



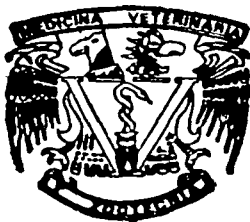
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACION DE LA FUNCION TESTICULAR EN MONO ARAÑA (Ateles geoffroyi) EN CONDICIONES DE CAUTIVERIO EN CATEMACO VERACRUZ.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA PRESENTA: ALBA ZULEMA RODAS MARTINEZ

ASESORES: DR. VICENTE DIAZ SANCHEZ
MVZ. DOMINGO CANALES ESPINOSA
MVZ. CARLOS ESQUIVEL LACROIX



MEXICO, D. F.

2002

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

PAGINACIÓN

DISCONTINUA

EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN TESTICULAR EN MONO ARAÑA (*Ateles geoffroyi*) EN CONDICIONES DE CAUTIVERIO EN CATEMACO VERACRUZ

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista

por

Alba Zulema Rodas Martínez

Asesores: Dr. Vicente Díaz Sánchez
MVZ. Domingo Canales Espinosa
MVZ. Carlos Esquivel Lacroix

México, D.F., 2002.

DEDICATORIA

A mi mamá,
mi hermana,
papá José Luis,
papá Jorge (+)
y a mis abuelitos (+).

AGRADECIMIENTOS.

Mami: mil gracias por todo el amor y apoyo que me has dado, gracias a eso y a tu ejemplo hoy estoy aquí. A mi hermana por ser mi mejor amiga y la persona con quien sé que contaré toda mi vida. Las quiero montones.

A mi papá José Luis por ser mi amigo y permitirme ser parte de tu familia y ser tú de la nuestra.

A Andrus por estar cerca de mí y darme tu apoyo, paciencia y cariño con los cuales has ocupado un gran espacio en mi corazón.

A mi Nana, gracias por estar en nuestras vidas.

A mi familia: Padrinos Carlos y Zoila, Mamá Tinita, a mi tía Albita, Merce, Carlos Alfredo, Arnulfo, Evita y primas que en realidad nunca han estado lejos.

A Gloria por aparecer en nuestras vidas, cuidarnos y darnos su cariño el cual está doblemente correspondido.

A Carlos Noriega, Babe y familia, Tía Marigela, Margarita y familia; porque sin ustedes la vida en México no hubiera sido como lo es hoy, gracias por su cariño y apoyo.

A mis amigos: Israel, Luisa, Clara, Gabriel, Karina, Eli e Iker por su cariño.

A todos los miembros del Departamento de Etología, Fauna Silvestre y Animales de Laboratorio por hacerme sentir parte de ustedes, especialmente a la Dra. Dulce Brousset por confiar en mí dándome todo su apoyo y ser un verdadero ejemplo a seguir.

Al Dr. William Swanson por creer en mí y darme la oportunidad de continuar mi formación.

A la Dra. Laura Barraza por haberme abierto las puertas de su casa y darme el primer empujón para iniciarme en la investigación.

A mis asesores Dr. Vicente, Domingo y Carlos por aceptar ser mis asesores.

A Héctor y Gabriel quienes me rescataron del hoyo de números y dudas que tenía y me ofrecieron su apoyo incondicional con el cual sigo contando.

A Gil por su ayuda incondicional en Catemaco.

A "Sin Fronteras", el Gobierno de Alemania y la Fundación Albet Einstein por su apoyo económico durante la carrera.

A la UNAM por ser una oportunidad de vida para todo aquel que tenemos el privilegio de formar parte de ella y a todos los profesores de la carrera que de una manera u otra contribuyeron con sus conocimientos para que hoy sea profesional.

A Tino, Moncho, Macuile, Javier, Toño, Niko, Negro II y Negro I que sin ustedes este trabajo no sería posible.

CONTENIDO.

	Página
RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 Descripción general de la especie.....	4
1.2 Comportamiento social y reproductivo.....	6
1.3 Fisiología reproductiva.....	7
1.3.1 Anatomía del órgano sexual masculino.....	8
1.3.2 Espermatogénesis.....	9
1.3.3 Colección y análisis del semen.....	10
2. HIPÓTESIS.....	13
3. OBJETIVOS.....	13
4. MATERIAL Y METODOLOGÍA.....	14
4.1 Diseño experimental.....	17
4.1.1 Anestesia.....	17
4.1.2 Colección de sangre.....	18
4.1.3 Medición testicular.....	18
4.1.4 Electroeyaculación.....	19
4.1.5 Uso de tripsina para el procesamiento del semen.....	20
4.1.6 Determinación para el volumen del eyaculado.....	21
4.1.7 Determinación de la concentración espermática.....	21
4.1.8 Determinación de la movilidad.....	22
4.1.9 Determinación de la morfología.....	23
4.1.10 Determinación de Testosterona sanguínea.....	23
4.2 Análisis estadístico.....	24
5. RESULTADOS.....	26
5.1 Técnica de electroeyaculación.....	26
5.2 Descripción de la calidad del semen en mono araña.....	27
5.3 Estacionalidad.....	30
6. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES.....	32
7. LITERATURA CITADA.....	38
8. ANEXO.....	43

RESUMEN

Rodas Martínez Alba Zulema. Evaluación de la función testicular en mono araña (*Ateles geoffroyi*) en condiciones de cautiverio en Catemaco Veracruz. (bajo la dirección de: Dr. Vicente Díaz Sánchez, el MVZ. Domingo Canales Espinosa y el MVZ. Carlos Esquivel Lacroix).

La destrucción del hábitat, la caza de monos para consumo alimenticio o para usarlos como mascotas han originando que su distribución original se haya reducido en un 90%. La reproducción es una herramienta para preservar especies amenazadas, la evaluación de patrones reproductivos en los machos y hembras, es el primer paso para implementar estrategias que ayuden a incrementar el porcentaje de nacimientos en condiciones de cautiverio. Los objetivos de este trabajo fueron: obtener información sobre las concentraciones de testosterona en sangre, evaluación de las características del semen en el mono araña y establecer un protocolo de electroeyaculación para la especie. El trabajo se llevó a cabo con ocho machos sexualmente maduros de los cuales se obtuvo muestras de semen y sangre en un periodo de ocho meses. El semen fue obtenido mediante electroeyaculación utilizando tripsina para su procesamiento y evaluación microscópica, la testosterona sanguínea fue determinada con la técnica de quimioluminiscencia. Los resultados fueron los siguientes: Testosterona en sangre: 2.58 ± 0.30 ng/ml. Evaluación espermática: concentración $90.23 \pm 9.17 \times 10^6$ /ml, $69.68 \pm 3.27\%$ de movilidad, $75.56 \pm 0.30\%$ de morfología normal. Obtenidas 25 muestras de semen por electroeyaculación. Este es el primer reporte de las características del semen para el mono araña así como el empleo de la electroeyaculación como técnica para la obtención del semen en la especie. La evaluación del semen mostró tener características apropiadas para ser usado en futuros proyectos de inseminación artificial para la especie.

INTRODUCCIÓN

Más de 237 especies de primates vivientes constituyen un Orden dentro de la Clase Mammalia. Los primates se agrupan en cuatro grandes linajes evolutivos: Prosimios, Monos del Viejo Mundo, Monos del Nuevo Mundo y Simios (34).

México presenta la distribución más norteña de los primates silvestres en el continente americano (Monos del Nuevo Mundo). Tres especies habitan las selvas del sur en nuestro país, una de ellas, el mono araña (*Ateles geoffroyi*) (13) sujeta a estudio en la presente investigación.

La desaparición de las selvas implica la reducción de las poblaciones de monos. La tasa de deforestación en el trópico mexicano es elevada, para el sur de México se registran tasas que varían de un mínimo de 10-20 hectáreas/día hasta 100 ha./día teniendo como consecuencia, entre otras, el exterminio local de esta especie en varias regiones (12).

La destrucción del hábitat es el factor que actúa más negativamente sobre las poblaciones de monos, tanto en México como en otras partes del mundo. Sin embargo, no es el único factor, ya que la caza de monos por el hombre para su consumo alimenticio o para usarlos como mascotas también lesiona a las poblaciones silvestres. Por estas causas, la distribución original de los primates mexicanos se ha reducido en aproximadamente un 90% (12).

Actualmente el mono araña es habitante en algunos fragmentos de selva que aún se encuentran en el sureste de México, en estados como Veracruz, Tabasco, Campeche, Chiapas, Yucatán, Quintana Roo y partes de Oaxaca. Estos fragmentos de selva continúan reduciéndose en tamaño con la consiguiente y desafortunada pérdida de la biodiversidad que contienen (12).

En función de lo anterior la "International Union for Conservation of Nature and Natural Resources" (IUCN) en 1996 ubica la especie como "vulnerable" en su lista roja de especies en peligro de extinción. Se ubica en la categoría de vulnerable aquellas especies cuando no está en peligro crítico pero sí con un alto riesgo de extinción en estado silvestre a mediano plazo (39).

En México, la especie se encuentra en la lista de la NOM-059-ECOL-1994 ubicándola en "Peligro de Extinción". Así mismo, se les consideró en la categoría de "Vulnerable" durante una reunión sobre Conservación, Análisis, Evaluación y Manejo Planificado (CAMP) realizado en 1996 en la ciudad de Puebla, Puebla, México (35)(36).

La transformación de las selvas por la acción humana, está obligando a un gran número de poblaciones de monos a sobrevivir precariamente en fragmentos de bosques perturbados. Bajo estas condiciones, los monos tienen mínimas posibilidades de supervivencia. El empobrecimiento ecológico del hábitat, en algunos casos es extremo y la mayoría de los animales que sobreviven en estas condiciones adversas manifiestan notable desnutrición y suelen estar severamente afectados por parasitismo. El destino de estas poblaciones silvestres podría ser la extinción, de no ser así, a la larga, el aislamiento poblacional determinaría que el grupo de animales pudiera manifestar efectos negativos por endogamia (37).

De la preocupación por el desequilibrio ecológico y la explotación irracional de recursos naturales productos de la actividad económica del ser humano que se dan tanto en México como en el mundo, los cuales han provocado un aumento en los índices de extinción de diversas especies, surgió el interés de realizar la presente investigación que está enfocada en especial a la especie de mono araña *Ateles geoffroyi*.

La reproducción es fundamental para la existencia continua de una especie y una herramienta para preservar especies amenazadas. Por esta

razón es que estudios como el que se realizó son de vital importancia pues gracias a ellos, se pueden implementar programas exitosos de reproducción.

La evaluación de diversos patrones y parámetros reproductivos de los machos y las hembras es el primer paso para implementar estrategias que ayuden a incrementar el porcentaje de nacimientos en condiciones de cautiverio. Se deben valorar las funciones reproductivas en la hembra, características anatomofisiológicas del aparato reproductor del macho así como la evaluación del semen. Toda esta información proporcionará las bases para establecer programas reproductivos como podría ser la inseminación, fertilización *in vitro*, transferencia de embriones, entre otros, en las especies que así lo requieran.

Para el presente trabajo, se hizo una evaluación de la función testicular en el mono araña, examinando las características del semen, midiendo el volumen testicular y los niveles de testosterona sanguínea. Cabe señalar, que algunos de los sujetos incluidos para este estudio se están reproduciendo en cautiverio, por lo que la información obtenida en el presente trabajo, podrá ser de gran utilidad para futuros programas de reproducción asistida. A la fecha no hay antecedentes de este tipo de estudios con esta especie.

➤ 1.1 Descripción general de la especie.

Los miembros del género *Ateles* son primates neotropicales grandes y actualmente existe incertidumbre respecto al número de especies que conforman el género. Las diferencias entre especies y subespecies están basadas casi completamente en características del pelaje. Estas características son variables dentro de las poblaciones y puede haber grados intermedios entre poblaciones en distintas partes de su ámbito de

distribución (8). A pesar de todo esto, aún se continúa utilizando la lista reconocida por Kellogg y Goldman (1944; ver cuadro 1) (30, 17).

Cuadro 1.- Clasificación taxonómica de los monos araña (*Ateles geoffroyi*)

Reino: Animal
Phylum: Chordata
Subphylum: Vertebrata
Clase: Mammalia
Subclase: Theria (Placentalia)
Intrafase: Eutheria (Verdaderos placentados)
Orden: Primates
Suborden: Anthropoidea
Infraorden: Platyrrhini
Superfamilia: Ceboidea
Familia: Cebidae
Subfamilia: Atelinae
Género: *Ateles*
Especie: *A. geoffroyi*
 A. fusciceps
 A. belzabuth
 A. paniscus

Subespecie:
 A. g. geoffroyi
 A. g. azuerensis
 A. g. frontatus
 A. g. grisenscens
 A. g. pan
 A. g. panamensis
 A. g. ornatus
 A. g. vellerosus
 A. g. yucatanensis

 A. f. fusciceps
 A. f. robustus

 A. b. belzabuth
 A. b. hybridus
 A. b. marginatus

 A. p. paniscus
 A. p. chamek

Fuente: Kellogg y Goldman (1944)

En México habita la especie *A. geoffroyi*, representada por dos subespecies, *A. g. vellerosus* que se limita geográficamente a los estados mexicanos de Veracruz; Tabasco; Oaxaca y Chiapas; y *A. g. yucatanensis* que habita en la península de Yucatán (8).

➤ 1.2 Comportamiento social y reproductivo.

Son de hábitos principalmente arborícolas y casi nunca bajan al suelo, viven en grupos de 17 a 20 individuos que se fragmentan en subgrupos de tamaño y composición variable. Los subgrupos pueden estar compuestos de machos y hembras adultos, juveniles e infantes, agrupaciones sin machos, o bien, únicamente de machos adultos, con un tamaño de uno a tres individuos. La única asociación persistente es la de una hembra con su cría (30). La proporción sexual en adultos (machos/hembras) se ha estimado en 1:1.56 en Los Tuxtlas (42). Los machos adultos cooperan en la defensa territorial patrullando y ejecutando conductas agonísticas a larga distancia (30).

Los monos araña son frugívoros y se alimentan mayormente de las partes suaves y maduras de una amplia variedad de frutos; sin embargo, comen con menor frecuencia otras partes de las plantas, particularmente hojas jóvenes, flores, corteza y madera en descomposición. Así mismo, complementan su dieta con semillas jóvenes, hojas, raíces aéreas, miel e insectos. La prevalencia de los frutos en la dieta de estos primates varía entre 81-90% (30).

Durante la primera parte de la infancia, la madre lleva permanentemente al infante sobre su vientre. Después de 5 meses el infante pasa al dorso de la madre y poco a poco comienza a independizarse (30). Aunque los individuos juveniles se desplazan independientemente durante la progresión del grupo, permanecen cerca de la madre y todavía se amamantan. El destete ocurre regularmente alrededor de los 36 meses de edad, siendo muy dependientes de la leche materna cuando menos por dos años (29).

Existe una clasificación de los individuos de acuerdo a su edad: se consideran Juvenil 1 aquellos que se encuentren entre los 12 y 24 meses de edad. Son Juveniles 2, los que están entre 24 y 36 meses, Juveniles 3

los que están entre 36 y 50 meses y como Subadultos lo que están entre los 50 y 60 meses. Los machos subadultos ya participan en todas las actividades de machos adultos, incluyendo la cópula, mientras que al final de esta etapa las hembras tiene su primer ciclo menstrual (30). La longevidad reproductiva no se conoce con precisión; sin embargo, se ha reportado el nacimiento de una cría en cautiverio que ocurrió cuando su madre tenía 15 años y otro registrado en condiciones silvestres en el cual el nacimiento fue cuando la madre tenía 22 años de edad (8).

Silva-López (1987,1988) menciona que en Los Tuxtlas, Veracruz, tanto los infantes como las hembras preñadas son vistas más a menudo en los meses de mayo y junio, cuando inicia la temporada lluviosa. Un trabajo realizado en uno de los fragmentos estudiados por ese autor revela que el mayor consumo de frutos por los monos se observó entre los meses de agosto y octubre, por lo que consideramos podría ser una temporada con una mayor disponibilidad de recursos alimenticios ricos en energía, lo cual sería un recurso valioso para hembras con parto reciente e hijos lactantes.

El periodo de gestación ha sido observado en poblaciones cautivas y tiene una duración de 226 a 232 días. El intervalo entre nacimientos de acuerdo con varios autores puede variar entre 17 y 45 meses. Por lo general, las hembras paren una sola cría en cada ocasión, el ciclo menstrual dura de 23 a 27 días (30, 17).

► 1.3 Fisiología reproductiva

La reproducción es esencial para la continuidad de las especies. Para la evaluación de la fisiología reproductiva en los machos, se han establecido protocolos que pueden ser adaptados y usados para colectar, evaluar, procesar y entender la función y calidad de los espermatozoides. Sin embargo, la eficiencia reproductiva en los machos también está

influenciada por la actividad endócrina, las hormonas manejan el éxito reproductivo (46).

El testículo de un macho adulto tiene dos importantes funciones: la producción de espermatozoides (función exócrina) y la secreción de testosterona (función endocrina), la cual es necesaria para la expresión de los caracteres secundarios masculinos (16).

1.3.1 Anatomía del órgano sexual masculino.

Los testículos son los órganos primarios de reproducción en el macho, está formado por túbulos seminíferos espiralizados, en los cuales se producen espermatozoides. Estos pasan a continuación al epidídimo que se prolonga en el conducto deferente, se ensancha constituyendo la ampolla. Una vesícula seminal a cada lado de la próstata se vacía en el extremo prostático de la ampolla; el contenido de la ampolla y la vesícula prostática pasan al conducto eyaculador que atraviesa el cuerpo de la glándula prostática para vaciarse en la uretra interna. Los conductos prostáticos, a su vez, se vacían en el conducto eyaculador. La uretra constituye la última etapa de unión entre el testículo y el exterior (16).

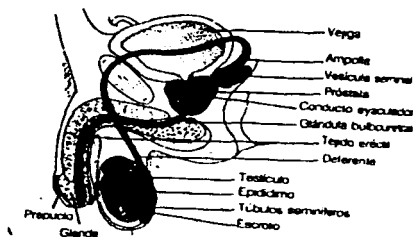


Fig. 1 Sistema reproductor masculino del humano (16).

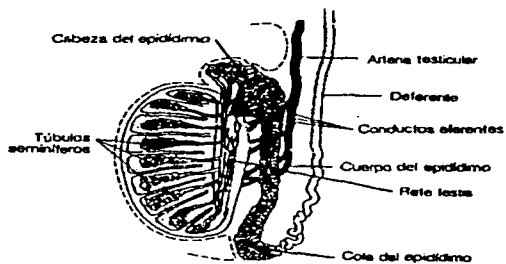


Fig. 2 Estructura interna del testículo y sus relaciones con el epidídimo (16).

1.3.2 Espermatogénesis

La espermatogénesis es un continuo proceso dinámico por el cual células germinales primitivas proliferan y maduran en un espermatozoide y se produce en todos los túbulos seminíferos durante la vida sexual activa. La testosterona es secretada por las células de Leydig (que se encuentran en el intersticio testicular) bajo la estimulación de LH y es esencial para promover la espermatogénesis (28). En mono araña no se tiene reportes sobre la duración de la espermatogénesis; sin embargo, para otras especies de primates como mono ardilla (*Saimiri sciureus*) se calculó en 30.5 días al igual que para el papión (*Papio xynocephalus*), para el mono verde africano (*Cercopithecus sabaeus*) una duración de 30-31 días y para mono rhesus (*Macacus mulatta*) 28.5 días (1).

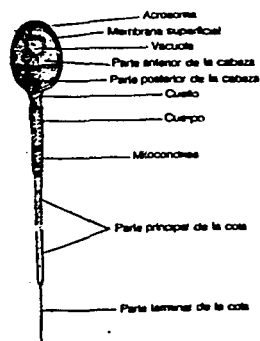


Fig. 3 Estructura del espermatozoide (16)

El eyaculado seminal es un compuesto de contribuciones de los testículos, de los ductos excurrentes y de las glándulas sexuales accesorias. La muestra seminal refleja la función de cada parte del tracto reproductor y sus interacciones con todas las demás (27).

1.3.3 Colección y análisis del semen.

Aunque se ha publicado diversos trabajos sobre las características del eyaculado en ciertas especies como lobos, zorros, osos y gatos; es poco aún lo que se conoce sobre la fisiología de los gametos y su habilidad para fertilizar. Sin embargo estos estudios han demostrado: 1) que las características del semen y su respuesta a los diferentes métodos de colección son específicas a cada especie, 2) el semen es sensible al anejo y su viabilidad depende del mismo; y 3) en muchas especies de felinos se han encontrado altos porcentajes de anomalías espermáticas los cuales tienen una relación con la pérdida de variación genética. A

pesar de que se considera importante la evaluación de las características del semen, éstas no permiten evaluar directamente la fertilidad (20).

Los espermatozoides pueden ser obtenidos por medio de numerosas técnicas de recolección que incluyen métodos sin eyaculación como son: recobrarlos directamente de los ductos deferentes y cauda del epidídimo post mortem o con masaje vía rectal. O bien, con métodos de eyaculación como son: recobrar el semen post coito, con manipulación digital, utilizando una vagina artificial o la electroeyaculación (20).

La electroeyaculación es un método apropiado para especies silvestres debido a que se realiza con el animal anestesiado. La técnica incluye la estimulación de los nervios que regulan los órganos reproductores por medio de débiles corrientes de electricidad. Estudios en hurones han demostrado que el número de espermatozoides colectados por electroeyaculación son similares a los encontrados en los ductos deferentes y cauda del epidídimo post mortem (20).

En primates se han descrito colecciones de semen mediante entrenamientos a los individuos para colectarlo por manipulación de genitales (6, 25, 26), utilizando vagina artificial (44) y lavado vaginal post-coito (31). Analizando las características del semen en trabajos que utilizan la electroeyaculación y los que obtienen las muestras con otros medios, se ha visto que la calidad del semen si se ve afectada por el método de colección siendo de mejor calidad en las que no se utiliza la electroeyaculación. Sin embargo, se han obtenido buenos resultados en la criopreservación e inseminación de muestras obtenidas mediante este método (32). En el caso del mono araña, no se tiene ningún reporte comparativo, pero por la dificultad en el manejo de los animales, el único método accesible es la electroeyaculación.

En 1963 Mastroianni y Manson describen por primera vez un reporte de electroeyaculación en monos y en 1965, Weisbroth y Young utilizan por vez primera la sonda rectal para dar la estimulación (45).

HIPÓTESIS

Se espera que la calidad del semen (concentración espermática, movilidad y morfología) de monos araña (*Ateles geoffroyi*) tenga una relación directa con los niveles de testosterona en sangre.

OBJETIVOS

► Objetivo General.

Obtener información sobre las concentraciones de testosterona en sangre, así como realizar la evaluación de las características macroscópicas (volumen), y microscópicas (concentración espermática, movilidad y morfología) del semen del mono araña (*Ateles geoffroyi*) adulto mantenido en condiciones de cautiverio.

► Objetivos Particulares:

1. Establecer una técnica de electroeyaculación en mono araña.
2. Conocer si existe una relación entre los niveles de testosterona sanguínea y la concentración, movilidad y morfología espermática en el mono araña.
3. Conocer si existe una relación entre la edad del individuo y la concentración, movilidad y morfología espermática en el mono araña.
4. Conocer si existe una relación entre el volumen testicular total y la concentración, movilidad y morfología espermática en el mono araña.

MATERIALES Y METODOLOGIA.

El estudio se llevó a cabo en el Parque de la Flora y Fauna Silvestre Tropical que está a cargo de la Universidad Veracruzana y se encuentra ubicado en Catemaco, Veracruz; México. Catemaco colinda al norte con el municipio de San Andrés Tuxtla y el Golfo de México; al este con los municipios de Mecayapan y Soteapan; al sur con los municipios de Soteapan y Hueyapan de Ocampo; al oeste con el municipio de San Andrés Tuxtla. Se encuentra a 340 msnm. y ocupa el 0.62% de la superficie del estado. El 74.14 % de la superficie municipal tiene un clima calido húmedo con lluvias todo el año (Af), el 22.99% con clima calido húmedo con abundantes lluvias en verano (Am) y solo el 2.87% con clima semicálido con lluvias todo el año (ACf). La temperatura promedio anual es de 24.4°C y una precipitación total anual de 2, 038.3 milímetros (21).

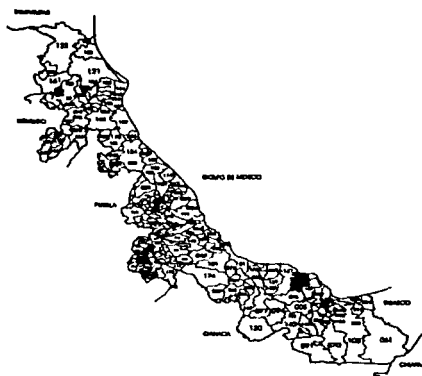
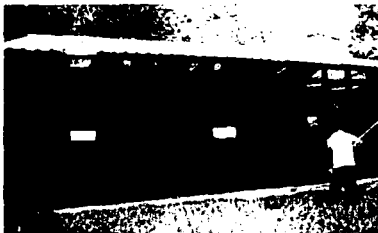


Fig.4 Mapa del Edo. de Veracruz e indicado con negro el municipio de Catemaco (21).

El parque cuenta con un encierro que alberga a un grupo estable y mixto de monos araña (*Ateles geoffroyi*) 9 machos y 6 hembras entre infantes y adultos, todos fueron capturados para comercio ilegal y posteriormente decomisados y resguardados en el parque. Para el presente trabajo solo se tomaron en cuenta 8 machos maduros sexualmente cuyas edades se establecieron a partir de su donación al parque. Al inicio de la presente investigación contaban con las siguientes edades:

MONO	EDAD APROX.
Toño	60 meses (5 años)
Niko	84 meses (7 años)
Moncho	168 meses (14 años)
Negro II	180 meses (15 años)
Javier	180 meses (15 años)
Negro I	204 meses (17 años)
Macuille	240 meses (20 años)
Tino	240 meses (20 años)

Las características físicas del encierro son un área rectangular de 15 x 7 m dividido por un pasillo de manejo de 1m de ancho que forma dos grandes encierros, ambos se encuentran subdivididos en 6 espacios de 3 x 2.5 m que pueden ser comunicados entre si por medio de ventanas corredizas. La altura de la jaula es de 3 metros en su parte más alta y de 2.4 m en su parte más baja, para dar la forma de un techo de "dos aguas". La base es por completo de concreto hasta 60 cm de altura, para cubrir el resto de la estructura con malla ciclónica.



(a)



(b)

Figuras 5 y 6. Encierros de los animales a lo largo (a) y a lo ancho (b).

La alimentación básica de estos monos consta de frutas y vegetales como son naranja, papaya, plátano, piña, mango, manzanas, jícama, tomates, apio, betabel y acelga, entre otros, dependiendo de la época del año. Se les da comida una vez al día durante la mañana y no es necesario poner agua pues la adquieren de las frutas que consumen. En época de mucho calor, y si los animales se ven decaídos, se les da suero oral ayudados con jeringas. Solo en caso que hayan padecido alguna enfermedad respiratoria o diarrea, además del tratamiento correspondiente, son suplementados con productos comerciales como "Ensure" que son ricos en nutrientes.

Antes de iniciar el trabajo de campo se recibió un entrenamiento durante 4 meses en el Hospital de la Nutrición Salvador Zubirán DF., México en el laboratorio de Biología de la Reproducción para la evaluación de la calidad del semen.

> 4.1 DISEÑO EXPERIMENTAL.

Para el presente trabajo, se realizaron 4 muestreos en los cuales se colectó el semen y la sangre a cada animal con un intervalo de 2 meses entre cada uno.

• 4.1.1 Anestesia.

Los animales fueron anestesiados dentro de su encierro utilizando equipo de inyección remota usando como preanestésico Clorhidrato de ketamina con una dosis de 5-10 mg/kg (Imalgen 1000®) vía intramuscular (IM) para ser colocados en una jaula y ser trasladados hasta el laboratorio donde se cuenta con el equipo y las condiciones necesarias para trabajar. El transporte duró 20 minutos en promedio y una vez en el laboratorio, los animales fueron anestesiados nuevamente utilizando Tiletamina-Zolazepam con una dosis de 5 mg/kg (Zoletil®) IM. La razón de usar éste último durante la obtención de las muestras, fue por sus propiedades como relajante muscular que es un requisito indispensable para tener una buena contracción muscular al momento de dar los estímulos eléctricos durante la electroeyaculación, y además por su alto rango de seguridad para utilizarse en primates (4, 20). Cabe mencionar que la relajación muscular producida por el anestésico también puede relajar los músculos alrededor de la vejiga y por lo tanto se corre el riesgo de contaminación de la muestra con orina, como ha ocurrido con otras especies como son caninos y felinos entre otros. Sin embargo, el riesgo que se corre es independiente a la elección del anestésico debido a que es causado por la cercanía de la vía neuronal proximal que controla la función vesical y las de eyaculación (20).

• 4.1.2 Colección de sangre.

Bajo los efectos de la anestesia, el animal fue pesado y se procedió a tomar una muestra de sangre (5-8 ml) colectada de la vena coccigea en la mayoría de los casos y de la vena femoral en aquellos dónde no se obtuvo de la coccigea. La sangre fue almacenada en un tubo vacutainer y centrifugada a 2000 rpm. durante 15 minutos. El suero fue depositado en viales y congelado a -20°C para posteriormente cuantificar los niveles de testosterona,

• 4.1.3 Medición testicular.

Se tomaron las dimensiones del testículo derecho y del izquierdo (ancho, largo y profundidad) con ayuda de un vernier para posteriormente calcular el volumen de cada uno, usando la fórmula para obtener el volumen de un cuerpo elíptico:

$$\pi \times \text{ancho} \times \text{largo} \times \text{profundidad} \quad (9)$$

6

Fue sumado el volumen del testículo derecho e izquierdo para obtener el Volumen Testicular Total en cada manejo.



(a)



(b)

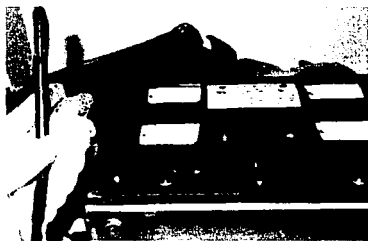
Figuras 7 y 8. Medición testicular a lo largo (a) y a lo ancho (b)

TEJIS CON
FALLA DE ORIGEN

• 4.1.4 Electroeyaculación.

Para obtener la muestra de semen, se empleó el método de electroeyaculación que ha sido anteriormente descrito para otras especies de primates (1, 2, 3, 10, 15, 18, 19, 22, 23, 24, 32, 38, 43, 45) pero al no tener ninguna referencia específicamente en mono araña (*Ateles geoffroyi*), se adaptó parte de la información para crear un protocolo para esta especie.

El pene fue limpiado con una gasa con agua para evitar posible contaminación de la muestra y se colocó al mono sobre una mesa para auscultación en posición decúbito lateral. Se utilizó una sonda de 1 cm de diámetro que cuenta con 3 electrodos longitudinales de cobre de 3 cm. Suavemente se insertó la sonda (previamente lubricada con gel K-Y® Lab. Johnson and Johnson) dentro del recto con los electrodos dirigidos ventralmente.



(a)



(b)

Figuras 9 y 10. Electroeyaculador y sonda rectal de 1 cm con 3 electrodos longitudinales de 3 cm (a). Colocación de la sonda rectal con los electrodos ventrales (b).

Se colocó un vial estéril al final del pene y se comenzó con la serie de estímulos eléctricos que se dieron de la siguiente manera:

ESTIMULO	VOLTAJE (volts)
1	1
2	2
3	3
4	4
5	6
6	8
7	10

Cada estímulo tuvo una duración de 8-10 segundos y si era necesario dar varias series para obtener la muestra, se dejó un descanso de 1 minuto entre cada serie. Los estímulos se suspendían al presentarse la eyaculación.

• 4.1.5 Uso de Tripsina para el procesamiento del semen.

Se realizó un muestreo prueba para la obtención del semen, en el mes de febrero a Niko, Moncho, Tino y Negro II en el cual se identificó la presencia de un coágulo en el eyaculado situación que ha sido reportada en otros trabajos con primates (1, 2, 3, 10, 15, 18, 19, 22, 23, 24, 25, 26, 31, 32, 38, 43, 44, 45), además de una fracción líquida que tenía muy poca concentración espermática. En el presente trabajo no se incluyen los resultados de este muestreo debido a que no se pudo hacer un adecuado manejo de la muestra por la presencia del coágulo. En función de lo cual, se decidió utilizar Tripsina que es una de las enzimas pancreáticas más importantes junto con la quimi tripsina y la elastasa (14). Esta es una enzima proteolítica cristalizada que actúa en forma directa al hidrolizar las proteínas pero no afecta las células vivas (5), se ha reportado su uso en otras especies de primates por su ayuda en la licuefacción del

coágulo (10, 18, 22, 25, 26, 32, 38). Para esta investigación se utilizó una Tripsina de páncreas bovino, liofilizada y adquirida a través del laboratorio SIGMA® a una concentración del 10% (100 mg/ml) disuelta en Solución Salina Fisiológica (SSF) (Comunicación personal: Dr. Vicente Díaz Sánchez).

En el primer muestreo, la Tripsina se utilizó de manera proporcional, añadiendo una cantidad correspondiente a la mitad del volumen total obtenido en el eyaculado (Ejemplo: si se tenía una muestra de 1 ml se añadía 0.5 ml de tripsina al 10%). Para el segundo muestreo fue necesario agregar una mayor cantidad para que la tripsina cumpliera su función. Esto fue debido a que se utilizó la solución de enzima congelada, lo cual posiblemente afectó su composición. Para el 3er y 4º muestreo, se agregó 0.1 ml de tripsina recién preparada a cada muestra sin importar el volumen que esta tuviera, solo en los casos en que no fuera suficiente para disolver el coágulo, se añadió 0.1 ml extra.

• **4.1.6 Determinación para el volumen del eyaculado.**

Una vez que el coágulo era disuelto, se procedió a la evaluación macroscópica del semen que constó en la obtención del volumen de la muestra eyaculada mezclada con el volumen conocido de tripsina. Al volumen obtenido, se le restó el volumen agregado de tripsina y de esa forma se determinó el volumen del eyaculado, la obtención del volumen en todos los casos se realizó con la ayuda de pipetas volumétricas.

• **4.1.7 Determinación de la concentración espermática.**

Evaluación microscópica: la concentración espermática se obtuvo a partir de una muestra de 10µl de la mezcla del eyaculado con la tripsina, evaluación a través de un microscopio con un lente 40X. El conteo de los

espermatozoides se realizó a través de la técnica de conteo rápido, la cual consiste en ir registrando con un contador de células la presencia de espermatozoides a partir de un movimiento de zigzag realizado con los ojos en un solo campo de observación (Comunicación personal: Dr. Vicente Díaz Sánchez).

Una vez hecho el conteo, se multiplicó la concentración espermática por el volumen obtenido del eyaculado con la tripsina para determinar el número total de espermatozoides en el eyaculado. Posteriormente se dividió el número total de espermatozoides entre el volumen real eyaculado (sin volumen de tripsina) para determinar la verdadera concentración de espermatozoides (10^6 espermatozoides/ml).

• 4.1.8 Determinación de la movilidad.

La movilidad se evaluó con el objetivo 40X observando el movimiento de 100 espermatozoides en una muestra de 10 μ l sobre un portaobjetos. Se clasificaron según su movilidad en los tipos a, b, c o d de acuerdo al siguiente criterio:

A: movilidad progresiva rápida

B: movilidad progresiva lenta

C: movilidad no progresiva

D: inmóviles

El Índice de Movilidad (I.M.) es la suma de los espermatozoides que se encuentran en la categoría A y B proporcionando el % de espermatozoides que tienen movilidad progresiva en la muestra:

$$I. M. = A + B.$$

• 4.1.9 Determinación de la morfología.

La morfología fue evaluada con el objetivo 100X en la misma muestra que la movilidad pero agregando aceite de inmersión sobre la laminilla. En este caso se evaluaron 100 espermatozoides y se clasificaron con el siguiente criterio:

- A: formas normales
- B: defectos de cabeza
- C: defectos de pieza media
- D: defectos de cola

Tanto la movilidad como la morfología fueron evaluadas según los criterios del "Manual de Laboratorio de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical" (33).

• 4.1.10 Determinación de Testosterona sanguínea.

Para cuantificar los niveles de testosterona, se utilizó la técnica de quimioluminiscencia que se realiza con el equipo IMMULITE que se encuentra en el Hospital de la Nutrición "Salvador Zubirán". Las muestras de suero fueron transportadas de Catemaco al D.F. utilizando hielo seco para posteriormente, ser descongeladas a temperatura ambiente en el laboratorio minutos antes de ser analizadas.

IMMULITE Testosterona Total es un análisis enzimoimmométrico quimioluminiscente competitivo. La fase sólida es una bola de poliestireno encerrada dentro de la Unidad de Reacción del IMMULITE que está recubierta con un anticuerpo policlonal de conejo específico para Testosterona. El suero y la testosterona marcada con el ligando se introducen simultáneamente (20µl) en la Unidad de Reacción, incubándose durante 30 minutos a 37°C con agitación intermitente. Durante este tiempo

la testosterona presente en la muestra compete con la testosterona marcada con ligando por un número limitado de sitios de unión al anticuerpo de la fase sólida. El material no ligado se elimina por un lavado con centrifugación (11).

Se introduce un antiligado marcado con fosfatasa alcalina y la Unidad de Reacción es incubada durante un nuevo ciclo de 30 minutos. El conjugado no ligado se elimina por lavado con centrifugación. Se añade entonces el sustrato de la Unidad de Reacción y se incuba durante 10 minutos más (11).

El sustrato quimioluminiscente es un éster fosfato de adamantil dioxetano, el cual sufre hidrólisis en presencia de la fosfatasa alcalina para generar un producto intermedio inestable. La producción continua de este producto intermedio resulta en una emisión mantenida de luz. El complejo ligado es inversamente proporcional a la concentración de testosterona, es a través de esto que se determina la concentración de testosterona en el suero reportada en ng/ml (11).

• 4.2 Análisis estadístico.

Para determinar la existencia de relación entre los parámetros edad, volumen testicular total, concentración espermática, movilidad, morfología y testosterona sanguínea, se utilizó una correlación de Pearson con un α de 0.1.

Con el interés de conocer si existe un posible efecto estacional para los parámetros: volumen testicular total, movilidad, concentración espermática, morfología, volumen del eyaculado y testosterona sanguínea en el periodo de los 8 meses de estudio, se utilizó un Análisis de Varianza (ANDEVA) para un solo camino de clasificación y la comparación

entre meses se realizó a través de medias de mínimos cuadrados con un α de 0.1.

Los análisis anteriores y la estadística descriptiva fueron realizados con el paquete estadístico SAS (40).

RESULTADOS.

• 5.1 Técnica de Electroeyaculación.

Una vez establecida la técnica de electroeyaculación descrita anteriormente, fue aplicada en 31 ocasiones en total para la realización de este trabajo. De estos 31 intentos por recolectar semen, se obtuvo una muestra en 25 ocasiones (80.64%) y no se logró colectar en 6 (19.36%). Los resultados se pueden ver en la figura 11.

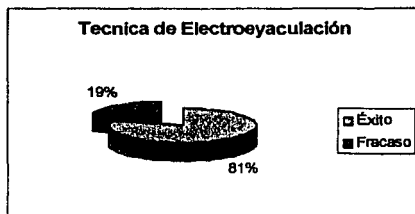


Fig. 11 Porcentajes de éxito y fracaso para la colección de semen en mono araña (*Ateles geoffroyi*) utilizando el método de electroeyaculación.

De los 25 muestreos en que se logró obtener semen, en la mayoría de los casos, se aplicaron varias series de estímulos eléctricos a cada individuo de la forma que se describió en la metodología. En 4 de los 25 muestreos se aplicó una sola serie (16%), en 12 se tuvieron que aplicar 2 series (48%), 7 veces se aplicaron 3 series (28%) y en 2 ocasiones se aplicaron 4 series hasta obtener el eyaculado (8%). La distribución y los porcentajes en que se dieron las series de estímulos hasta obtener la muestra se observan en la figura 12.

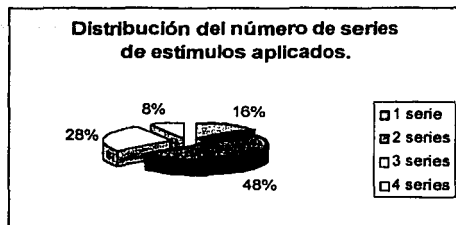


Fig. 12 Porcentajes del número de series aplicadas durante la electroeyaculación exitosa.

De los 25 muestreos en que se colectó semen, el voltaje en el cual se obtuvo la muestra se distribuye de la siguiente manera: en 1 muestreo el animal eyaculó con 4 volts (4%), en otro eyaculó con 6 volts (4%), en 5 eyacularon con 8 volts (20%) y en 18 de los 25 eyacularon con 10 volts (72%). Los resultados se pueden observar en la figura 13.

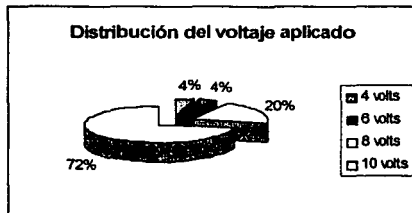


Fig. 13 Porcentajes en la distribución del número de voltaje durante la electroeyaculación exitosa.

Las 6 ocasiones en que no se obtuvo muestra, se dieron hasta 4 series completas. Al no colectar el semen se suspendieron las series de estímulos y se dejó descansar al individuo y se registró como muestra no colectada.

• **5.2 Descripción de la calidad del semen en mono araña (*A. geoffroyi*).**

Tomando en cuenta que el sujeto de estudio para este trabajo es el semen del mono araña y los niveles de testosterona sanguínea, se tomó

como población a cada uno de los registros que se obtuvieron para cada parámetro a evaluar. Por lo tanto, después del análisis estadístico a los datos recolectados, se obtuvieron los siguientes resultados.

El promedio para el parámetro edad (n=32) fue de 173.25 ± 11.12 meses. En el caso del Volumen Testicular Total (n=31) se obtuvo un promedio de $17.26 \pm 0.86 \text{ cm}^3$, para los valores de testosterona sanguínea (n=31) se encontró un promedio de $2.58 \pm 0.30 \text{ ng/ml}$.

En lo que se refiere a la evaluación del semen, para cada parámetro evaluado se tuvo una n=25 y los resultados son los siguientes: Volumen del eyaculado, se obtuvo un promedio de $0.50 \pm 0.04 \text{ ml}$, para Concentración espermática se tiene un promedio de $90.23 \pm 9.17 \times 10^6$ espermatozoides/ml, para I.M. se tiene un promedio de $69.68 \pm 3.27\%$ y para Morfología normal se tiene un promedio de $75.56 \pm 2.54\%$. (Cuadro 2).

Cuadro 2.- Descripción de la población de muestras obtenidas a partir de 8 monos araña (*Ateles geoffrogi*).

PARÁMETRO	# DE MUESTRAS	PROMEDIO Y ERROR ESTANDAR.	DEV. ESTANDAR
Edad (meses)	32	173.25 ± 11.12	62.94
Peso (Kg.)	31	5.44 ± 0.18	1.03
Volumen Testículo Izquierdo (cm^3)	31	8.74 ± 0.49	2.74
Volumen Testículo Derecho (cm^3)	31	8.38 ± 0.42	2.37
Volumen Testicular Total (cm^3)	31	17.26 ± 0.86	4.81
Volumen del eyaculado (ml)	25	0.50 ± 0.04	0.24
Concentración espermática (millones/ml)	25	90.23 ± 9.17	45.86
% de Índice de Movilidad	25	69.68 ± 3.27	16.35
% Morfología normal	25	75.56 ± 2.54	12.74
Testosterona ng/ml	31	2.58 ± 0.30	1.72

Utilizando a las muestras como población se buscó la relación entre diferentes variables de interés, se contó con una n=25 para cada una y los resultados se pueden observar en el cuadro #3.

Cuadro 3.- Cálculo de las correlaciones (r) y sus niveles de significancia (p) entre las variables de interés tomando como población a las muestras.

	Concentración Espermática	Movilidad	Morfología
Testosterona Sanguinea	0.20 (p=0.33)	-0.02 (p=0.91)	-0.11 (p=0.58)
Edad	-0.05 (p=0.79)	0.14 (p=0.48)	-0.02 (p=0.89)
Vol. Testicular Total	-0.33 (p=0.09)	-0.08 (p=0.67)	-0.10 (p=0.61)

Aunque el sujeto de estudio para este trabajo fue el semen del mono araña (*Ateles geoffroyi*) y sus niveles de testosterona sanguínea, no se puede dejar de considerar que las muestras fueron tomadas de una población de 8 monos con diferentes edades, jerarquías sociales y otras características propias de cada individuo. Por lo tanto para cada animal, se calculó el promedio y error estándar de cada variable que se evaluó y así se obtuvo una descripción de estas características por individuo. Los resultados se pueden apreciar en los siguientes cuadros:

Cuadro 4.- Descripción de las características generales evaluadas para cada individuo, edad (meses), peso (kg), volumen testicular total (cm³), niveles de testosterona en sangre (ng/ml).

Identif.	N=	Edad (mes)	Peso (kg)	Vol. Testic. Total (cm ³)	Testos. (ng/ml)
Toño	4	63.75	4.15 ± 0.06	13.87 ± 0.65	3.05 ± 1.11
Niko	4	87.75	5.75 ± 0.27	13.15 ± 1.05	3.24 ± 0.76
Moncho	4	171.75	6.1 ± 0.07	18.45 ± 1.38	3.58 ± 0.41
Negro II	4	183.75	4.8 ± 0.14	18.49 ± 0.53	1.89 ± 0.43
Javier	4	183.75	6.8 ± 0.21	26.58 ± 0.89	3.60 ± 1.47
Negro I	4	207.75	4 ± 0	12.40 ± 1.26	1.69 ± 0.28
Macuile	3	243	6.1 ± 0.55	20.19 ± 0.43	0.58 ± 0.34
Tino	4	243.75	5.98 ± 0.02	15.76 ± 1.24	2.58 ± 0.78
PROMEDIO		173.28	5.46 ± 0.36	17.36 ± 1.65	2.52 ± 0.37

Cuadro 5.- Descripción de las evaluaciones a las muestras de semen: volumen del eyaculado (ml), concentración espermática (mill/ml), % índice de movilidad, % morfología normal.

Identif.	Nº	Vol. Eyac (ml)	Concentr. (mill/ml)	% Índice Movilidad	% Morfo. Normal
Toño	4	0.26 ± 0.06	92.93± 11.08	63	77.25
Niko	3	0.33 ± 0.08	125 ± 35.89	71	77
Moncho	3	0.52 ± 0.06	91.41± 31.48	69	68.66
Negro II	3	0.56 ± 0.04	34.25 ± 6.91	82	89
Javier	4	0.87 ± 0.07	66.05 ± 14.08	63	72.25
Negro I	3	0.41 ± 0.20	95.06 ± 29.41	66	62
Macuile	2	0.47 ± 0.12	106.6± 44.89	75	82
Tino	3	0.52 ± 0.04	123.24 ± 26.20	74	79
PROMEDIO		0.49 ± 0.06	91.83 ± 10.61	70.37	75.89

A los promedios obtenidos para cada individuo se le realizaron pruebas estadísticas para saber si había relación entre las variables de interés utilizando los 8 registros que se tienen de cada uno y los resultados se pueden ver en el cuadro #6.

Cuadro 6.- Cálculo de las correlaciones (r) y sus niveles de significancia (p) entre las variables de interés tomando como población al individuo.

	Concentración Espermática	Movilidad	Morfología
Testosterona Sanguínea	0.18 (p=0.65)	-0.58 (p=0.12)	-0.29 (p=0.48)
Edad	0.57 (p=0.13)	0.40 (p=0.31)	0.01 (p=0.98)
Vol. Testicular Total	0.35 (p=0.38)	-0.01 (p=0.96)	0.16 (p=0.69)

• 5.3 Estacionalidad

Con el fin de conocer si dentro del periodo de 8 meses en los cuales se colectaron las muestras pudiera haber uno en especial en el cual las características en el semen o los niveles de testosterona fueron diferentes que en los otros, se realizó un análisis estadístico en el cual los resultados fueron los siguientes.

En cuanto a los parámetros volumen testicular total, movilidad, concentración espermática, morfología y volumen del eyaculado, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.1$) en el periodo de los 8 meses de estudio (Cuadros con los resultados del ANDEVA se pueden observar en el Anexo 1).

Para el caso de la testosterona, se encontró diferencia estadística ($p = 0.07$) que indica un posible efecto de estacionalidad. En el análisis se observa que en el mes de agosto se obtuvo el nivel de testosterona más alto en comparación a las otras 3 colectas. El promedio y desviación estándar del nivel de testosterona en las 4 colecciones hechas se puede observar en el cuadro # 8 y en la figura #14.

Cuadro 8.- Promedios \pm desviación estándar, de testosterona sanguínea obtenidos de 8 machos de mono araña (*Ateles geoffroyi*) sexualmente maduros durante 4 colecciones a lo largo de 8 meses.

MES	PROMEDIO ng/ml
Mayo (a)	2.34 \pm 1.48
Agosto (b)	4.06 \pm 1.69
Octubre (a)	2.03 \pm 1.61
Diciembre (a)	2.08 \pm 1.60

Literales distintas representan diferencia significativa ($p < 0.1$)

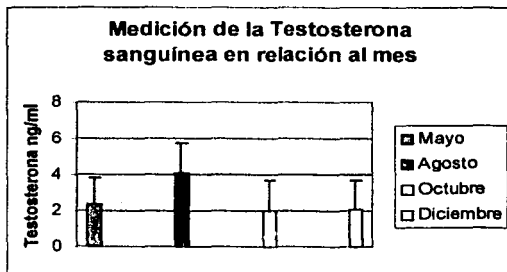


Fig. 11 Promedios \pm desviación estándar, de testosterona sanguínea obtenidos de 8 machos de mono araña (*Ateles geoffroyi*) sexualmente maduros durante 4 colecciones a lo largo de 8 meses.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los anestésicos y las dosis utilizadas durante el estudio funcionaron en forma adecuada; ya que mientras se trabajó con los animales, estos se encontraron relajados y las muestras no se contaminaron con orina a diferencia de lo publicado en otras especies animales (20). En los trabajos realizados con otras especies de primates, tampoco se reporta contaminación con orina utilizando la técnica de electroeyaculación (1, 2, 3, 15, 18, 19, 22, 23, 24, 32, 38, 43, 45). Con la excepción de un caso en que se sospechó de contaminación con orina y las muestras en esas condiciones fueron eliminadas (10).

Se considera que el protocolo de electroeyaculación planteado en el presente trabajo fue exitoso al haber obtenido el 81% de las muestras que se pretendía recolectar. No se encontraron explicaciones para el porcentaje de fracaso en la técnica debido a que no se hallaron variables que fueran constantes cada vez que no se colectó. Algunos factores que no se pueden controlar y que posiblemente explicaran esto son: el estrés del animal o si éste eyaculó por masturbación o cópula poco antes de la colecta.

A partir de las 25 colecciones de semen que se realizaron, el 76% eyacularon después de 2 y 3 series de series de estímulos. En 72% de las 25 colecciones, el eyaculado se dio al llegar a los 10 volts, estos datos pueden ser importantes para establecer futuros protocolos de electroeyaculación en el mono araña. El voltaje en el cual se obtuvo la muestra para el caso de los monos araña, es muy cercano a lo obtenido en las colecciones de semen para otras especies de primates en las cuales se colectaba la mayoría de las muestras entre los 7.4 a los 13.5 volts (2, 10, 15, 22, 23, 45).

Analizando las estimulaciones dadas por individuo para la electroeyaculación, no se observa un patrón estable para ninguno de

ellos. Esto es que la estimulación no depende de la edad o de características individuales.

Originalmente se esperaba contar con 32 registros para los parámetros de edad, volumen testicular total y testosterona, pero debido a un accidente durante el manejo, para los parámetros de volumen testicular y testosterona solo se tienen 31 registros.

El Volumen Testicular Total promedio fue de $17.26 \pm 0.86 \text{ cm}^3$ para los 31 registros. No se cuenta con mediciones previas en mono araña para poder comparar los datos obtenidos con este trabajo, pero la metodología que se utiliza en otras especies es la misma (fórmula de la elipse y sumando el volumen obtenido en ambos para calcular el volumen testicular total) (25).

El volumen promedio de eyaculado para esta población fue de $0.50 \pm 0.04 \text{ ml}$, mismo que fue fácilmente calculado con la ayuda de micropipetas. El volumen obtenido con los monos araña fue similar al que se ha reportado para otra especie de primate del nuevo mundo, el mono ardilla (*Saimiri sciureus*) en el cual se registran volúmenes desde 0.209 a 0.5 ml (3, 10). Para los primates del viejo mundo y simios se han registrado datos que van desde 0.56 a 6.1 ml (6, 22, 23, 25, 26, 43, 44, 45).

El uso del 10% de Tripsina mostró ser adecuado para la licuefacción del coágulo en el mono araña. Se recomienda disolverla momentos antes de utilizarla y no guardarla congelada pues puede sufrir cambios en su composición. No es necesario agregar un gran volumen para licuar la muestra, con 20 μl para cada muestra es suficiente, tomado en cuenta un volumen de 1 ml de eyaculado que fue el máximo obtenido durante este trabajo.

En el presente trabajo se utilizó una concentración muy alta de tripsina (10%) para romper el coágulo. En otros trabajos donde se ha

utilizado tripsina para la licuefacción, se reportaron concentraciones que van desde 0.5 a 2% en especies como: *Macaca mulatta*, *Macaca speciosa*, *Erythrocebus patas*, *Cercopithecus aethiops*, *Papio sp*, *Saimiri sciureus* y *Pan troglodytes*. En todos estos casos, se rompió el coágulo pero en la mayoría se incubó la muestra por periodos de 30-60 minutos a 37°C. En otros trabajos en los que se congelaron las muestras, se observó que el porcentaje de movilidad en las muestras y la morfología fueron afectadas por el uso de la tripsina (10, 18, 22, 25, 26, 32, 38). En las evaluaciones realizadas con el presente estudio, no fue necesario incubar la muestra y no se hizo evidente un daño a la movilidad y morfología. Resulta necesario realizar estudios más a fondo para poder conocer si la tripsina afecta el espermatozoide del mono araña y de que forma. Esto se podría lograr si se realizan evaluaciones morfológicas en las muestras antes y después de ser agregada la tripsina, también se podría evaluar el estado del acrosoma.

La cuenta espermática promedio encontrada en la población de muestras en mono araña fue de $90.23 \pm 9.17 \times 10^6$ espermatozoides/ml que está dentro del rango de concentración espermática reportada para otras especies de primates del Nuevo mundo como son: el mono ardilla (*Saimiri sciureus*) en el que se han publicado concentraciones que van de 2 a 532.8 x millones/ml (1, 2, 3, 10) y la marmoseta (*Callitrix jacchus*) para la cual la concentración espermática fue de 39-73 millones/ml (31).

En cuanto a movilidad y morfología, para esta población de muestras en mono araña, se obtuvo un I.M. de $69.68 \pm 3.27\%$ y una morfología normal de $75.56 \pm 2.54\%$. Estos valores de movilidad son mayores a los reportados para otros primates del nuevo mundo como el mono ardilla (68%) y marmosetas (65%) (10, 31). Los valores de movilidad para el mono araña quedan dentro del rango publicado para primates del viejo mundo y simios

que van desde 45% hasta 80% (6, 22, 25, 26, 38, 44). No existen datos sobre morfología para otros primates, pero se considera que el observado en este trabajo es adecuado si tomamos en cuenta que para el humano se considera que una muestra con un 30% de morfología normal es aceptable (33).

El método para evaluar la concentración espermática en este proyecto no fue el apropiado. Para que los valores puedan quedar respaldados científicamente se debe utilizar un hemocitómetro que es la herramienta adecuada para este fin. Sin embargo, a pesar de no haberse utilizado, los valores que se presentan en esta investigación son aproximados de los valores que se hubieran obtenido con la metodología adecuada, por lo tanto aportan una valiosa información sobre las características del semen del mono araña.

Tanto la concentración espermática como la movilidad encontradas, serían suficientes para ser usadas en futuros proyectos de inseminación artificial para la especie, si tomamos en cuenta que para otras especies en las que se ha congelado e incluso inseminado con resultados tan favorables como la gestación, se han utilizado concentraciones desde 15 a 120 millones/ml para primates del nuevo mundo (3, 31).

IMMULITE Testosterona Total es una técnica útil para obtener los niveles séricos de testosterona de una forma rápida y confiable debido a que el equipo es automatizado y por lo tanto elimina el error humano al procesar las muestras.

Los niveles de Testosterona Sanguínea promedio que fueron encontrados en la población de 31 muestras fue de 2.58 ± 0.30 ng/ml. Para el género *Ateles sp.* se registran niveles mucho más altos (13.9 ng/ml), no obstante no se especifica en el reporte el número de individuos utilizados ni las especificaciones durante la colección (7). Sin embargo, si se compara con los niveles obtenidos con el mono ardilla (4.7 y 5.58 ng/ml), los datos

obtenidos en este trabajo no están tan lejos, en dicha publicación también se señala una correlación positiva entre los niveles de testosterona, el volumen del eyaculado y concentración espermática, lo que no se observó en esta investigación (10). Es importante aclarar que tanto en el reporte con el género *Ateles* como con el mono ardilla, los niveles de testosterona en suero fueron obtenidos mediante la técnica de RIA lo que pudiera ser un factor que influya en los resultados.

La única asociación encontrada durante este proyecto fue entre el Volumen Testicular Total con la concentración espermática: $r=-0.33$ ($p=0.09$) utilizando 25 registros de la población de muestras para cada variable. Lo cual indica una tendencia que a menor volumen testicular, la concentración espermática (mill/ml) aumenta.

En la información obtenida por individuo, es evidente que los valores de Testosterona sanguínea más altos están en un rango de edad que va desde 63.7 hasta 183.7 meses de edad (Ver Cuadro #4). Por otro lado, no existe una correlación estadística entre estos valores: $r=-0.33$ ($p=0.41$). Sin embargo, tomando como población a las 31 muestras se encuentra una relación de $r=-0.30$ ($p=0.09$), lo que indicaría que existe una tendencia a que a menor edad, mayores niveles de Testosterona sanguínea. Es necesario tener una mayor cantidad de muestras para afirmar esto con seguridad.

En relación con la hipótesis planteada al inicio del trabajo, no se encontraron evidencias estadísticas que indiquen una relación entre los niveles de testosterona sanguínea y la calidad del semen del mono araña (*Ateles geoffroyi*) para los 8 machos mantenidos en condiciones de cautiverio en Catemaco, Veracruz. Por lo tanto, se considera que la información en ésta investigación es insuficiente para afirmar una relación entre dichos parámetros, es necesario realizar investigaciones en las cuales se cuente con un mayor registro de datos.

Con la información obtenida sobre los niveles de testosterona y la calidad del semen en el periodo de estudio que fue de 8 meses, no se puede afirmar con seguridad el que exista estacionalidad en la especie. Para esto se deben realizar colecciones de semen y sangre a lo largo de todo un año, también se pueden coleccionar muestras de heces u orina que es una manera no invasiva para poder medir hormonas reproductivas sin tener que anestesiar y manejar a los animales pudiendo así tener una mayor cantidad de muestras. En esa misma forma se podría medir cortisol para que de una manera indirecta se conozca si los animales se encuentran estresados, esto es importante pues puede ser un factor que altere la calidad del semen o el éxito o fracaso para una colección, además no existe mucha información en la especie con relación a este tema.

Sería importante también, evaluar en futuras investigaciones si las jerarquías sociales pudieran tener una influencia directa en la calidad espermática y niveles de testosterona.

En la actualidad, solo han sido descritos métodos de colección de semen y características del eyaculado para menos de 20 especies de primates de las 237 que se conocen (32), es por esta razón que la información aportada en la presente investigación puede contribuir a enriquecer la información sobre las características reproductivas en primates. Ahora se conoce más sobre las características del eyaculado en la especie, así que partiendo de esta información y apoyados con la experiencia de otras investigaciones, se puede considerar que el siguiente paso es desarrollar técnicas para criopreservar el semen y de esa manera formar bancos de genoma que permitan preservar el material genético por periodos de tiempo largos contribuyendo a la diversidad genética en futuras poblaciones de monos araña.

LITERATURA CITADA.

1. Barr A.B.: Timing of spermatogenesis in four nonhuman primate species. *Fertility and Sterility*. 24 (5): 381-389 (1973)
2. Bennett J.P.: Semen collection in the Squirrel monkey. *J. Reprod. Fert.* 13: 353-355 (1967).
3. Bennett J.P.: Artificial insemination of the Squirrel monkey. *J. Endocr.* 37: 473-474 (1967)
4. Booth N.H. and McDonald L.E.: Farmacología y terapéutica veterinaria Vol I Ed Acribia. España, 1988.
5. Bevan J.A.: Fundamentos de Farmacología. 2ª Edición. Ed. Earla pag. 713, 1982
6. Brown C.S. and Loskutoff N.M.: A training program for noninvasive semen collection in captive western lowland gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*). *Zoo biology*. 17: 143-151 (1998)
7. Coe C.L., Savage A. and Bromley LYN.J.: Phylogenetic influences on hormone levels across the primate order. *Am. J. of Primatology*. 28: 81-100 (1992)
8. Cortés O. L. y Rodríguez L. E.: *Ateles geoffroyi* (mono araña, chango) En: Historia natural de especies. En: Historia natural de los Tuxtlas. Editado por: González S. E., Dirzo R. y Vogt R.C., 616-622, México, 1997.
9. Courant R., John F.: Introducción al Cálculo y al Análisis Matemático Vol. II. Ed. Limusa, pag. 474. México, 1978.
10. Denis L.T., Poindexter A.N., Ritter M.B., Seager S.W.J., Deter R.L.: Freeze preservation of squirrel monkey sperm for use in timed fertilization studies. *Fertility and Sterility*. 27 (6): 723-729 (1976)
11. Diagnostic Products Corporation EURO/DPC: IMMULITE Testosterona. Los Angeles, 2000

12. Estrada A., Rodriguez L. E., López W. R., Coates E. R., II Simposio de primatología En: Estudios Primatológicos en México Vol. I, 9-36, Universidad Veracruzana, Xalapa, México, 1993
13. Estrada A. y Coates E.R., La contracción y fragmentación de las selvas y las poblaciones de primates silvestres: el caso de los Tuxtlas, Veracruz En: Estudios Primatológicos en México Vol. II, Editado por: Rodriguez L. E., Cortés O. L. y Martínez C. J., 25-59, Universidad Veracruzana, Xalapa, México, 1993
14. Fersht A.: Estructura y Mecanismo de los Enzimas. Ed. Reverté, pag. 16, 1980.
15. Gould K.G. and Mann D.R.: Comparison of electrostimulation methods for semen recovery in the Rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J. Med. Primatol.* 17: 95-103 (1988).
16. Guyton A.C.: Tratado de Fisiología Médica. 7ª. ed. Interamericana McGraw-Hill. México. 1992
17. Hernández L. L.E.: ¿Los monos araña hembra (*Ateles geoffroyi*) presentan ciclos menstruales o estrales? Elucidación mediante citología vaginal. Tesis de licenciatura. Fac. de Med, Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., 1995.
18. Hoskins, D.D. and Patterson, D.L.: Prevention of coagulum formation with recovery of motile spermatozoa from Rhesus monkey semen. *J. Reprod. Fert.* 13: 337-340 (1967)
19. Hoskins D.D. and Patterson D.L.: Metabolism of Rhesus monkey spermatozoa. *J. Reprod. Fert.* 16:183-195 (1968)
20. Howard J.: Semen collection and analysis in carnivores In: Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy 3 Edited by: Fowler M.E. 390-399 3ª ed. W.B. Sunderrs Company E.U., 1993

21. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática (INEGI): Cuaderno Estadístico Municipal: Catemaco Estado de Veracruz. México, 1998.
22. Kraemer D.C. and Vera Cruz N.C.: Collection, gross characteristics and freezing of Baboon semen. *J. Reprod. Fert.* 20: 345-348 (1969)
23. Mahone J.P., Dukelow W.R., Semen preservation in *Macaca fascicularis*. *American Association for Laboratory Animal Science.* 28 (5): 556-561 (1978)
24. Marshall G.R., Wickings E.J., Ludecke D.L. and Nieschlag E.: Stimulation of spermatogenesis in talk-sectioned rhesus monkeys by testosterone alone. *J. of Clin. Endocrinol. and Metab.* 57: 152-159 (1983)
25. Marson J., Meuris S., Moysan F., Gervais D., Cooper R.W., and Jouannet P.: Cellular and biochemical characteristics of semen obtained from pubertal chimpanzees by masturbation. *J. Reprod. Fert.* 82: 199-207 (1988)
26. Marson J., Gervais D., Meuris S., Cooper R.W. and Jouannet P.: Influence of ejaculation frequency on semen characteristics in chimpanzees (*Pan troglodytes*). *J. Reprod. Fert.* 85: 43-50 (1989)
27. McDonald L.E.: *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*. 4^a ed. Interamericana, México, 1989
28. McLachlan, R.I., Wreford, N.G., O'Donell, L., Kretser, D.M. and Robertson, D.M.: The endocrine regulation of spermatogenesis: independent roles for testosterone and FSH. *J. of Endocrinology.* 148:1-9 (1996)
29. Milton, K.: Estimates of reproductive parameters for free-ranging *Ateles geoffroyi*. *Primates* 22: 574-579 (1981)

30. Mittermeier A. R., Rylands B. A., Coimbra-Filho A., Fonseca A. B. G.: Ecology and Behavior of Neotropical Primates Vol. 2. Ed. World Wildlife Fund (WWF), Washington, D.C., 1988.
31. Morrell J.M., Nubbemeyer R., Heistermann M., Rosenbush J., Kuderling I., Holt W. and Hodges J.K.: Artificial insemination in *Callithrix jacchus* using fresh or cryopreserved sperm. *Animal Reproduction Science*. 52: 165-174 (1998)
32. Morrell J.M., and Hodges J.K.: Cryopreservation of non-human primate sperm: priorities for future research. *Animal Reproduction Science*. 53: 43-63 (1998)
33. Organización Mundial de la Salud (OMS): Manual de laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical, 3ª ed., Ed. Panamericana. Cambridge (1992)
34. Rodríguez L. E.: Ecología y conducta de primates. Editado por: Martínez G. M., Velázquez M. J., Pp 63-89, *Bases Neurobiológicas y Ecológicas de la Conducta*, Ed. UAT, UAM, UV, UNAM. México, 1998
35. Rodríguez L. E., Cortés O. L., Mittermeier R., Rylands A., Wong R. G., Carrillo E., Matamoros Y., Nuñez F., Motta. G. J.: Hacia un plan de acción para los primates mesoamericanos. *Neotropical Primates*. 4 (suppl.):119-133 (1996)
36. Rodríguez L.E., Cortés O.L., Ellis S. Y McCance E.: Taller de conservación, análisis y manejo planificado para primates mexicanos. *Neotropical Primates*. 4 (suppl.):113-118 (1996)
37. Rodríguez L. E., García O. F., Canales E. D., Traslocación del mono aullador *Alouatta palliata*: una alternativa conservacionista En: Estudios Primatológicos en México Vol. I. Editado por: Estrada A. Rodríguez L. E., López W. R., Coates E. R., 129-177. Universidad Veracruzana, Xalapa, México, 1993

38. Roussel J.D. and Austin C.R.: Preservation of primate spermatozoa by freezing. *J. Reprod. Fert.* 13: 333-335 (1967)
39. Rylands A. B. Rodríguez L. E., Cortés O. L.: Neotropical Primate Conservation- The Species and the IUCN/SSC, *Primate Conservation* (17): 46-69, Madison. Wisconsin 1996/1997
40. SAS Institute Inc.: SAS User's Guide: Statics. Ed. Cary. E.U. 1982
41. Silva-López, G.: La situación actual de las poblaciones de monos arañas *Ateles geoffroyi* y *Alouatta palliata* en la Sierra de Santa Marta (Veracruz, México), Tesis de licenciatura, *Fac. de Biol.*, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz (1987)
42. Silva-López, G., García Orduña F. y Rodríguez-Luna E.: The status of *Ateles geoffroyi* y *Alouatta palliata* in disturbed forest areas of Sierra de Santa Marta, México. *Primate Conservation* 9: 53-61 (1988)
43. Tollnert T.L., VandeVoort C.A., Overstreet J.W. and Drobnis E.Z.: Cryopreservation of spermatozoa from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Reprod. Fert.* 90: 347-352 (1990)
44. VandeVoort C.A., Neville L.E., Tollner T.L. and Field L.P.: Noninvasive semen collection from an adult orangutan. *Zoo Biology*. 12: 257-265 (1993)
45. Weisbroth, S. and Young, F. A.: The collection of primate semen by electro-ejaculation. *Fertility and Sterility*. 16 (2): 229-235 (1965)
46. Wildt D., Pukazhenthi B., Brown J., Monfort S., Howard J., Roth T.: Spermatology for Understanding, Managing and Conserving Rare Species. *Reprod. Fertil. Dev.* 7:811-824 (1995)

Anexo

Cuadro de ANDEVA para Volumen Testicular Total (p=0.88)

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F Calculada
Mes	3	16.24	5.41	0.22
Error	27	679.02	25.14	
Total	30	695.26		

Cuadro de ANDEVA para Movilidad (p=0.88)

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F Calculada
Mes	3	188.36	62.78	0.21
Error	21	6231.07	296.71	
Total	24	6419.44		

Cuadro de ANDEVA para Concentración Espermática (p=0.13)

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F Calculada
Mes	3	11368.58	3789.52	2.03
Error	21	39109.93	1862.37	
Total	24	50478.51		

Cuadro de ANDEVA para Mofología (p=0.38)

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F Calculada
Mes	3	512.16	170.72	1.06
Error	21	3384.00	161.14	
Total	24	3896.16		

Cuadro de ANDEVA para Volumen del Eyaculado (p=0.60)

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F Calculada
Mes	3	0.11	0.03	0.62
Error	21	1.3	0.06	
Total	24	1.4		

Cuadro de ANDEVA para Testosterona (p=0.07)

Fuente de Variación	Grados de Libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	F Calculada
Mes	3	20.14	6.71	2.62
Error	27	69.17	2.56	
Total	30	89.32		