 37°C en baño maría y observado al microscopio con platina térmica a 100 aumentos y expresando el resultado en porcentaje. La concentración espermática se midió en un espectrofotómetro previamente calibrado con una longitud de onda de 600 nm.

Una vez evaluado el semen se dividió en tres alícuotas que se asignaron a los siguientes tratamientos:

- 1.- Diluyente a base de TRIS-Yema de huevo con 4% de glicerol.
- 2.- Diluyente a base de TRIS-Yema de huevo con 6% de glicerol.
- 3.- Diluyente a base de TRIS-Yema de huevo con 8% de glicerol.

A cada alícuota de igual volumen, se le agregó diluyente necesario para completar un volumen de 1 ml y llenar dos pajillas

francesas de 0.5 ml que se procedió a congelar. Las pajillas se sometieron a refrigeración a 5°C, por espacio de 2 horas y cumplidas éstas se pusieron en vapor de nitrógeno durante 15 minutos, transcurridos éstos se sumergieron en el nitrógeno para su total congelación.

De cada muestra del semen fresco se tomó 1 ml del semen diluido en citrato y se diluyó 1:1 (V/V) en solución de Hancock para evaluar posteriormente su morfología acrosómica.

Una vez reunidas todas las muestras, se procedió a su descongelación para la correspondiente evaluación. La descongelación se hizo pasando éstas directamente del termo a un baño María de 37°C. Se diluía una gota de semen en una solución de citrato de sodio al 2.9% y se observó en el microscopio el porcentaje de motilidad progresiva recuperada.

Se mezcló una gota del semen con el colorante Rojo Congo y otra con el colorante Azul Tripan. Con éstas mezclas de colorantes y semen se procedió a hacer dos frotis por cada pajilla, cada laminilla se sometió a un fijador durante 5 minutos, antes de ser teñidos definitivamente con Giemsa. El proceso de teñido de cada laminilla duró en promedio 48 horas, en los frotis teñidos, se procedió a su evaluación y ésta se basó en el conteo de 100 células espermáticas, agrupando por sus características en porcentajes de acrosomas normales, hinchados, rotos y ausente. Se siguió éste mismo proceso para cada frotis obtenido, para todas las muestras y para cada porcentaje de glicerol usado en las diluciones.

La evaluación estadística se realizó mediante análisis de varianza con arreglo factorial, transformando los porcentajes al

arcoseno y utilizando como covariables la variable medida en el semen fresco, el volumen de eyaculado y la concentración espermática (Snedecor y Cochran, (1971), de acuerdo al siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + G_j + \beta_1(V_n - V_{\bar{n}}) + \beta_2(CO_n - CO_{\bar{n}}) + \beta_3(SF_n - SF_{\bar{n}}) + E_{ijk}$$

Donde:  $Y_{ijk}$  es la variable de respuesta;  $\mu$  media poblacional;  $C_i$  es el efecto del carnero ( $i= 1,2,3,$ );  $G_j$  es el efecto del glicerol ( $J= 4, 6, 8\%$ );  $\beta_1$  es el volumen del semen utilizado como covariable;  $\beta_2$  es la concentración espermática de la alícuota utilizada como covariable;  $\beta_3$  variable en el semen fresco utilizada como covariable;  $E_{ijk}$  es el k-ésimo error aleatorio asociado a cada observación.

## RESULTADOS

En el cuadro 1, se presentan los resultados de Motilidad Progresiva observada en el semen fresco y el efecto del glicerol sobre la Motilidad Progresiva Recuperada del semen congelado. Observándose que el volumen de semen recolectado influyó tanto en la Motilidad Progresiva ( $P < 0.01$ ) como en la Motilidad Progresiva Recuperada ( $P < 0.01$ ) en el semen congelado. En cuanto al nivel de glicerol, se observaron efectos significativos sobre la morfología acrosomal, siendo para Acrosomas Normales ( $P < 0.001$ ), Acrosomas Hinchados ( $P < 0.01$ ), Acrosomas Rotos ( $P < 0.001$ ).

En el cuadro 2 se comparan los efectos del crioprotector a diferentes concentraciones (4%, 6% y 8%) sobre los acrosomas de semen congelado de ovino.

Así se puede observar que para la concentración de glicerol en 8% hay una cuantificación mayor de acrosomas normales ( $P < 0.05$ ) comparando con los niveles de 6% ( $P < 0.05$ ) y del 4% ( $P < 0.05$ ). Para los Acrosomas Hinchados se observó una mejor protección en la concentración de 8% ( $P < 0.05$ ) pero fue igual para 4% y 6%. Para Acrosomas Rotos se observó que tanto el 8% como el 6% fueron adecuadas, mientras que el 4% presentó mayor cantidad de acrosomas dañados ( $P < 0.05$ ). En el caso de Acrosomas Ausentes, no hubo significancia alguna en las tres concentraciones de glicerol estudiada.

		CUADRO 1. CUADROS MEDIOS DEL ANALISIS DE VARIANZA PARA EL EFECTO DEL NIVEL DE GLICEROL SOBRE LA MOTILIDAD ESPERMATICA Y EL DAÑO ACROSOMAL EN SEMEN DESCONGELADO DE CARNERO.													
		C	U	A	D	R	A	D	O	S	M	E	D	I	O
FUENTES DE VARIACION	gl	MOTILIDAD PROGRESIVA	RECUPERA- CION DE MO TILIDAD PROGRESIVA	ACROSOMAS NORMALES	ACROSOMAS HINCHADOS	ACROSOMAS ROTOS	ACROSOMAS AUSENTES								
CARNERO	2	1660.48 **	2569.44	11.30 *	8.40 **	0.93	0.01								
GLICEROL	2	516.33	1367.39	41.24 ***	9.77 **	13.33 ***	0.07								
VARIABLE EN EL SEMEN FRESCO	1	371.81	-----	2.27	1.21	0.61	-----								
VOLUMEN DE EYACULADO	1	2425.28 **	5741.62 **	2.51	0.95	0.41	0.03								
CONCENTRACION ESPERMATICA	1	18.63	5.92	4.81	1.03	1.28	0.006								
ERROR	54	420.62	1003.51	3.26	1.89	0.94	0.03								

\* (P<0.05); \*\* (P<0.01); \*\*\* (P<0.001).

CUADRO 2.  
 CARACTERISTICAS ESPERMATICAS DE SEMEN DE OVINOS, CONGELADO CON TRES DISTINTOS NIVELES DE GLICERINA EN EL DILUENTE (MEDIA ± ERROR ESTANDAR).

NIVEL DE GLICEROL	MOTILIDAD PROGRESIVA	RECUPERACION DE MOTILIDAD PROGRESIVA	ACROSOMAS NORMALES	ACROSOMAS HINCHADOS	ACROSOMAS ROTOS	ACROSOMAS AUSENTES
4 ‰	36.36±4.56 a	54.72±7.04 a	95.68±0.40 c	2.66±0.30 b	1.66±0.21 b	0.00±0.03 a
6 ‰	43.60±4.80 a	66.26±7.42 a	96.79±0.42 b	2.55±0.32 b	0.54±0.22 a	0.09±0.04 a
8 ‰	45.88±4.56 a	70.30±7.04 a	98.51±0.41 a	1.40±0.31 a	0.09±0.22 a	0.00±0.04 a

Letras diferentes en las columnas representan diferencias significativas (P<0.05)



## DISCUSION, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

El nivel de glicerol afectó el porcentaje de acrosomas normales, a mayor nivel de glicerol existieron más acrosomas normales.

El volumen seminal en el semen fresco utilizado como covariable afectó tanto la motilidad progresiva de los espermatozoides como su recuperación de la motilidad progresiva, esto pudo ser debido a que a mayor volumen seminal la proporción de semen:diluyente fue menor y se ha mencionado el efecto benéfico que se obtiene al diluir el semen en mayores cantidades de diluyente, entonces a mayor proporción diluyente:semen (v/v), se tiene un mejor efecto protector del diluyente (Trejo et al., 1986).

La recuperación de la motilidad progresiva no se afectó significativamente, aunque hubo una tendencia a ser mayor conforme se aumentó el porcentaje de glicerol. Lo que confirma que si bien en el semen fresco la motilidad progresiva es el parámetro que tiene una mayor correlación con la fertilidad, en el semen descongelado la integridad acrosómica es mas relevante para estimar la capacidad fertilizante de los espermatozoides.

El porcentaje de acrosomas normales se aumentó en forma progresiva conforme se aumentó el porcentaje de glicerol en el diluyente los acrosomas hinchados se redujeron cuando el glicerol se agregó al 8%, pero no existieron diferencias entre los niveles de 4 y 6% de glicerol. El porcentaje de acrosomas rotos fue mayor cuando se agregó el glicerol al 4%, no existiendo diferencias significativas entre los niveles de 6 y 8%.

Los resultados obtenidos muestran que conforme se aumentó el

porcentaje del glicerol en el diluyente, se mejoró la calidad espermática al descongelar, por lo que el nivel de 8% es el mas adecuado para utilizar este diluyente para congelar semen ovino.

## LITERATURA CITADA.

Acuña, A., Valencia, Z., (1982). Evaluación de diluyente para congelar semen de borrego Pelibuey. Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México.: 591-593.

Alba, J. de., (1985). Reproducción Animal. La prensa Médica Mexicana. México.

Aguirre, D.V., (1978). Evaluación de la fertilidad obtenida en un programa extensivo de inseminación artificial en ovejas en la zona del Ajusco. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.

Armstrong, D.T. y Evans, G., (1984). Intrauterine insemination advances fertility of frozen semen in superovulates ewes. J. Repr. Fert. 69:87-94

Arthur, G.H. y Noaker, (1991). Inseminación Artificial. En: Gestación Reproducción y Obstetricia en Veterinaria. 6a. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México.: 625-635.

Bustamante, G., (1981). Congelación de semen ovino. Memorias del Curso de Actualización de Aspectos de Producción Ovina. División de estudios de Posgrado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.: 128-142.

Buxadé, C.C., (1984). Ganado porcino. Ediciones Mundiprensa. Madrid. España.

Cordero, O.Ma. del R. y Sandoval, R.H.L., (1991). Comparación entre esponjas vaginales e implantes subcutáneos con progestagénos para sincronizar el estro en ovejas con fines de inseminación artificial con semen congelado. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.

Cuadra, S.C.E., Chang, G.J.L., Aponte, B.M.E., Pérez, P.H. y Toral, R.J.A., (1990). Resultados de dos años con inseminación artificial utilizando semen fresco en ovinos. Memorias del tercer Congreso Nacional de Producción Ovina. Tlaxcala. México.: 149-152.

Cruz, L.A. y Hernández, M.J.A., (1988). Sincronización de estros utilizando diferentes períodos de administración de MGA (Acetato de melengestrol) en ovejas Corriedale. Memorias del Primer Congreso nacional de Producción ovina. Asociación Mexicana de Técnicos Especialistas en Ovinos A.C. La Calera. Zacatecas. México.: 150-152.

Delgado, F.M. Trejo G.A., (1996). Efecto de dos concentraciones de yema de huevo y la velocidad de enfriamiento sobre las características espermáticas en semen congelado de ovinos. X Foro de Investigación Multidisciplinario. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.: 362-367

Derivaux, J., (1982). Reproducción de los animales domésticos. 2a. ed. Ed. Acribia, Zaragoza, España.: 167-181.

Evans, G. y Maxwell, W.M.C., (1987). Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworths. Australia.

Foote, R.H., (1984). Inseminación artificial. En. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 4a ed. Ed. Interamericana. México.: 497-520.

Graham, E.F., (1978). Fundaments of the preservation of spermatozoa. Proc. Conf. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 4pp.

Graham, E.F., (1980). Artificial insemination in sheep. Sheep Breeder and Sheepman. 12:6.

Greyling, J.P.C., Greeff, J.C., Brink, W.C.J. y Wyma, G.A., (1988). Synchronization of oestrus in sheep of low-normal mass under range conditions. The use of different progestogens and use of PMSG. *Afr. Tydskr. VeeK.* 18:4.

Hafez, E.S.E., (1987). *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. 5a ed. Interamericana MacGraw-Hill. México.

INEGI, (1995). *El sector alimentario mexicano*. 316 pp.

León, C.A., (1994). Evaluación zootécnica de una unidad de producción ovina en sistema extensivo en Topilejo D.F. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.

Lucas, T.J. de., (1988). Situación y perspectivas de la lana en México. Primer Simposium Internacional de Ovinocultura. México.:

Lucas, T.J. de y Arbiza, A.S.I., (1997). *Producción ovina en el mundo y México*. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Mimeo grafo.

Luna, V.Ma.M., (1994). Evaluación zootécnica de una unidad de producción ovina en sistema intensivo en Santa Catrina Ayotzingo, Municipio de Chalco. Teis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.

Martínez, A., Herrera, J., Valencia, J. y Fernández-Vaca, S., (1980). Estudio de la actividad ovárica posparto mediante la determinación de progesterona en ovejas Dorset, Suffolk y Tabasco. *Vet. Mex.* 11:127-235.

Muñoz, L.M., (1986). Comparación de la fertilidad del semen congelado en ovejas con estro natural y sincronizadas con progestágenos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.

Orizaga, Bustamante, G., Valencia, M.J., (1982). Efecto del congelamiento sobre la movilidad progresiva y la estructura acrosomal del espermatozoide de norueco. *Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México.*:

Pérez, I.A., (1979). Situación actual de la ovinocultura en México. *Memorias del Curso de Actualización Aspectos de Producción Ovina*. División de estudios de Posgrado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.: 1-2.

Pérez, C.R. y López, P.A., (1984). *Inseminación artificial en ovinos*. *Memorias del Curso Bases de la Cría Ovina*. Toluca. México.: 52-58.

Rival, T.J., Chenoweth, P.J. y Micking, L.I., (1984). Semen deposition and the fertility in the ovine artificial insemination. *Sheep Reproduction*. *Australia Academic of Science.*: 301-303.

Salamon, S., (1987). Assessment of frozen thawed semen. In. *Artificial Breeding of Sheep with frozen semen Workshop*. Department of Agriculture. South Australia.: 5-12.

Salas, L.J.J., (1988). Situación de la ovinocultura en México. Primer Simposium Internacional de Ovinocultura. Asociación Mexicana de criadores de Ovinos de Registro. México D.F.:

Smidt, D. y Ellendorf, F., (1972). *Endocrinología y Fisiología de la Reproducción de los Animales Zootécnicos*. Editorial Acribia. Zaragoza. España.

Snedecor, W.G. y Cochran, G.W., (1971). *Métodos Estadísticos*. Compañía Editorial Continental S.A. México. D.F.

Sorensen, A.M., (1982). *Reproducción Animal. Principios y Prácticas*. McGraw-Hill. México.

Trejo, G.A., (1984). Estacionalidad del macho ovino. *Memorias del curso bases de la cría ovina*. Toluca. México.: 81-87.

Trejo, G.A., Soto, G.R., Neria, V.B. y Peña, V.M., (1984). Inseminación Artificial con semen congelado. *Memorias de la Reunión de Investigación Pecuaria en México*.: 322-324.

Trejo, G.A., Peralta, L.M., Castro, M.P., Moreno, P.V. y García, A.C., (1986). Congelación de semen e inseminación artificial en caprinos. *Memorias de la Segunda Reunión Nacional Sobre Caprinocultura*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista Saltillo. Coahuila.: 8-13.

Trejo, G.A y Valencia, M.J., (1988). Avances en la inseminación artificial en ovinos. *Primer Simposium Internacional de Ovinocultura en México*.: 30-38.

Valencia, M.J., (1981). Manipulación del ciclo estral de la oveja. *Memorias del Curso de Actualización de Aspectos de Producción Ovina*. División de Estudios de Posgrado. FMVZ. UNAM. México.: 14-17.

Valencia, M.J., (1986). Inseminación artificial. En. *Reproducción de Animales*. Ed. Limusa. México.: 179-181.

Valencia, M.J., (1987). La inseminación artificial en ovinos. *Memorias del II Curso Bases de la Cría Ovina*. Asociación Mexicana de Técnicos Especialistas en Ovinocultura. Pachuca. Hidalgo. México.: 44-47.

## A N E X O 1.

### ACTIVIDADES ADICIONALES AL PROYECTO DE INVESTIGACION.

Además de las actividades relacionadas con este trabajo de investigación se apoyó al rebaño experimental caprino de la Cátedra de Reproducción y Genética en Ovinos y Caprinos en lo siguiente:

1.- En lo referente a nutrición, se formularon las raciones de alimentación y se les dio de comer a los animales. También se fungió como pastora al supervisar a los animales en pastoreo en áreas no aprovechadas de la FES-Cuautitlán como orillas de caminos, jardines y acequias.

2.- En lo referente a la sanidad, se trataron a los animales durante un brote de coccidia y tratamientos ocasionales de algunos animales enfermos.

3.- Se aplicaron tratamientos de inducción del estro a base de esponjas vaginales y PMSG.

4.- Se limpiaron y desinfectaron instalaciones para facilitar el manejo de los animales en los diferentes corrales.

5.- Se apoyaron otros trabajos de investigación con el manejo de los animales, como el pesaje y el sangrado de los mismos.