



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL
(OVINOS Y CAPRINOS)**

***“VARIACIÓN ESTACIONAL DE LA CALIDAD DEL SEMEN EN MACHOS
CAPRINOS JOVENES Y ADULTOS”.***

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN PRODUCCIÓN ANIMAL
(OVINOS Y CAPRINOS)**

PRESENTA

HÉCTOR SÁNCHEZ PINEDA

ASESOR

M.C. ARTURO A. TREJO GONZÁLEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2011



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.

ÍNDICE

	Página
Lista de Figuras	3
Lista de Cuadros	4
Resumen	5
Introducción	6
Revisión de Literatura	8
Objetivos	27
Material y Métodos	28
Resultados	34
Discusión	41
Conclusiones	45
Literatura Citada	46
Anexo 1	56
Anexo 2	57
Anexo 3	58
Anexo 4	59

LISTA DE FIGURAS Y GRÁFICAS

		Página
Figura 1	Esquema de los órganos del aparato reproductor Del Macho Caprino.	13
Figura 2	Esquema de la gametogénesis en mamíferos.	16
Figura 3	Localización del área de estudio.	28
Figura 4	Localización de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM.	29
Gráfica1	Efecto de la interacción estación del año y diluyente sobre la motilidad progresiva del semen descongelado.	40

LISTA DE CUADROS

		Página
Cuadro 1	Cuadrados medios del análisis de varianza para las características del epidídimo y testiculares en cabritos a lo largo del año.	34
Cuadro 2	Características epidimarias y testiculares en cabritos criollos durante las cuatro estaciones del año (media \pm error estándar).	36
Cuadro 3	Cuadrados medios del efecto y de error para la motilidad progresiva del semen descongelado.	37
Cuadro 4	Efecto de la raza sobre la motilidad progresiva del semen descongelado.	38
Cuadro 5	Efecto del eyaculado sobre la motilidad progresiva del semen descongelado.	38
Cuadro 6	Efecto de la estación del año sobre la motilidad progresiva del semen descongelado.	39
Cuadro 7	Efecto del diluyente sobre la motilidad progresiva del semen descongelado.	39

RESUMEN

Se realizaron dos estudios independientes para determinar el efecto que tiene la estación del año sobre algunas características reproductivas en machos caprinos jóvenes y adultos.

En el estudio 1 se evaluaron las variaciones estacionales del peso testicular, de epidídimo y de la reserva espermática en machos criollos jóvenes, determinando la relación de algunas características morfométricas con el tamaño testicular, del epidídimo y la producción espermática por testículo y epidídimo de acuerdo a la estación del año, así como, la variación estacional de producción de testosterona y de las características histológicas de los testículos y epidídimos de estos animales. Se utilizaron 59 machos criollos, sacrificados en rastro, provenientes de la región de Dolores Hidalgo, Guanajuato. Se revisaron únicamente machos sin muda dentaria y hasta dos incisivos, con un peso mínimo de 20 Kg. En cada estación del año se eligió un mes que fuera representativo: mayo (primavera), agosto (verano), noviembre (otoño) y febrero (invierno). Los datos se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza, utilizando como covarianza la condición física del animal, estimada mediante la siguiente fórmula: Condición física= Perímetro torácico + longitud de la cabeza a la base de la cola+ altura del piso a la cruz/ peso. Evaluando los resultados se obtuvo que la estación del año tuvo efectos significativos sobre el peso del epidídimo ($P<0.01$), la cantidad de espermatozoides en el epidídimo ($P<0.05$), el peso testicular ($P<0.01$), la cantidad de espermatozoides por gramo de testículo ($P<0.01$) y el área del conducto del epidídimo ($P<0.01$). Por otra parte se observó que la estación del año no tuvo efecto sobre la cantidad de testosterona medida en el plasma sanguíneo, ni sobre el área de los túbulos seminíferos ($P>0.05$).

En el estudio 2 se evaluó el efecto de la estación sobre la calidad del semen caprino fresco y congelado en tres diluentes. El trabajo se realizó durante los meses de mayo y junio para la primavera, agosto para el verano, octubre y noviembre para el otoño y diciembre y enero para el invierno. Se utilizaron cuatro machos adultos, dos de raza Alpina y dos de raza Nubia, obteniendo semen mediante la vagina artificial, dos veces a la semana y dos eyaculados por sesión. Cada eyaculado se dividió en cuatro alícuotas de la siguiente manera: Semen fresco, semen congelado en diluyente leche, semen congelado en lactosa, semen congelado en sacarosa.

De cada eyaculado se evaluaron los siguientes parámetros: Volumen de eyaculado (mL), concentración espermática (10^9 /mL), motilidad progresiva (%) (semen fresco y al descongelar). Una vez por semana los machos fueron sangrados para evaluar el nivel de testosterona en el suero (ng/mL). Los resultados se evaluaron mediante pruebas de análisis de varianza, utilizando la raza y el macho como bloque y la motilidad progresiva del semen fresco como covariable.

Se encontró un efecto de la estación del año, del diluyente ($P<0.0001$) y de la interacción estación del año-diluyente ($P<0.005$) sobre la motilidad progresiva que presentaron los espermatozoides al descongelarse. Por otra parte no se encontró efecto de la raza y el número del eyaculado sobre esta misma característica ($P>0.05$).

I.- INTRODUCCIÓN

La cabra fue probablemente el primer animal domesticado para producir y ser consumido, la ocurrencia geográfica de este fenómeno, combinado con la ubicación de la cuna de las primeras civilizaciones conocidas (Mesopotamia), contribuyó a la conexión directa de la cabra a todas las fases de la vida de las personas que crearon y desarrollaron la civilización en el área ahora conocida como Medio Oriente (Lu *et al.*, 2010; Boyazoglu *et al.*, 2005).

La presencia de la cabra en todos los sectores de las sociedades antiguas continúa hasta el presente, sobre todo en la religión, la economía, la nutrición y la tradición. La cría de cabras ha sido importante desde los tiempos greco-romanos remotos, la Edad Media y el Renacimiento. La crianza de cabras llegó a un punto de inflexión en el siglo XVIII en Europa cuando las poblaciones emergieron a través de la cría seleccionada de las poblaciones caprinas de Europa, Asia y África (Boyazoglu *et al.*, 2005).

La cría de la especie caprina es una actividad en crecimiento en el mundo por su importancia social, ambiental y económica. El concepto de producción animal, de carne y leche, ha cambiado actualmente. La utilización de estos animales permite elaborar productos de buena calidad con competitividad en el mercado internacional. Es importante utilizar animales que sean productivos en las condiciones ambientales y de manejo de cada país, región y explotación. Países con explotaciones tradicionales no son competitivos comparándolos con otros cuyos costos de producción y comercialización son menores, sin embargo cuentan con razas muy adaptadas al medio que hacen posible obtener productos de buena calidad (Devendra, 2010; Lu *et al.*, 2010; González-Bulnes *et al.*, 2005). Por esto la aplicación de programas de manejo reproductivo y mejoramiento genético es fundamental para asegurar un aumento en la producción (Tibary *et al.*, 2005; Thibier y Guerin, 2000).

En México, la mayoría de las unidades de producción no producen eficientemente, en gran medida, porque carecen de aplicación de tecnologías que las ayuden a mejorar su productividad. Por otra parte, las explotaciones intensivas son cada vez más numerosas, sin embargo los altos costos de producción, las hacen difícilmente rentables. Como consecuencia de esto se crea la necesidad de ser más eficientes en lo productivo y lo reproductivo; mediante el aumento de la fertilidad, la prolificidad, la sobrevivencia de cabritos, mayor producción de leche y carne, así como, la reducción del intervalo entre partos (Montaldo *et al.*, 2010; Gurría, 2010).

El conocimiento de las bases endocrinas de la reproducción y los mecanismos que regulan la secreción hormonal, principalmente en las hembras, han permitido el control reproductivo, con ciertas ventajas. Generalmente se han considerado los factores que modifican la actividad reproductiva de la hembra, sin tomar en cuenta que el macho también juega un papel importante dentro de la reproducción. En el macho caprino no hay trabajos suficientes que permitan conocer a fondo todas sus características. Los factores que afectan su actividad en ocasiones producen un mayor número de pérdidas dentro del rebaño, que los que se presentan cuando una o varias hembras caprinas tienen algún trastorno reproductivo, debido a que el semental da monta o servicio, no solo a una cabra, sino a muchas de ellas durante un empadre. De ahí que sea necesario conocer las condiciones reproductivas en que se encuentran los machos, antes de iniciar el empadre, valorando con la mayor precisión posible, sus características anatómicas, de comportamiento y del eyaculado. Por lo anterior el presente trabajo pretende:

- 1).- Evaluar las variaciones estacionales del peso testicular, del epidídimo y de la reserva espermática en machos criollos jóvenes, determinando la relación de algunas características morfométricas con el tamaño testicular, del epidídimo y la producción espermática por testículo y epidídimo de acuerdo a la estación del año, así como, la variación estacional de producción de testosterona y de las características histológicas de los testículos y epidídimos de estos animales.
- 2).- Determinar el efecto de la estación del año sobre la calidad del semen caprino fresco y la capacidad de los espermatozoides de sobrevivir a la congelación y descongelación utilizando tres diluyentes.

II.-REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Los caprinos en el mundo y en México

En la actualidad la población mundial de caprinos es de aproximadamente 867, 968,573 caprinos. La mayor cantidad de cabras se encuentran en el continente asiático (516.6 millones) y africano (294.8 millones), los cuales representan el 93.5% de la población mundial y en ellos se encuentran el 42% de las razas. En el continente Americano hay 37.12 millones y en Europa 15.9 millones, lo que representa el 6% de la población caprina. Cerca del 95% de la población mundial se encuentra en países en desarrollo (FAO, 2010).

Durante el período de 1986 al 2007, la tasa de crecimiento anual de la población caprina fue de 2.6%, dentro del cual los países en desarrollo presentaron un crecimiento anual de 2.8%. De estos, solo los países de América Latina y el Caribe han tenido una tasa de crecimiento negativo. Europa presentó una tasa de crecimiento anual negativa, en este continente se encuentra el 1.8% de la población mundial, con la presencia de 187 razas, que representan el 33% de ellas, las cuales han sido introducidas a otros países (Devendra, 2010; Boyazoglu *et al.*, 2005).

En el mundo se produjeron, para el 2009, cerca de 4.9 millones de toneladas de carne caprina, de las cuales el 60.7% fue producido por China (1,853,315 toneladas), India (478,800 toneladas) y Pakistán (267,000 toneladas) (FAO, 2010).

La producción de leche caprina en el mundo fue de 15, 128,186 toneladas, por continente se produjeron; en África 3,206,195 toneladas, en América de 543,674 toneladas, en Asia de 8,909,416 toneladas y en Europa de 2,468,861 toneladas (FAO, 2010).

Generalmente el bajo nivel de producción en los países en desarrollo está asociado con una ineficiente alimentación y manejo, inadecuado uso de los recursos genéticos nativos y limitaciones por enfermedades (Devendra, 2010; Boyazoglu *et al.*, 2005; Knights y García,1997). Por otra parte el mercado internacional exige cada vez más productos de buena calidad, por lo que los productores han buscado elaborar estos, ahora con denominación de origen, que garantiza esa calidad (Lu *et al.*, 2010; Rubino *et al.*, 1999). Por otra parte también hay una tendencia en el mundo para lograr una producción animal sustentable, por medio de tecnologías libres de contaminación, tanto para los animales, como para el medio ambiente, conocidos como métodos limpios, verdes y éticos (Peacock y Sherman, 2010; Sahlu y Goetsch, 2005; Martin, 2005; Martin *et al.*, 2004)

En México la población caprina es de aproximadamente 8, 831,000 cabras (FAO 2010), aunque las estadísticas nacionales no son nada coincidentes, mientras que SAGARPA

maneja un inventario de cerca de 7 millones, el INEGI dice que en México hay aproximadamente 4 millones. La producción de carne fue de 43,128 toneladas, y de leche 164,974 toneladas para ese año (Gurría, 2010; Anónimo, 2010).

Esto coincide con la situación actual de los caprinos en el país, se pueden encontrar unidades de producción con alto nivel de tecnología, así como unidades sin ningún grado de aplicación de tecnología (Gurría, 2010; Montaldo *et al.*, 2010; Arbiza y De Lucas, 2001).

Por otro lado, los productos y subproductos elaborados con leche y carne de ganado caprino, son considerados ya por el consumidor, como productos gourmet, más costosos. Cuando se compra un queso elaborado con leche de cabra, se sabe que es de mayor precio que los elaborados con leche de vaca y se tiene la sensación que se hace de esta compra un momento especial, lo mismo pasa con los jabones, yogurt, jocoque, así como con el cabrito y barbacoa, de antemano se sabe que son platillos con un valor por encima de lo que se gasta normalmente con productos de otras especies.

Esto último, es precisamente la gran oportunidad para la ganadería caprina, el mercado está dispuesto a absorber un mayor precio por un producto de excelente calidad. Aquí se presenta la contradicción en la producción caprina del país, el sector primario es visto y relacionado con la pobreza y marginación, simultáneamente, el mercado está dispuesto a pagar por productos emanados de esta actividad que son de mayor precio y considerados especiales (Gurría, 2010; Montaldo *et al.*, 2010; Arbiza y De Lucas, 2001).

Sólo en los últimos diez o quince años, se ha visto la producción de otras especies, distintas a la ganadería bovina como una opción de ingreso y rentabilidad, por ejemplo la ovinocultura. Sin embargo, la Caprinocultura es una actividad que es una alternativa real, rentable, sustentable y sostenible para las condiciones del país y que puede representar una opción de producción con mucha mayor flexibilidad y bondades que la ovinocultura y algunas otras.

Algunas de las ventajas de la producción en cabras son;

- a).- El tamaño de la inversión inicial.
- b).- El espacio requerido para la explotación.
- c).- Alternativas de transformación (quesos, yogurt, jocoque, cajetas y otros dulces y carne).
- d).- Un mercado que crece y crecerá durante los próximos años.

Mencionando además, que existe en el país la capacidad técnica necesaria y suficiente para asesorar adecuada y oportunamente (Gurría, 2010; Montaldo *et al.*, 2010; Arbiza y De Lucas, 2001).

Las razas caprinas presentes en México son; Boer, Anglo Nubia, Saanen, Alpina, Toggenburg, La Mancha, Granadina. Por otra parte existen grupos de cabras sin características raciales definidas, llamadas Criollas. (Arbiza y De Lucas, 2001; Anónimo, 2010).

Boer. Se origina en Sudáfrica en el siglo XVII, llega a México en 1992, cuando la Universidad Nacional Autónoma de México, importa 100 embriones, al siguiente año el Gobierno de Nuevo León importó 30 ejemplares y el de San Luis Potosí 10 a través de Nueva Zelanda. A partir de entonces se ha ido distribuyendo a lo largo y ancho del país. Se considera la única raza caprina especializada en producción de carne, la de mayor precocidad en el crecimiento mayores ganancias medias diarias y longevidad productiva y posee gran capacidad para consumir arbustos.

Anglo Nubia. Es originaria de Inglaterra, se considera de doble propósito, aunque existen líneas seleccionadas para producción de leche, que posee alto contenido de grasa butírica). Principalmente se encuentra en climas cálidos y secos y se explota en sistemas extensivos. Se encuentra distribuida en todo el país por su gran adaptabilidad, fertilidad, prolificidad y alta eficiencia en forrajes toscos. En México se le conoce como Nubia.

Saanen. Se origina en los valles Suizos de Saanen y Simmental, es considerada la raza productora de leche por excelencia en el mundo, algunas de estas cabras han reportado producciones cercanas a los 10 kg al día (3084 kg en 305 días). Las crías nacen con un peso de 3.5 kg aproximadamente, por lo que son excelentes para el “cabrito”. Son de tamaño entre mediano y grande, de color blanco o cremoso, el peso vivo de las hembras oscila entre 50 y 70 kg y el de los machos a veces sobrepasa los 100 kg. Ambos sexos presentan barbilla, los cuernos en el macho son en forma de sable, orejas cortas, erectas y puntiagudas.

Alpinas. Se origina en los Alpes franceses, en su mayoría tienen orejas puntiagudas y frente recta, cuernos cortos en forma de sable, el color varía del blanco al gris y del café al negro, o también se pueden presentar diversas combinaciones. El peso mínimo adulto de una hembra es de 55 kg y el de un macho 76.5 kg. Se adapta bien tanto, al pastoreo, como a la estabulación.

Toggenburg. Originarias del valle suizo del mismo nombre. Es la raza alpina más pequeña, pero de fuerte complexión y robustez, que le confieren longevidad productiva. Es excelente

productora de leche en clima frío, se cría en sistemas intensivos y semiintensivos, con aprovechamiento de praderas mejoradas y suplementación en estabulado. El color del pelo es café en varias tonalidades, sus orejas son blancas, así como las dos rayas que atraviesan la cara, la parte ventral del cuerpo y la cara interna de las patas.

La Mancha. Raza originada en Estados Unidos, se caracteriza por no presentar orejas, alta rusticidad y buena producción de leche. Estuvo en auge en la década de 1960 a 1970, declinando posteriormente hasta casi desaparecer.

Murciano-Granadina. Grupo genético de buena aptitud lechera, presenta pelo corto y fino de color negro. Es de tamaño mediano, alcanzando los animales adultos 50 kg, presentan excelente tasa reproductiva, se adapta muy bien al régimen trashumante por ser gran caminadora. En la actualidad está por desaparecer del país.

Criolla. Estas cabras tienen diferentes grados de cruzamiento con alguna raza pura por lo que un nombre más apropiado, probablemente, para estos animales sería mestizas. Constituye una fuente importante de ingresos para los productores marginados, además de complementar su alimentación. Son de talla pequeña, gran rusticidad, excelentes para el pastoreo de zacates nativos y para el ramoneo de arbustos, recorriendo grandes distancias, pero su rendimiento en carne y leche es bajo (Anónimo, 2010).

2.2. Anatomía y fisiología del aparato reproductor del macho caprino

El aparato reproductor del macho caprino está formado por los siguientes órganos; testículos, epidídimos, conductos deferentes, glándulas sexuales accesorias (glándulas vesiculares, próstata y glándulas bulbouretrales), pene y prepucio (Figura 1) (Delgadillo, 2005; Cortez *et al.*, 2005).

Testículos

Son las gónadas masculinas, encargados de formar los espermatozoides, gametos masculinos, y producir las hormonas sexuales o andrógenos. Cada testículo está recubierto con una membrana fibrosa, llamada túnica albugínea, por debajo de esta se encuentra el parénquima, de color amarillo, formando varios lóbulos. El parénquima está formado por los túbulos seminíferos que hacen circunvoluciones en el tejido intersticial. En estos túbulos se forman los espermatozoides.

Los túbulos seminíferos terminan, hacia el centro del testículo, en túbulos rectos y de estos a una red tubular llamada *rete testis*, esta finalmente comunica hacia la cabeza del epidídimo, por medio de los conductos deferentes.

Epidídimos

Tienen forma alargada y están en estrecho contacto con los testículos. Cada epidídimo está formado de tres partes; cabeza, cuerpo y cola. Siendo esta última parte la que se puede palpar a través del escroto. En esencia es un órgano tubular largo y plegado, conectado al testículo por medio de los conductos eferentes y conectado al conducto deferente al nivel de la cola, sirve principalmente para la maduración y almacenamiento de los espermatozoides. A su paso por el epidídimo, ocurre la maduración de los espermatozoides, por lo que adquieren la motilidad necesaria y la capacidad de fertilizar al óvulo. Aquí se almacenan cerca de 12-16 mil millones de estos gametos masculinos (Marengo, 2008).

Escroto

Es el saco o bolsa donde se encuentran los testículos. Su pared está formada por la piel, la túnica dartos y la túnica vaginalis o vaginal común. La piel contiene una gran cantidad de glándulas sudoríparas y sebáceas. La túnica dartos proporciona el principal sostén a los testículos, está adherida a la piel y tiene una estructura muscular y divide al escroto en dos mitades. La túnica vaginalis envuelve a cada uno de los testículos y epidídimos. Además de contener a estos órganos, el escroto, juega un papel fundamental en la regulación de la temperatura, debido a que la producción de espermatozoides ocurre a 4-7 °C por debajo de la temperatura corporal.

Conductos deferentes

Conductos con pared muscular desarrollada que transportan los espermatozoides desde la cola del epidídimo hasta la uretra. Cada conducto deferente está conectado con su correspondiente epidídimo.

Glándulas sexuales accesorias

Este grupo de glándulas están compuestas por dos vesículas seminales, una glándula prostática y dos glándulas bulbouretrales. Las de mayor tamaño son las vesiculares y se encuentran en la unión del conducto deferente con la uretra, la próstata rodea la uretra por detrás de las vesículas seminales, las bulbouretrales son esféricas y compactas se localizan caudalmente sobre la uretra. Estas glándulas secretan el líquido seminal indispensable para el transporte de los espermatozoides, medio de nutrición y amortiguador del medio ácido del conducto genital femenino.

Pene y prepucio

El pene tiene dos funciones; el depósito del semen en la vagina (cópula) y la expulsión de la orina (micción). Se puede dividir en tres porciones; el glande, el cuerpo y las dos raíces

insertadas en el arco isquiático de la pelvis. En su parte interna está formado por tejido cavernoso, que consiste de sinuosidades vasculares separadas por septos de tejido conectivo. La erección se efectúa de dos maneras; con la excitación sexual los vasos que drenan el pene se comprimen y los espacios del tejido cavernoso se llenan de sangre, con lo que aumenta el tamaño del pene, al relajarse la sangre sale del tejido cavernoso y el pene queda flácido. Por otra parte, el pene tiene una curvatura en forma de S llamada flexura sigmoidea, normalmente el pene mantiene esta forma de S, mediante el músculo retractor, durante la cópula este músculo se relaja, provocando la extensión de la flexura. Es en este momento que el pene se exterioriza a través el orificio prepucial.

El glande presenta un apéndice filiforme o prolongación uretral, estructura que gira rápidamente durante la eyaculación distribuyendo el semen en la vagina de la hembra. El pene está alojado en una invaginación de la piel llamada prepucio (Delgadillo, 2005; Cortez *et al.*, 2005).

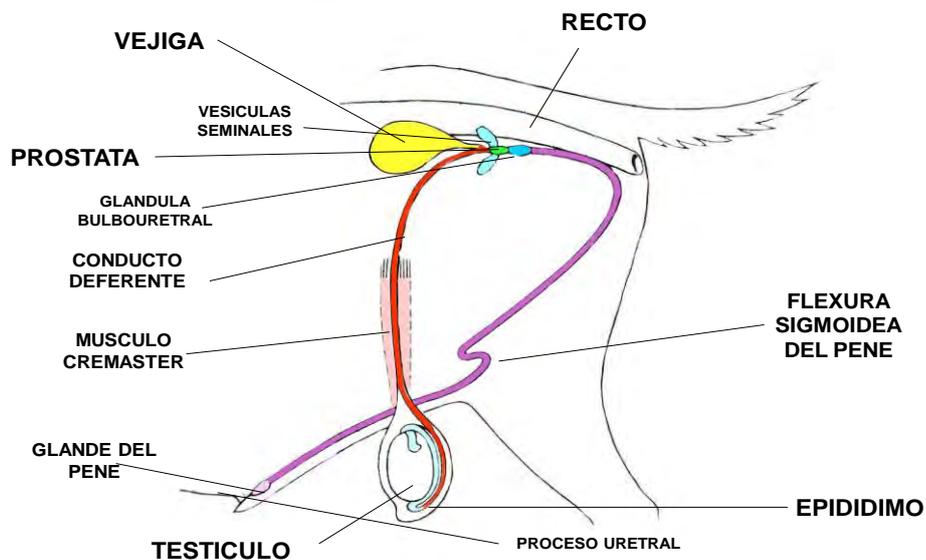


Figura 1. Esquema de los órganos del aparato reproductor del macho caprino (Adaptado de Quittet, 1978).

2.3. Control neuroendocrino gonadal de la actividad sexual del macho

Los procesos reproductivos en los animales se dan en un tiempo preciso, que generalmente coincide con las mejores condiciones ambientales y fisiológicas, así circunstancias como la duración del día, la presencia del otro sexo, el estado nutricional, el estrés, tienen efectos directos sobre la reproducción. Estos indicadores del estatus del animal son percibidos por el cerebro en forma de señales nerviosas o endocrinas. El mecanismo de cómo se transmite esta información fue descrito por Harris desde 1955, al proponer que un factor neurohumoral transmitía las señales entre el cerebro, la hipófisis y las gónadas. Fue hasta 1971 que se realizó la caracterización química de dicho factor, conociéndose la secuencia de aminoácidos que componían este decapeptido, llamado ahora hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH). Posteriormente con el desarrollo de técnicas como la inmunocitoquímica, se pudo identificar en el hipotálamo las áreas donde se produce esta hormona, así como las células neuroendocrinas que la producen (Soto, 2008; Ichimaru *et al.*, 2003).

La relación entre la GnRH y la hormona luteinizante (LH) así como la retroalimentación negativa con la testosterona fue demostrada desde hace tiempo. La testosterona parece actuar, principalmente, a través de sus metabolitos; estradiol y dihidrotestosterona (DHT) suprimiendo la liberación de GnRH por medio de sistemas de neuronas aferentes, porque al igual que en la hembra, las neuronas GnRH del macho no tienen receptores a los esteroides. El núcleo dorso medial y ventromedial y el núcleo arcuato del hipotálamo medio basal y tal vez el área pre óptica media, son los sitios donde el estradiol pudiera actuar para inhibir la secreción de las neuronas productoras de GnRH en el macho, porque estas áreas son ricas en receptores a estrógenos. Sin embargo el sitio donde actúa la DHT y la testosterona no se conocen (Soto, 2008; Scott *et al.*, 2000; Parvizi, 2000). En los carneros la retroalimentación de la hormona folículo estimulante (FSH) involucra la acción de la inhibina y la testosterona directamente en los gonadotropos de la hipófisis (Soto, 2008).

El control endocrino del funcionamiento de los testículos está dado por el eje hipotálamo-hipófisis, después de recibir el estímulo, el hipotálamo secreta la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) de manera pulsátil, que estimula la hipófisis anterior para que secrete, de manera continua, la hormona foliculoestimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) de manera pulsátil (Ohkura *et al.*, 2009; Singh *et al.*, 2000).

2.3.1. Espermatogénesis

La primera fase en la reproducción sexual de un organismo es la gametogénesis, proceso mediante el cual se forman los gametos a partir de células germinales, en el caso de los machos, es llamada espermatogénesis y se lleva a cabo en el tejido epitelial de los túbulos seminíferos del testículo (Figura 2) (Rahman *et al.*, 2008).

La espermatogénesis es un proceso complejo que involucra la división y la eventual diferenciación de las células espermatogonias madre hasta espermatozoides maduros. Este proceso se compone de varias fases: proliferación mitótica de las espermatogonias para producir espermatocitos; dos divisiones meióticas de los espermatocitos para generar espermátidas haploides; y espermiogénesis, la fase final, que involucra la maduración de las espermatides jóvenes hasta espermátidas maduras elongadas y la formación de los espermatozoides (He *et al.*, 2009).

En los mamíferos, los gametos, tanto masculinos como femeninos, se originan del saco vitelino embrionario, a través del mesenterio, de donde migran hacia las crestas gonadales primitiva en la etapa temprana de gestación por migración a través del mesenterio del embrión en desarrollo, donde las células germinales asociadas con células somáticas continúan con su multiplicación, crecimiento y maduración para la formación de los testículos (Bowles y Koopman, 2010; He *et al.*, 2009; Flores y Medrano, 2008).

La espermatogénesis en el macho cabrío empieza en la pubertad con la proliferación de las células germinales en interfase, que continúa aun en la vida adulta. La edad a la que alcanzan la pubertad los cabritos se presenta entre los 4 a 6 meses (Jainudeen *et al.*, 2000).

Las paredes de los túbulos seminíferos contienen las células sexuales diferenciadas en un arreglo de capas estratificadas de 5 a 8 células de profundidad. En las capas periféricas se encuentran las espermatogonias, las cuales incrementan en número por espermatocitogénesis, que inicia por mitosis de una espermatogonia A diploide, en el compartimiento basal de las células de Sertoli. La espermatogonia A se diferencia a espermatogonia B que entra en su división mitótica final antes de su entrada en la fase de pre-leptoteno de la primera meiosis. La meiosis ocurre en el compartimiento adluminal de la célula de Sertoli y resulta en la formación de los espermatocitos primarios (Shi *et al.*, 2010; Johnson *et al.*, 2008).

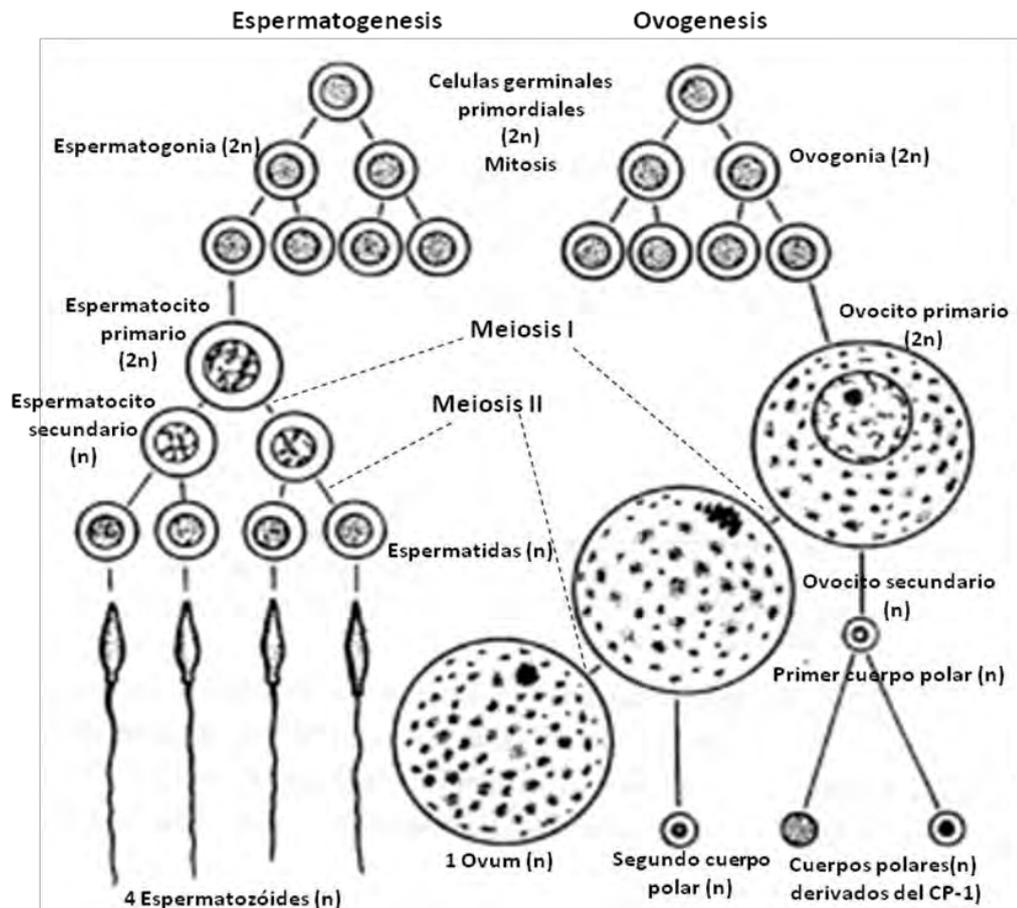


Figura. 2. Esquema de la gametogénesis en mamíferos (Modificado de Rahman *et al.*, 2008).

La condensación de cromosomas ocurre durante la fase de leptoteno seguida de la fase de cigoteno. La fase larga de paquíteno involucra la cruza de material cromosomal y es la más susceptible a daño. La meiosis progresa por la fase de diploteno, diaquinesis, metafase I y anafase, resultando finalmente en espermatocitos secundarios. Cada espermatocito secundario entra en una segunda división meiótica, sin un período de reposo, resultando en espermatidas con un número haploide de cromosomas y DNA, requerido para la fertilización.

La espermatida redonda o temprana, por el proceso de espermiogénesis se transforma en una célula altamente especializada, el espermatozoide. La espermiogénesis consiste de tres fases; fase de golgi, fase de encasquetamiento y fase acrosomal. Finalmente el esperma formado es liberado en el lumen del túbulo seminífero, éste es inmóvil e inmaduro, en términos de capacidad fertilizante. Para adquirir motilidad, así como, maduración, es necesario su paso por el epidídimo, lo que se conoce como maduración epididimal.

Durante la maduración epididimal, en el espermatozoide ocurren modificaciones en la composición de proteínas, carbohidratos y glicoproteínas de la membrana plasmática y adquiere una carga negativa neta. La motilidad espermática y la capacitación se suprimen durante el almacenamiento en la cola del epidídimo, la que se caracteriza por pH bajo, Bajas concentraciones de Ca^{2+} , Na^+ , y bajas concentraciones de K^+ . (He *et al.*, 2009; Flores y Medrano, 2008; Gadella and Van Gestel, 2004).

El espermatozoide es una célula larga y compacta, pequeña en comparación del óvulo, con una alta especialización de estructuras citoplasmáticas, morfológicamente y funcionalmente se compone de cuatro regiones: a) La cabeza conteniendo el núcleo y el acrosoma, b) el cuello, conteniendo centriolos, c) la pieza media, conteniendo mitocondrias y d) la cola o flagelo. Un espermatozoide de caprino mide 60 μm de largo, la cabeza mide 7.69 μm y la cola 52 μm de largo aproximadamente (He *et al.*, 2009; Gravance *et al.*, 1997).

2.4. Características reproductivas del macho caprino

2.4.1. Estacionalidad de la actividad reproductiva

La estacionalidad reproductiva es una estrategia de reproducción que se observa en algunos mamíferos, y que tiene como finalidad que las crías nazcan en los meses del año más propicios para tener mejores oportunidades de sobrevivencia (Delgadillo *et al.*, 2008). La estación sexual de la mayoría de las razas caprinas originarias de latitudes templadas o de aquéllas que se originaron o se adaptaron a las latitudes subtropicales, se desarrolla en el otoño e invierno en ambos hemisferios. En los machos de estas razas, la estación sexual ocurre en estaciones diferentes según su origen: en los machos de zonas templadas, ésta se desarrolla durante el otoño e invierno; en cambio, en los machos de zonas subtropicales, la estación sexual ocurre en verano y otoño (Flores *et al.*, 2010).

La estacionalidad de la reproducción es uno de los factores limitantes en la producción de un rebaño, ya que incide tanto en la producción de un rebaño como en la producción y calidad del semen y en el comportamiento sexual del ganado caprino (Arrebola *et al.*, 2010). Esta estacionalidad reproductiva resulta de la existencia de un ritmo endógeno de reproducción que es sincronizado por las variaciones anuales del fotoperiodo (Zarazaga *et al.*, 2010; Zamiri *et al.*, 2010; Murata *et al.*, 2009; Todini *et al.*, 2006). Presentando mejores características reproductivas en las épocas donde los días son cortos y las noches largas, dependiendo de la latitud, en donde se encuentren los animales. Sin embargo, otros

factores del medio ambiente como; la nutrición, las lluvias, la temperatura y las relaciones socio-sexuales, pueden modificar el desarrollo del ritmo reproductivo anual (Miranda-de la Lama y Mattiello, 2010; Delgadillo *et al.*, 2008; Flores *et al.*, 2010; Katz, 2008; Barkawi *et al.*, 2006; Pattanaik *et al.*, 2004; Prado *et al.*, 2003; Morga y Orihuela, 2001; Rekwot *et al.*, 2001).

Las variaciones estacionales en cantidad y calidad del semen también han sido atribuidas al fotoperiodo. Los machos cabríos del norte de México manifiestan un período de reposo sexual de enero a abril, el cual se caracteriza por bajo peso testicular, incremento a la latencia de la eyaculación y una reducción de la producción espermática (Delgadillo *et al.*, 2003; Álvarez y Zarco, 2001). De la misma forma estas características presentan diferencias entre razas de acuerdo a la latitud en que se encuentren. Se ha observado que en latitudes altas (más de 35°) la actividad reproductiva del macho puede dejar de manifestarse durante algunos meses. Por otro lado también se menciona que en latitudes intermedias las variaciones seminales son menos marcadas (Karagiannidis *et al.*, 2000; Pérez and Mateos, 1996).

Se menciona que la estacionalidad muy marcada es una característica reproductiva del caprino de raza Angora, lo que determina que los machos permanezcan activos sólo unos pocos meses durante el año y que en machos genéticamente superiores (por calidad de fibra, por ejemplo), la cantidad de servicios o de dosis a extraerse para inseminación artificial es reducida y limita la posibilidad de extender rápidamente esta mejora a un número importante de productores (Holtz, 2005).

En regiones tropicales próximas al Ecuador, donde no hay variación en el fotoperiodo diaria o es mínima, las variaciones estacionales en la producción de semen de machos nativos no se presentan. También se menciona que en estas áreas las variaciones cuantitativas y cualitativas del eyaculado caprino parecieran estar condicionadas a otros factores más importantes que el fotoperiodo, así como a la temperatura ambiente (Machado *et al.*, 2000).

Karagiannidis *et al.* (2000) y Barkawi *et al.* (2006) encontraron una variación estacional significativa en cantidad (volumen concentración y número total de espermatozoides por eyaculado) y en calidad (porcentaje de motilidad espermática, porcentaje de espermatozoides anormales y porcentaje de motilidad progresiva). El mejor semen fue producido durante la estación de apareamiento (en el verano tardío y el otoño) en Grecia, sin embargo la magnitud de estos efectos estacionales no fue suficiente para evitar que los machos fueran usados para cría a lo largo del año. Además, las diferencias individuales en

cantidad y calidad de semen entre los machos de una misma raza hacen a la evaluación individual de semen necesaria para seleccionar los machos más fértiles para la cría.

2.4.2. Desempeño reproductivo

El inicio del comportamiento sexual en cabritos (olfateo, flehmen, pataleo, montas) aparece a edad variable, desde unas pocas semanas después del nacimiento (razas europeas) hasta un año de edad (raza Damasco). Existen diferencias extremas, dentro de una misma raza, en la edad a la cual se presenta la madurez sexual; desde 4 a 8 meses hasta 1 a 4 años, dependiendo si el animal proviene de una raza precoz o de madurez tardía (Leboeuf *et al.*, 2000).

En el macho adulto, la motivación y la eficiencia sexuales, dependen directamente de las secreciones hormonales, eventos sociales (presencia o ausencia de hembras) de la época del año y de aspectos nutricionales (Hong *et al.*, 2010; Li-Guang *et al.*, 2010; Hong *et al.*, 2009; Scaramuzzi y Martin, 2008; Fourie *et al.*, 2005). El inicio de la estación sexual es precedido de la secreción de andrógenos testiculares, así demostrado por un espectacular incremento en la concentración de testosterona plasmática. El acto sexual involucra la interacción entre la secreción de andrógenos y eventos sociales, siendo estos últimos los iniciadores. La motivación y la eficiencia sexuales pueden ser moduladas por la competencia y la jerarquía dominante en un grupo de machos. El ambiente social tiene gran importancia en la manifestación del comportamiento sexual en machos y estimula la producción de semen. Las hembras en celo desempeñan un papel importante en la manifestación plena del comportamiento sexual del macho, interactuando con otros factores, como la nutrición y la época del año (Flores *et al.*, 2010).

2.4.3. Producción espermática

Pocas investigaciones se han llevado a cabo para establecer la producción de semen en machos caprinos, ésta varía desde 2.76 a 7.23×10^9 espermatozoides por testículo, con una leve variación estacional y racial (Leboeuf *et al.*, 2000; Walkden-Brown *et al.*, 1997). En machos caprinos de raza *Cashmere* australianos se encontró una asociación estrecha entre peso testicular y espermatozoides testiculares totales con la circunferencia escrotal ($r = 0.88$ y 0.72 respectivamente). La circunferencia escrotal provee la más simple y segura estimación indirecta del tamaño testicular y del contenido de espermatozoides. Se estima la producción diaria de espermatozoides en machos de raza Angora, en la estación de cría, entre 4.0 a 6.4×10^9 .

La producción espermática de los caprinos es influida por factores como raza, edad, nutrición, fotoperíodo, temperatura ambiente y humedad, que son responsables de la variación de las características del semen (Leboeuf *et al.*, 2000).

2.4.4. Tamaño Testicular

El tamaño de los testículos es un buen indicador de la capacidad espermatogénica de un semental, como lo atestiguan numerosos trabajos realizados en diferentes especies. La medida más práctica para evaluar el tamaño de los testículos es la circunferencia escrotal (CE), la cual tiene una alta correlación con el peso y el volumen testicular (Leboeuf *et al.* 2000), y el peso testicular está en función directa con la cantidad de tejido parenquimatoso productor de semen y por lo tanto con el volumen y la concentración espermática del eyaculado. Se dice entonces que una selección por mayor CE se traducirá en una producción seminal más rica en espermatozoides (Agga *et al.*, 2010; Ford Jr *et al.*, 2009).

En la especie caprina, la información referente a las mediciones externas de los testículos y su posible relación con la producción de espermatozoides no es extensa y existen datos contradictorios, ya que algunos autores encuentran relación entre parámetros testiculares y seminales (Ahmed *et al.*, 2004), lo cual sucede también en ovinos (Fourie *et al.*, 2004), considerando que la CE puede ser utilizada para definir criterios de selección de sementales mejorando la eficiencia reproductiva del rebaño. Sin embargo, Pérez y Mateos (1996) y otros, en cambio, informan no haber encontrado ninguna relación entre CE y calidad seminal. Se menciona también que la CE también puede ser utilizada para predecir el momento en que el macho alcanza la pubertad (Chemineau, 1986).

Las variaciones en el volumen testicular son más notorias en animales adultos (2 a 5 años), estos presentan valores altos en los meses de primavera (cerca de 200 ml), llegando a los valores más bajos en los meses de verano (180 ml aproximadamente) y empiezan a incrementar en los meses de otoño e invierno (190 ml aproximadamente) (Benavente *et al.*, 2007).

2.4.5. Temperatura ambiente

Se ha encontrado bajo condiciones controladas que el aumento de temperatura testicular es un factor responsable de alteraciones de algunas características del eyaculado que se caracteriza por disminuir la concentración espermática, disminuir la motilidad individual progresiva y el número de células espermáticas normales (Ahmed *et al.*, 1997). El estrés calórico afecta negativamente varias características del eyaculado y provoca la

disminución de la calidad espermática, mayor incidencia de espermatozoides morfológicamente anormales, predominando los defectos de gota citoplasmática proximal, cola enrollada y decapitación. Diversas investigaciones han demostrado que las temperaturas elevadas pueden interferir negativamente sobre la calidad del semen de los rumiantes, siendo la motilidad individual progresiva y el porcentaje de células normales las características seminales más afectadas (Kraemer, 2000; Chemineau, 2004; Valle *et al.*, 2005).

2.5. Características seminales

Uno de los componentes más importantes de la inseminación artificial, la técnica de reproducción asistida más importante, es la obtención del semen. Los métodos más comunes para la recolección de semen son: la electroeyaculación y la vagina artificial, esta última con ventajas en cuanto al bienestar del animal y calidad del eyaculado (Delgadillo, 2005; Prado *et al.* 2001).

Dentro de las pruebas utilizadas para estimar la capacidad fertilizante del semen de algún animal seleccionado como semental se encuentran algunas características seminales, que se dividen en macroscópicas (volumen, color, pH) y microscópicas (motilidad, concentración y porcentaje de espermatozoides sin alteraciones morfológicas), éstas han sido correlacionadas en mayor o menor grado con la fertilidad (Tsakmakidis, 2010).

El volumen del eyaculado de los caprinos presenta un rango de entre 0.3 a 1.5 ml, teniendo un promedio cercano a 1 ml, pudiendo variar de acuerdo al método de obtención del semen, ya sea por electroeyaculación o por medio de vagina artificial, obteniéndose un mayor volumen y menor concentración si se realiza por el primer método (Delgadillo, 2005). El color del eyaculado puede variar desde un amarillo intenso, hasta translucido o francamente transparente, pasando por diferentes coloraciones de amarillo y de blanco.

Las pruebas microscópicas de motilidad seminal son dos; motilidad masal y motilidad individual o progresiva. La masal se evalúa en una escala de 0 a 5, determinando el vigor del movimiento del semen en ondas o remolinos, siendo 5 el máximo movimiento y 0 sin movimiento. La motilidad progresiva se evalúa con semen diluido, con la finalidad de poder observar al microscopio, el movimiento individual de los espermatozoides. Se determina el porcentaje (en valores de 10 en 10) de espermatozoides que presentan desplazamiento hacia adelante (Delgadillo, 2005).

En cuanto a la concentración del eyaculado, en los caprinos se obtiene un eyaculado con alta cantidad de espermatozoides, por lo general presentan entre 2000 a 5000 millones de

espermatozoides por mililitro. Debido a esta alta producción de espermatozoides los machos caprinos se consideran de alto potencial reproductivo.

El examen de la morfología seminal es una prueba de calidad seminal. Por lo general los espermatozoides de un eyaculado presentan cierta cantidad de anomalías, pero si la cantidad de éstos es demasiado alta entonces el semen es de baja fertilidad. Para realizar esta prueba se tiene que realizar un frotis de semen teñido preparado en un portaobjetos.

Las anomalías en la morfología de los espermatozoides pueden ser de dos tipos; primarias y secundarias. Las primarias se dan durante la espermatogénesis, por lo que suceden en el testículo, son alteraciones en la producción de los espermatozoides y se manifiestan como; espermias con cabeza pequeña (microcefalia), cabeza demasiado grande (macrocefalia), decapitados o sin cola, dentro de las más importantes. Las anomalías secundarias se forman en el paso de los espermias a través del epidídimo y su paso por el conducto deferente y la uretra, durante la eyaculación, algunos ejemplos de estas anomalías son; cola enrollada, rotura de pieza intermedia (cola en ángulo), cola en forma de U (Delgadillo, 2005; Prado *et al.* 2001).

2.6. Obtención y conservación de semen

2.6.1. Inseminación artificial

La tecnología de reproducción asistida, ART por sus siglas en inglés, más ampliamente difundida es la inseminación artificial y la que más ha contribuido al mejoramiento genético a nivel mundial (Baldasarre, 2007; Holtz, 2005; Leboeuf *et al.*, 2000; Baldasarre y Karatzas, 2004) debido principalmente, a métodos bien establecidos de identificación de machos de alto valor genético.

La inseminación artificial (IA) ha desempeñado un importante papel en la cría caprina, sobre todo en sistemas intensivos de producción, para el control de la reproducción, pruebas de progenie exactas para mejorar la producción de leche, carne y pelo. A nivel de granja el control de la reproducción de una población caprina permite que tengan los partos en una época precisa del año, una sincronización de partos en poco tiempo y facilita la alimentación suplementaria de las cabras en lactación (Baldasarre, 2007). Otras ventajas de la IA incluyen esquemas de selección genética más eficientes y la manipulación y almacenamiento de material genético (Maxwell *et al.*, 2004). Estas ventajas traen como consecuencias, en programas de mejoramiento genético, primero para evaluar y seleccionar machos y segundo, para comparar el valor genético de los animales en diferentes rebaños a través de la utilización de machos de referencia. La IA permite una rápida y amplia

difusión de genotipos mejorados y el cambio de genotipos sin enfermedades transmisibles (Barrera-Saldaña *et al.*, 2010; Trejo, 2008; Leboeuf *et al.*, 2000).

La primera de las tecnologías de reproducción asistida continúa siendo la que mayor contribución ha hecho al mejoramiento genético y la más utilizada en todo el mundo. El éxito de la inseminación se debe a su relativa simplicidad y su capacidad de producir cambios significativos en la productividad de la progenie cuando se utilizan machos debidamente seleccionados a partir de test de progenie (Evans and Maxwell, 1987; Chemineau y Cognie, 1991; Leboeuf *et al.*, 2000).

2.6.2. Métodos de colección de semen

Para la obtención del semen se utilizan dos métodos principalmente: la vagina artificial y el electroeyaculador.

La vagina artificial es el método más utilizado para la recolección de semen, por asemejar las condiciones normales de una vagina de cabra, por lo que se obtiene un eyaculado más parecido a uno natural. Esta proporciona la temperatura y presión, así como la lubricación adecuadas para producir la eyaculación. Tiene un tubo de vidrio calibrado para coleccionar el semen, también consta de una cámara donde se coloca agua caliente, para proporcionar una temperatura de entre 40 a 45° C y aire a través de una válvula, que permite la dilatación del forro para aumentar la presión interna, y que una vez que penetra el pene se logra la eyaculación del animal (Delgadillo, 2005).

Con el electroeyaculador se obtiene un eyaculado de mayor volumen (debido a la mayor cantidad de plasma seminal) y baja concentración espermática, aunque la motilidad no se ve afectada. Como el plasma seminal, sobre todo la secreción de las glándulas bulbouretrales, es perjudicial para la conservación de los espermatozoides, entonces este método no es preferido para coleccionar semen que se va a procesar para su conservación (Medrano, 2008; Leboeuf, 2000).

2.6.3. Métodos de conservación de semen

Tres métodos de conservación de semen (fresco, refrigerado y congelado) y tres técnicas de inseminación (vaginal, cervical e intrauterina, se utilizan en la reproducción de los caprinos (Trejo, 2008).

Fresco. Es el método de conservación preferido cuando el macho se encuentra en la explotación, especialmente en la época de apareamiento, debido a que la producción y la calidad del eyaculado están en su pico máximo (Baldezarre and Karatzas, 2004). Una vez

colectado el semen se divide en dosis de por lo menos 0.1 mL, conteniendo entre 300 a 600 millones de espermatozoides, se le puede agregar algún diluyente o usarse sin diluir, se debe mantener a 30° C aproximadamente.

Refrigerado y Congelado. El congelamiento de semen permite una serie de ventajas adicionales, entre las que se destacan la posibilidad de usar el semen fuera de la estación reproductiva, la extensión de la vida reproductiva de machos sobresalientes más allá de su vida y la posibilidad de comercialización de semen (nacional e internacional). Sin embargo, el uso de semen congelado en caprinos tiene algunos obstáculos respecto de otras especies mayores como los bovinos. En primer lugar está el hecho de que el plasma seminal caprino contiene una lipasa producida por las glándulas bulbouretrales, que interactúa con la leche y/o yema de huevo produciendo sustancias tóxicas para el espermatozoide (Leboeuf *et al.*, 2000).

Son muchos los problemas que enfrentan los espermatozoides cuando son sometidos a los procesos de enfriamiento, congelación y descongelación. El espermatozoide es una célula altamente especializada que no está preparada para sobrevivir en un ambiente desfavorable, ha perdido su capacidad de síntesis de compuestos para reparar su membrana plasmática (Medrano *et al.* 2010; Medrano, 2008; Purdy, 2006; Leboeuf *et al.*, 2004; Purdy *et al.*, 2004; Gravance *et al.*, 1997).

El proceso de congelación de semen causa cambios ultra estructurales, bioquímicos y funcionales para los espermatozoides, resultando en una reducción de la motilidad y la viabilidad, incompetencia para el transporte y la fertilidad. Debido a esto la fertilidad del semen congelado es más baja que la del semen fresco (Medrano, 2008; Atessahin *et al.*, 2008; Hidalgo *et al.* 2007; Leboeuf, 2000).

Un problema constante que se presenta durante la conservación del semen caprino ha sido el efecto perjudicial del plasma seminal sobre la viabilidad de los espermatozoides en diluyentes conteniendo yema de huevo o leche (Islam *et al.*, 2006). Con respecto a los diluyentes a base de yema de huevo el problema se le atribuye a una enzima que se encuentra en el plasma seminal y se origina en las secreciones de las glándulas bulbouretrales, llamada enzima coagulante de la yema de huevo. Esta enzima fue identificada como una fosfolipasa A, la cual cataliza la hidrólisis de la lecitina de la yema de huevo a ácidos grasos y lisolecitina, que resulta tóxica para el espermatozoide (Mohamed-Eikheir and Terada, 2004 a y b).

La depresión de los espermatozoides durante su conservación en diluyentes a base de leche se debe a una fracción proteica, también originada en la secreción de las glándulas

bulbouretrales, llamada SBUIII (identificada como una triglicérol lipasa), que interactúa con los componentes de la leche, inhibiendo fuertemente la motilidad de los espermatozoides (Leboeuf, 2000). Ésta se ha identificado como una N-glicosil-proteína monomérica de 55 -60 kDa (BUSgp60) que tiene afinidad con la heparina, muestra actividad de una triacilglicérol hidrolasa y el N-terminal (21 residuos de aminoácidos) y una secuencia peptídica interna (17 residuos de aminoácidos) de la BUSgp60, exhibe 50-70% de homología con secuencias de varios tipos de lipasas pancreáticas. Probablemente debido a la hidrólisis que ejerce sobre los fosfolípidos de la membrana plasmática o de los lípidos de la leche se forman ácidos grasos tóxicos para los espermatozoides, como el oleico, que son los que tienen efecto sobre los daños ocasionados a estos (Leboeuf *et al.*, 2000).

Los métodos de congelación son diversos, pero en general comienzan con un periodo de enfriamiento, llamado periodo de equilibrio (2-4 horas), en el cual se baja la temperatura del semen diluido desde 30° C aproximadamente hasta 4-5° C, después de este período se envasan pajillas o se hacen pellets con el semen. En el caso de las pajillas una vez llenas, se disponen por algunos minutos en vapor de nitrógeno líquido (4-5 cm por encima del nivel de nitrógeno durante 4-5 min., después se colocan dentro del nitrógeno, para que permanezca ahí hasta que sea utilizado. En Francia recomiendan suspender las pajillas primero, a 16 cm encima del nitrógeno, durante 2 min y después a 4 cm durante 3 min antes de sumergirlas dentro del nitrógeno.

En el caso de los pellets, se congelan en hielo seco a -79° C y después se colocan en nitrógeno líquido a -196° C, es un método rápido y simple.

El enfriamiento y la congelación ejercen cambios a los espermatozoides semejantes a aquéllos producidos por el proceso de capacitación. Este proceso involucra transformaciones metabólicas y morfológicas cuyo propósito es el de conferir a los espermatozoides la habilidad para fertilizar (Numan *et al.*, 2010; Azaredo *et al.*, 2001). Los espermatozoides que se obtienen en un eyaculado no son capaces de fertilizar al ovocito (descapitados) y adquieren esta capacidad al permanecer durante cierto tiempo en el aparato genital de la hembra. La membrana plasmática de los espermatozoides que han sido sometidos a la congelación, está desestabilizada (por el aumento de fluidez) y es susceptible a que ocurra la reacción acrosomal prematuramente (Semira y Schafer-Somi, 2007; Malik *et al.*, 1997), acortándose la vida de los espermatozoides considerablemente (Watson, 2000; Valencia *et al.*, 1994). Al utilizar la inseminación artificial, con semen descongelado, hay que considerar realizarla en un momento cercano a la ovulación para

aumentar las posibilidades de que ocurra la fertilización (Azaredo *et al.*; 2001, Dorado *et al.*, 2009; Medrano, 2008).

IV.- OBJETIVOS

El presente trabajo, constó de dos estudios independientes, uno con machos jóvenes y otro con machos adultos.

Objetivos del trabajo con machos jóvenes.

1).-Evaluar las variaciones estacionales del peso testicular, del epidídimo y de la reserva espermática en machos jóvenes criollos, determinando la relación de algunas características morfométricas con el tamaño testicular, del epidídimo y la producción espermática por testículo y epidídimo de acuerdo a la estación del año, así como, la variación estacional de producción de testosterona y de las características histológicas de los testículos y epidídimos de estos animales.

Objetivo del trabajo con machos adultos.

2).- Determinar el efecto de la estación del año sobre la calidad del semen caprino fresco y la capacidad de los espermatozoides de sobrevivir a la congelación y descongelación utilizando tres diluyentes.

V.- MATERIAL Y MÉTODOS

EL presente trabajo constó de dos estudios independientes; uno con machos jóvenes y otro con machos adultos.

Estudio 1.

Variaciones estacionales del peso testicular, del epidídimo y de la reserva espermática en cabritos criollos.

Se realizó durante un año en el rastro Municipal de Tlalnepantla, Estado de México, localizado a $99^{\circ} 11' 21.87''$ de longitud oeste y a $19^{\circ} 32' 27.23''$ de latitud norte y en el laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FES-C) Campo 4 “Rancho Almaraz”, de la Universidad Nacional Autónoma de México, localizada en el km 2.5 de la carretera Cuautitlán-Teoloyucan, Cuautitlán Izcalli, Estado de México y una ubicación geográfica de $99^{\circ} 11' 26.74''$ de longitud oeste y a $19^{\circ} 41' 41.67''$ de latitud norte y una altitud de 2255 msnm. El estudio 2 se llevó a cabo con cuatro sementales del Módulo Caprino y en el Laboratorio de Reproducción Animal de la FES-C (Morales *et al.* 1975) (figura 4 y 5). El clima predominante es templado subhúmedo (Cw) (García, 1989).

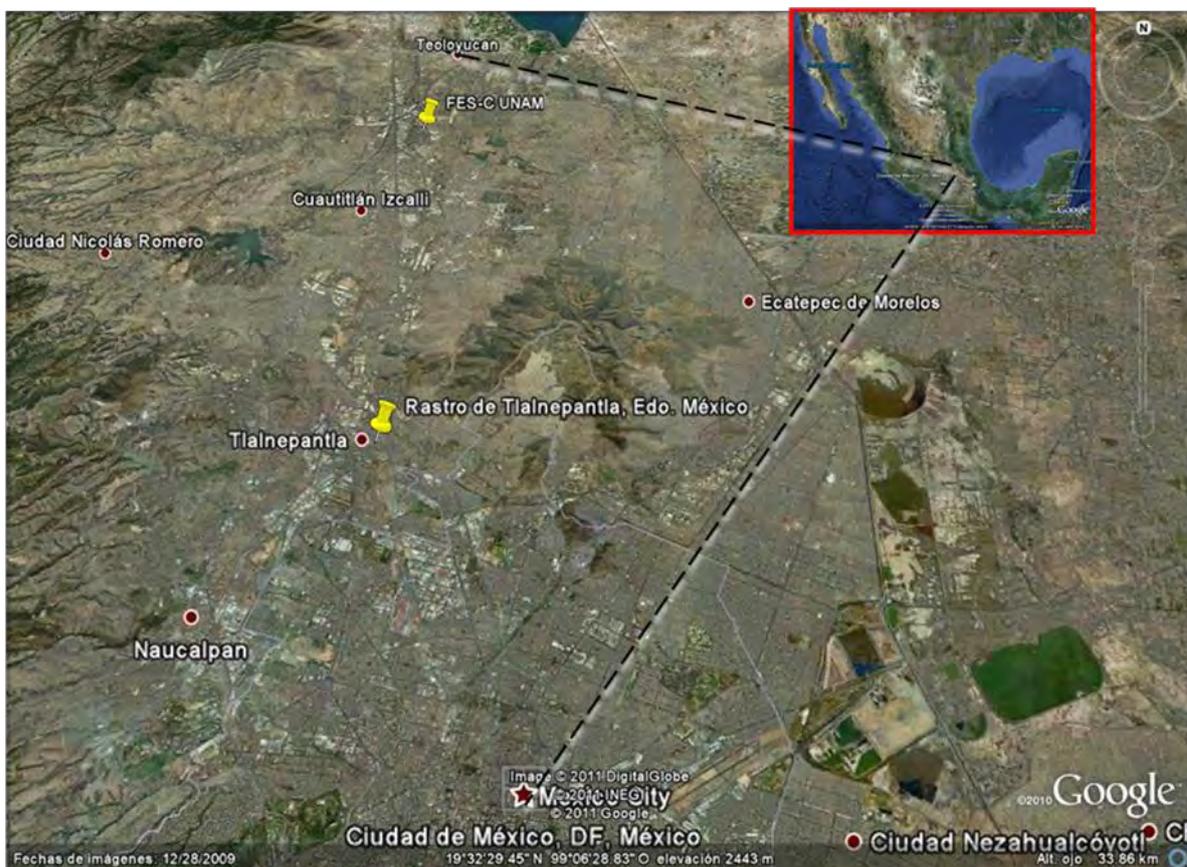


Figura 3. Localización del área de estudio.



Figura 4. Localización de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán UNAM (Campo 4 “Rancho Almaraz”).

Se utilizaron 59 cabritos criollos, provenientes de la región de Dolores Hidalgo, Guanajuato (21° 09' 16" de latitud norte y 100° 55' 35" de longitud oeste). Se revisaron únicamente cabritos sin muda dentaria y hasta dos incisivos permanentes, con un peso mínimo de 20 kg. En cada estación del año se eligió un mes que fuera representativo, siendo estos meses los siguientes: mayo (primavera), agosto (verano), noviembre (otoño) y febrero (invierno).

De cada cabrito se recabaron los siguientes datos en el corral: muda dental, peso corporal, perímetro torácico, longitud de la cruz a la base de la cola, altura del piso a la cruz, también se tomó una muestra de sangre (al momento del sacrificio) para determinar los niveles de testosterona en el suero.

Una vez sacrificados los animales, se recuperaron los órganos del saco escrotal y se trasladaron en refrigeración al Laboratorio de Reproducción Animal. Una vez ahí, a cada una de las muestras de sangre se les retiró el coágulo y se recuperó el suero, depositándolo en frascos de cristal, a los cuales se les etiquetó con la fecha, número del animal y época del año. Las muestras de suero se mantuvieron en congelación a -20°C

hasta ser procesadas para la determinación de progesterona por radioinmunoanálisis en fase sólida en el laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Posteriormente, se procedió a disecar el epidídimo y el testículo, obteniendo los siguientes datos: peso del epidídimo y peso testicular, utilizando una balanza granataria con una capacidad de 300 g y una precisión de 0.01 g. A continuación se destinaron el epidídimo derecho y el testículo derecho de cada cabrito para estimar las reservas espermáticas, mientras que los órganos izquierdos fueron fijados en solución de Bouin para su posterior evaluación histológica. Las reservas espermáticas se evaluaron de acuerdo a la técnica descrita por Amman y Lambiase (1967) y Amann y Almquist (1961). Del testículo se obtuvieron y pesaron 2.5 g los cuales se licuaron durante 5 minutos con 100 ml de la solución homogeneizante a base de Tritón 100 (Anexo 1), una vez licuado se pasó a través de un cedazo, se tomó una alícuota para llenar la cámara de Neubauer y se observó al microscopio de contraste de fase. Para obtener la concentración se contaron todas las cabezas de espermatozoides encontradas en los 25 cuadros de los dos lados de la cámara de Neubauer y se calculó el promedio de estos para la estimación de la concentración, el valor encontrado se multiplicó por 10,000 para obtener la cantidad de espermatozoides por mililitro, al multiplicar este resultado por 100 se obtuvieron las reservas espermáticas en 2.5 gramos de testículo, finalmente se dividió entre 2.5 para obtener la cantidad de espermatozoides por gramo de testículo. Las reservas espermáticas en el epidídimo se obtuvieron homogeneizando todo el órgano en 500 ml de solución de Tritón, se llenó la cámara de Neubauer y se contaron los espermatozoides encontrados en los 25 cuadros de ambos lados de la cámara, se calculó un promedio de los conteos de ambas cámaras, el valor encontrado se multiplicó por 10,000 para obtener la cantidad de espermatozoides por mililitro, al multiplicar este resultado por 500 se obtuvo la cantidad de espermatozoides por epidídimo. Las reservas espermáticas en el epidídimo se expresaron en millones de espermatozoides para el órgano, mientras que las del testículo se expresaron en millones de espermatozoides/gramo del órgano.

Los órganos guardados en solución de Bouin se trabajaron en el Laboratorio de Histología de la FES-C para realizar las preparaciones de tejido correspondientes. El área de los tubos seminíferos y del conducto del epidídimo, se estimaron mediante la fórmula para calcular el área de la elipse, donde $A = \pi$ por radio mayor por radio menor (Caballero *et al.*, 1975), donde se eligieron de cada muestra 10 segmentos centrales que representarán un patrón

constante en cuanto a forma y tamaño y se midieron con un microscopio de proyección sobre una escala en micrómetros previamente ajustada.

Los datos se analizaron estadísticamente mediante análisis de varianza, utilizando como covarianza la condición física del animal, estimada mediante la siguiente fórmula:

Condición física= Perímetro torácico + longitud de la cabeza a la base de la cola+ altura del piso a la cruz/ peso (Becerril *et al.*, 1986), empleando el procedimiento GLM del paquete estadístico SPSS versión 11. El modelo matemático empleado fue el siguiente (Snedecor y Cochran, 1971):

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \beta(CF_n - CF_{\bar{n}}) + E_{ij}$$

Donde: $i = 1, 2, \dots, k$

$J = 1, 2, \dots, r$

Y_{ij} es la j -ésima observación bajo el i -ésimo tratamiento

μ es la media global

t_i es el efecto del nivel i -ésimo del tratamiento

β es el coeficiente de regresión que relaciona Y_{ij} con la covariable CF_n

CF_n es la medida de la covariable que se hace para y_{ij}

$CF_{\bar{n}}$ es la media de los valores CF_n

E_{ij} es error aleatorio

Estudio 2.

Efecto de la estación del año sobre la calidad del semen caprino fresco y la capacidad de los espermatozoides de sobrevivir a la congelación y descongelación utilizando tres diluyentes.

El estudio 2 se llevó a cabo con cuatro sementales del Módulo Caprino y en el Laboratorio de Reproducción Animal de la FES-C (figura 3 y 4). Los animales permanecieron estabulados durante el período de estudio, alimentados con alfalfa, concentrado comercial y agua a libre acceso.

El trabajo se realizó durante los meses de mayo y junio para la primavera, agosto para el verano, octubre y noviembre para el otoño y diciembre y enero para el invierno. Se utilizaron cuatro machos adultos, dos de raza Alpina y dos de raza Nubia del Módulo de Producción Caprina de la FES-C. Obteniendo semen mediante la vagina artificial, dos veces a la semana y dos eyaculados por sesión (Valencia *et al.*, 1994; Trejo, 1995).

Cada eyaculado se dividió en cuatro alícuotas de la siguiente manera:

- I) Semen fresco, como control.
- II) Semen congelado en un diluyente a base de leche (anexo 2)
- III) Semen congelado en un diluyente a base de lactosa- yema de huevo (anexo 3)
- IV) Semen congelado en un diluyente a base de sacarosa- yema de huevo (anexo 4)

De cada eyaculado se evaluaron los siguientes parámetros:

Volumen del eyaculado, el cual se evaluó en un tubo graduado con capacidad de 15 ml y división mínima de 0.1 ml.

Concentración espermática, estimado en un espectrofotómetro previamente calibrado para semen caprino a 600 nm de longitud de onda, en dilución 1:100 (v/v) de citrato de sodio al 98 mM.

Motilidad progresiva de los espermatozoides estimada en una dilución 1:100 (V/V) de citrato de sodio 98 mM, mantenido a 37° C y observando al microscopio tres campos diferentes en un aumento de 100X, expresando el resultado en porcentaje en múltiplos de diez.

La motilidad progresiva al descongelar se realizó descongelando una pajilla en baño María a 30° C durante 30 segundos, diluyendo el contenido en una solución 1:1 V/V de citrato de sodio al 98 mM Se tomó una muestra con una pipeta Pasteur y se observaron al microscopio tres campos diferentes en un aumento de 100X, expresando el resultado en porcentaje y en múltiplos de 10. Para evaluar la recuperación de la motilidad, se asignó al valor del semen fresco una motilidad del cien porciento.

Para congelar el semen, el volumen restante de semen se dividió en tres alícuotas y se diluyó 1:3 (semen: diluyente). Después de la dilución, se procedió a envasar en pajillas de 0.25 ml, las pajillas se enfriaron de 37°C a 5°C en tubos de ensaye de 35 ml los cuales se mantuvieron en baño maría a 37°C. Se introdujeron las muestras en un refrigerador hasta alcanzar los \square 5°C, en por lo menos dos horas. Después las muestras se colocaron 15 minutos en vapor de nitrógeno para finalmente introducirlas al nitrógeno líquido durante aproximadamente 90 días, según el procedimiento descrito por Trejo *et al.* (1986) y Leboeuf *et al.* (2000).

Una vez por cada quince días, a los animales se les tomó una muestra sanguínea por venopunción de la yugular para evaluar el nivel de testosterona en el suero mediante radioinmunoensayo en fase sólida, dando el resultado en ng/ml. Las muestras de suero se mantuvieron en congelación a -20°C hasta ser procesadas en el laboratorio de

Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Los resultados se evaluaron mediante pruebas de análisis de varianza, utilizando la raza y el macho como bloque, la motilidad progresiva del semen fresco como covariable y la motilidad progresiva del semen descongelado como variable de respuesta, utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SPSS versión 16, el modelo se explica mediante la siguiente ecuación matemática (Snedechor y Cochcran, 1971).

$$Y_{ijklm} = \mu + D_i + S_j + M_k + R_l + D*S + \beta_1(MP_n - MP_{\bar{n}}) - E_{ijklm}$$

Donde:

Y_{ijklm} = variable de respuesta

μ = Es la media poblacional constante

D_i = Es el efecto el i-ésimo diluyente (i=leche, lactosa, sacarosa)

S_j = Es el efecto de la j-ésima estación del año (primavera, verano, otoño, invierno)

M_k = Es el efecto del k-ésimo macho evaluado como bloque

R_l = Es el efecto de l-ésimo efecto de la raza evaluado como bloque

J_m = Es el efecto de m-ésimo eyaculado en un día

$D*S$ = Es la interacción del diluyente por la estación del año

$B_1(MP_n - MP_{\bar{n}})$ = Es el efecto de la covariable

E_{ijklm} = Es el error aleatorio asociado a cada observación \approx NID $(0, \sigma^2)$

Las variables dependientes expresadas como porcentaje (motilidad progresiva del semen fresco y descongelado) fueron transformadas al arcoseno antes del análisis estadístico. Las diferencias entre medias se analizaron mediante la prueba de Duncan.

VI.- RESULTADOS

Estudio 1

La estación del año tuvo efectos significativos sobre el peso del epidídimo ($P < 0.01$), la cantidad de espermatozoides en el epidídimo ($P < 0.05$), el peso testicular ($P < 0.01$), la cantidad de espermatozoides por gramo de testículo ($P < 0.01$) y el área del conducto del epidídimo ($P < 0.01$). Por otra parte se observa que la estación del año no tuvo efecto sobre la cantidad de testosterona medida en el plasma sanguíneo, ni sobre el área de los túbulos seminíferos ($P > 0.05$). En el cuadro 1, se presentan los cuadrados medios para cada una de las variables estudiadas.

Cuadro 1. Cuadrados medios del análisis de varianza para las características del epidídimo y testiculares en cabritos a lo largo del año.

VARIABLE	FUENTE DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADOS MEDIOS
PESO DEL EPIDÍDIMO	ESTACIÓN	3	26.62**
	ERROR	53	1.18
ESPERMATOZOIDES EN EL EPIDÍDIMO	ESTACIÓN	3	48986556.93*
	ERROR	50	17763142.44
PESO TESTICULAR	ESTACIÓN	3	1927.63**
	ERROR	53	468.10
ESPERMATOZOIDES POR GRAMO DE TESTÍCULO	ESTACIÓN	3	1801.04**
	ERROR	51	619.35
TESTOSTERONA	ESTACIÓN	3	16.07 NS
	ERROR	29	17.47
AREA DEL CONDUCTO DEL EPIDÍDIMO	ESTACIÓN	3	1564774.54**
	ERROR	52	393616.17
AREA DE LOS TUBULOS SEMINIFEROS	ESTACIÓN	3	7894.5 NS
	ERROR	50	7427.63

* ($P < 0.05$) ** ($P < 0.01$) NS: no significativo ($P > 0.05$)

Los resultados obtenidos para las variables evaluadas en este trabajo se pueden apreciar en el cuadro 2. En cuanto al peso del epidídimo, éste fue más pesado en primavera (16.61 ± 0.84 g) que en el verano (13.78 ± 0.71 g), el otoño (13.55 ± 0.77 g) y el invierno (13.27 ± 0.60 g), siendo estadísticamente diferentes ($P < 0.05$). Las otras épocas no tuvieron diferencias estadísticas significativas entre ellas ($P > 0.05$).

La cantidad de espermatozoides en el epidídimo (millones) fue mayor en otoño (11555 ± 1226.0), primavera (11182.6 ± 1340.9) e invierno (9415 ± 946.5) ($P > 0.05$). El otoño y la primavera fueron diferentes ($P < 0.05$) con el verano (7003.6 ± 1279.5), no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre el invierno y el verano ($P > 0.05$).

En cuanto al peso testicular, el mayor se obtuvo en la primavera (118.66 ± 6.86 g), no encontrando diferencia estadística ($P > 0.05$) con el verano (104.0 ± 5.80 g), pero si con el otoño (92.87 ± 6.29 g) y con el invierno (92.07 ± 4.74 g) ($P < 0.05$). No se presentaron diferencias estadísticas entre el verano, otoño e invierno, para esta variable ($P > 0.05$).

La cantidad de espermatozoides por gramo de testículo (millones) fue igual durante el invierno (107.68 ± 5.45), el otoño (105.72 ± 7.24) y la primavera (95.85 ± 7.92) ($P > 0.05$). El invierno y el otoño tuvieron mayor cantidad de espermatozoides que el verano (82.29 ± 7.55) ($P < 0.05$), aunque la primavera no presentó diferencias con el verano ($P > 0.05$).

El área del conducto del epidídimo (micrómetros cuadrados) fue mayor durante la primavera (3105.42 ± 199) y el invierno (2466.19 ± 144.68), aunque éste último no presentó diferencias significativas con el verano (2315.95 ± 168.56) y el otoño (2296.87 ± 82.58) ($P > 0.05$).

Los niveles de testosterona (ng/ml) y el área de los tubos seminíferos (micrómetros cuadrados) fueron estadísticamente iguales para todas las estaciones del año ($P > 0.05$).

Cuadro 2. Características epididimarias y testiculares en cabritos criollos durante las cuatro estaciones del año (medias mínimo cuadráticas \pm error estándar).

	PRIMAVERA	VERANO	OTOÑO	INVIERNO
PESO DEL EPIDÍDIMO (gramos)	16.61 \pm 0.84 a	13.78 \pm 0.71 b	13.55 \pm 0.77 b	13.27 \pm 0.60 b
ESPERMATOZOIDES EN EL EPIDÍDIMO (millones)	11182.6 \pm 1340.9 a	7003.6 \pm 1279.5 b	11555.0 \pm 1266.0 a	9415.0 \pm 946.5 ab
PESO TESTICULAR (gramos)	118.66 \pm 6.86 a	104.0 \pm 5.80 ab	92.87 \pm 6.29 b	92.07 \pm 4.74 b
ESPERMATOZOIDES POR GRAMO DE TESTÍCULO (millones)	95.85 \pm 7.92 ab	82.29 \pm 7.55 b	105.72 \pm 7.24 a	107.68 \pm 5.45 a
TESTOSTERONA (ng/mL)	5.10 \pm 1.71 a	2.55 \pm 1.60 a	3.38 \pm 1.32 a	1.42 \pm 1.35 a
ÁREA DEL CONDUCTO DEL EPIDÍDIMO (micrómetros cuadrados)	3105.42 \pm 199.61 a	2315.97 \pm 168.56 b	2296.87 \pm 182.58 b	2646.2 \pm 144.68 ab
ÁREA DE LOS TUBOS SEMINIFEROS (micrómetros cuadrados)	367.05 \pm 27.51 a	407.09 \pm 23.20 a	345.92 \pm 25.07 a	382.84 \pm 21.00 a

Literales diferentes entre columnas representan diferencia estadística significativa ($P < 0.05$).

Literales iguales entre columnas no hay diferencia estadística significativa ($P > 0.05$).

Estudio 2

Se encontró un efecto de la estación del año, del diluyente ($P < 0.0001$) y de la interacción estación del año-diluyente ($P < 0.005$) sobre la motilidad progresiva que presentaron los espermatozoides al descongelarse. Por otra parte no se encontró efecto de la raza y el eyaculado sobre esta misma característica ($P > 0.05$). En el cuadro 3 se aprecian los valores de cuadrado medio, cuadrado medio del error y la significancia de todas las variables evaluadas en este estudio.

Cuadro 3. Cuadrados medios del efecto y de error para la motilidad progresiva del semen descongelado.

FUENTE DE VARIACIÓN	CUADRADO MEDIO	GL	CUADRADO MEDIO DEL ERROR	GL	F	SIG
EFEECTO DE LA RAZA	151.761	1	307.014	414	0.494	0.48 NS
EFEECTO DEL EYACULADO	262.513	2	306.853	413	0.856	0.42NS
EFEECTO DE LA ESTACIÓN DEL AÑO	2142.525	3	293.272	412	7.30	0.0001**
EFEECTO DEL DILUYENTE	15862.024	2	231.311	413	68.57	0.0001**
INTERACCIÓN ESTACIÓN DEL AÑO Y DILUYENTE	2580.112	6	223.223	6	11.55	0.004*

* $P < 0.0001$ ** $P < 0.005$ NS: No significativa

En cuanto a la motilidad progresiva obtenida al evaluar el efecto de la raza se obtuvo una media de 19.73 ± 1.27 % de error estándar para la raza Alpina, mientras que para la raza Nubia se obtuvo una media de 20.19 ± 1.19 %, no encontrando diferencias significativas entre los valores para ambas razas ($P > 0.05$) (cuadro 4).

Las medias y el error estándar obtenidos para la motilidad progresiva del semen descongelado evaluando el efecto del número de eyaculado, se aprecian en el cuadro 5 y fueron los siguientes; para el eyaculado uno 20.608 ± 1.206 % y para el eyaculado dos

19.133 ± 1.262 %, no encontrando diferencias significativas entre los valores por eyaculado (P>0.05).

Cuadro 4. Efecto de la raza sobre la motilidad progresiva del semen descongelado (%).

RAZA	N	MEDIA	ERROR ESTANDAR	95% INTERVALO	DE CONFIANZA
				LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
ALPINA	195	19.73a	1.27	16.809	21.819
NUBIA	222	20.19a	1.19	18.215	22.901

Literales iguales no hay diferencia estadística significativa (P>0.05)

Cuadro 5. Efecto del eyaculado sobre la motilidad progresiva del semen descongelado (%).

EYACULADO	n	MEDIA	ERROR ESTANDAR	95% INTERVALO	DE CONFIANZA
				LIMITE INFERIOR	LIMITE SUPERIOR
1	216	20.608a	1.206	18.237	22.979
2	201	19.29a	1.262	16.653	21.613

Literales iguales no hay diferencia estadística significativa (P>0.05)

Al evaluar el efecto de la estación del año, se encontró que la motilidad progresiva al descongelar el semen, fue mejor durante la estación de invierno (24.023 ± 1.513 %), aunque no presentó diferencias significativas (P>0.05) con el otoño (22.980 ± 1.836 %), pero si con la primavera (18.272 ± 2.337 %) y el verano (13.814 ± 1.639 %) (P<0.05). Por otra parte, los valores encontrados para el otoño no tuvieron diferencias significativas con los encontrados para la primavera (P>0.05), pero sí para los encontrados en verano (P<0.05). Los valores encontrados para la primavera y el verano tampoco fueron estadísticamente diferentes (P>0.05) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Efecto de la estación del año sobre la motilidad progresiva del semen descongelado (%).

ESTACIÓN DEL AÑO	n	MEDIA	ERROR ESTANDAR	95% INTERVALO LIMITE INFERIOR	DE CONFIANZA LIMITE SUPERIOR
PRIMAVERA	54	18.272bc	2.337	13.677	22.866
VERANO	126	13.814c	1.639	10.593	17.036
OTOÑO	87	22.980ab	1.836	19.371	26.589
INVIERNO	150	24.023a	1.513	21.050	26.996

Literales iguales no hay diferencia estadística significativa (P>0.05)

Literales diferentes hay diferencia estadística significativa (P<0.05)

Con relación a la evaluación de la motilidad progresiva del semen descongelado entre los diferentes diluyentes utilizados se encontró que hubo diferencias estadísticas significativas entre el diluyente a base de sacarosa (31.12 ± 1.29 %), el de leche (18.98 ± 1.29 %) y el de lactosa (9.82 ± 1.29 %) (P<0.0001). Encontrando también diferencias entre el diluyente a base de leche y el de lactosa (P>0.05) (cuadro 7).

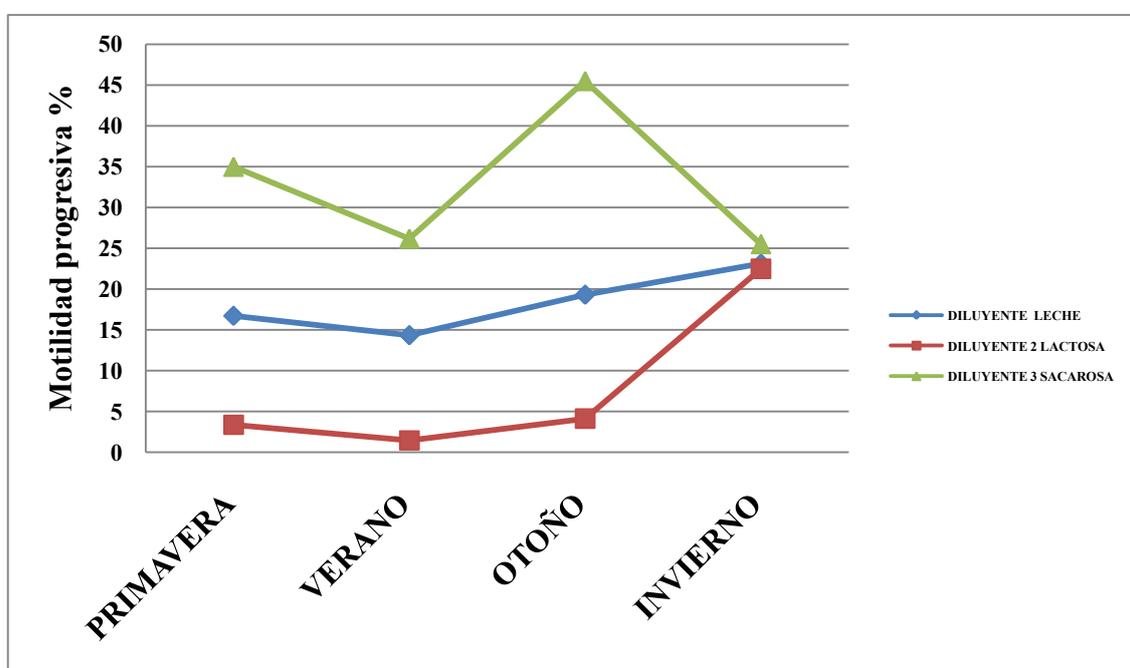
Cuadro 7. Efecto del diluyente sobre la motilidad progresiva del semen descongelado (%).

DILUYENTE	n	MEDIA	ERROR ESTANDAR	95% INTERVALO LIMITE INFERIOR	DE CONFIANZA LIMITE SUPERIOR
LECHE	139	18.98b	1.29	16.443	21.514
LACTOSA	139	9.82c	1.29	7.292	12.363
SACAROSA	139	31.12 ^a	1.29	28.587	33.658

Literales diferentes hay diferencia estadística significativa (P<0.05)

En cuanto a los resultados obtenidos para la interacción de la estación del año y los diluyentes utilizados para congelar el semen (Gráfica 1), se encontró que la motilidad progresiva de semen descongelado fue mejor en el otoño con el diluyente a base de sacarosa (45.51 ± 2.5 %), habiendo diferencias estadísticas con las otras estaciones del año y con el mismo diluyente, así como para los demás diluyentes en todas las estaciones del año (P<0.05). El semen congelado con sacarosa presentó la mejor motilidad al descongelar, sin diferencia en todas las estaciones del año (P<0.05), a excepción de los valores encontrados en el invierno (25.52 ± 1.90 %), donde no se encontraron diferencias

significativas con el diluyente de leche ($23.12 \pm 1.90 \%$), ni con el diluyente de lactosa ($22.48 \pm 1.90 \%$) ($P > 0.05$). El semen congelado con diluyente a base de lactosa en primavera (3.38 ± 3.17), verano ($1.45 \pm 2.07 \%$) y otoño (4.13 ± 2.5) fue el que obtuvo más bajos valores al descongelar ($P > 0.05$). El semen congelado con diluyente a base de leche, presentó mejor motilidad en el invierno ($23.12 \pm 1.90 \%$) y el otoño ($19.31 \pm 2.50 \%$), no habiendo diferencia estadística entre estas estaciones del año ($P > 0.05$), pero si las hubo para el semen congelado con este diluyente para primavera ($16.72 \pm 3.17 \%$) y verano ($14.35 \pm 2.07 \%$) ($P < 0.05$). Durante la época de invierno no se presentaron diferencias entre la motilidad al descongelado con ninguno de los diluyentes ($P > 0.05$).



Gráfica 1. Efecto de la interacción estación del año y diluyente sobre la motilidad progresiva del semen descongelado.

VII.- DISCUSIÓN

Estudio 1

Los efectos estacionales que se observan en este trabajo, sobre las características de peso y cantidad de espermatozoides por epidídimo y por gramo de testículo, en donde se puede notar que a pesar que hay épocas donde el peso del órgano es mayor (primavera y verano), en comparación con el otoño y el invierno, esto no refleja un mayor contenido de espermatozoides en ellos. A pesar que el contenido de espermatozoides en el epidídimo es mayor en la primavera, no presento diferencia significativa con el otoño e invierno, siendo el verano la estación que presenta un menor conteo para este órgano. En la reserva espermática testicular se aprecia cómo se va incrementando del verano al otoño y empieza su declive en el invierno, llegando a un conteo muy bajo en la primavera. Benavente *et al.* (2007), trabajaron con machos de las Islas Canarias, de varias edades y encuentran una curva de volumen testicular, en animales de un año, diferente a la que presentan machos de dos o más años, en donde se aprecia que hay un volumen bajo en los meses de primavera, se incrementa un poco en los de verano y otoño y llega a un pico en los meses de invierno. Estos datos no concuerdan con lo encontrado en este trabajo para el peso de los órganos. Esta diferencia, posiblemente se explica por el crecimiento del animal, al ser machos jóvenes su desarrollo corporal y por ende el de sus órganos del aparato reproductor, no ha concluido, por lo que buena parte del incremento del volumen testicular se debe al crecimiento mismo del animal, esto concuerda con los resultados descritos por Agga *et al.* (2011), quienes evalúan el efecto de la raza y la edad de los animales, utilizando tres razas nativas etíopes (180 animales de cada una) y obtienen que la raza y la edad de los animales tienen un efecto significativo sobre la condición corporal, peso corporal, circunferencia escrotal, peso del epidídimo y peso testicular, pero también concluyen que hay otros factores que influyen en la producción de espermatozoides y la eficiencia reproductiva de los animales, como son la estación del año y el estado nutricional del animal. Este efecto estacional es el que se observa en este estudio, debido a que el peso del epidídimo y del testículo fue mayor para la primavera que para las otras épocas del año.

La relación que tienen el peso de los órganos y su correspondiente reserva espermática hacen pensar que hay un mecanismo fisiológico que hace más eficiente la espermatogénesis en determinadas épocas del año (otoño e invierno), en las cuales el peso es más bajo y la cantidad de espermatozoides encontrados es mayor al de las otras épocas. En este sentido Elsayed *et al.* (2007), trabajando con animales Nubios Egipcios, con una

edad de 18-19 meses y un rango de peso corporal de 18 a 25 kg y a 30° de latitud norte, encuentran un efecto estacional al medir el número de capas celulares presentes en los túbulos seminíferos, lo cual es un buen indicador de actividad testicular relacionada con la espermatogénesis, siendo menor el número de capas en la primavera (2.5) y mayor en el otoño (5.6). Además estos investigadores encuentran también un efecto estacional en la actividad de las células de Leydig, presentando mayor actividad en el verano y otoño al encontrar en estas; núcleos elongados, abundante retículo endoplásmico liso, numerosas mitocondrias, pocas gotas de grasa y pocos ribosomas libres. Durante el invierno encontraron una estructura multivesicular característica dentro del citoplasma, notándose numerosas vesículas de diferentes tamaños, estructuras parecidas a ribosomas y gotas de grasa y en la estación de primavera las células presentan numerosas y grandes gotas de grasa, pocas mitocondrias y vacuolas observadas en el citoplasma y el retículo endoplásmico liso es menos abundante. Las gotas de grasa están relacionadas con la capacidad que tienen estas células para almacenar lípidos, sobre todo colesterol, el cual es utilizado para la síntesis de testosterona. La época del año de menor actividad espermatogénica en este estudio fue el verano y no la primavera como sucede en el trabajo de Elsayed *et al.* (2007), esto puede deberse a la edad y raza de los animales (Agga, *et al.*, 2011) y a la latitud del área donde se realizó el trabajo (Benavente *et al.*, 2007; Leboeuf *et al.*, 2000), ya que este estudio se realizó con animales provenientes de un lugar cercano a los 21° de latitud norte.

En cuanto al efecto estacional del peso testicular, éste se puede demostrar por la proporción que guardan tanto el tejido intersticial como el de los túbulos seminíferos, como lo demuestran también Elsayed *et al.* (2007), en su trabajo encontraron un área de tejido intersticial del 50% y un área de tejido de los túbulos seminíferos de 50% para la estación de primavera, incrementando el área de túbulos seminíferos en el verano (72%), el otoño (65%) y el invierno (76%), ésta puede ser una posible explicación al mayor peso testicular encontrado, que coincide con la época de primavera, además de no olvidar que los animales utilizados en este trabajo son más jóvenes y por lo tanto, sus órganos están en desarrollo y podrían contener mayor cantidad de tejido intersticial. Estos hallazgos, también pueden demostrar el porqué de la mayor cantidad de espermatozoides en el testículo para las épocas de otoño e invierno en este estudio, al haber mayor cantidad de tejido en los túbulos seminíferos, el grosor de los túbulos aumenta y el número de capas celulares también, lo cual también fue encontrado por estos investigadores (Elsayed *et al.*,

2007), por lo que la actividad del epitelio se incrementa y por ende la espermatogénesis también, produciéndose una mayor cantidad de espermatozoides.

En cuanto al efecto de la estación del año sobre las concentraciones de testosterona estas no fueron significativamente diferentes, caso contrario a lo que sucede en el trabajo de Talebi *et al.* (2009), quienes reportan concentraciones de testosterona significativamente mayores para el verano (10.1 ng/ml) y el otoño (8.1 ng/ml) que para la primavera (3.0 ng/ml) y el Invierno (2.5 ng/mL) ($P < 0.05$). Datos similares reportan Elsayed *et al.* (2007) y los relacionan con una mayor presencia de retículo endoplásmico liso en las células de Leydig, el cual provee de sitios de unión en su superficie a numerosas enzimas necesarias para una gran variedad de conversiones esteroideogénicas, en las épocas de mayor concentración de testosterona, siendo baja su presencia en la primavera y el invierno, además de que en estas épocas, en las células hay mayor presencia de gotas grandes de grasa, menos mitocondrias y gran cantidad de vacuolas en el citoplasma.

Estudio 2

En este trabajo no se encontraron efectos significativos para la raza, el macho y para el número de eyaculado sobre la motilidad progresiva del semen descongelado, lo cual sucede frecuentemente cuando las razas están adaptadas a su medio ambiente según lo describen Leboeuf *et al.* (2000) y Parvizy y Holtz (2005).

En relación al efecto de la estación del año, en este trabajo se encontró que las mejores épocas para congelar semen es en invierno (24.02 %) y en otoño (22.9 %) por la motilidad que tiene el semen al ser descongelado, que coinciden con la principal época de apareamiento para nuestro país, declinando la motilidad del semen en la primavera (18.27 %) y llegando a su valor más bajo en el verano (13.81 %), considerada época de no apareamiento en nuestro país (Arbiza y De Lucas, 2001; Delgadillo, 2005; Chemineau 1993). Furtoss *et al.* (2009), no encontraron un efecto estacional sobre esta característica del semen descongelado. Por otra parte, Ceiro *et al.* (2006) encontraron efecto de año al evaluar la motilidad progresiva al descongelar.

En cuanto al efecto del diluyente, en este estudio se obtuvo mejor motilidad al descongelar con diluyente a base de sacarosa-yema de huevo (31%), seguido de diluyente a base de leche (18.9 %) y del diluyente a base de lactosa-yema de huevo (9.82 %), en la literatura se manejan un gran número de diluyentes o variaciones de estos al agregarles antioxidantes, vitaminas y minerales, que hacen compleja la comparación entre ellos. Hay trabajos donde

los valores de motilidad concuerdan con los de este trabajo, por lo menos para los diluyentes a base de de sacarosa y a base de leche, como el trabajo de Numan *et al.* (2010) que con diluyente a base de tris obtuvieron motilidad progresiva al descongelar de $15.7\pm 2.1\%$, o la motilidad reportada por Da Silva *et al.* (2009), obtienen un efecto del diluyente adicionados con antioxidantes en tris ácido cítrico, con valores que van desde 26% hasta 31%, adicionando trolox y catalasa. Brito *et al.* (2004) utilizando diluyentes a base de lactosa yema de huevo (45.8%) y tris glucosa yema de huevo (40.2%) obtuvieron una motilidad al descongelar significativamente mayor en el de lactosa ($P < 0.05$), en carneros. En otro trabajo encontraron en semen refrigerado un efecto del diluyente sobre la motilidad espermática (Paulenz *et al.*, 2005)

Hay trabajos que reportan no haber encontrado efecto significativo del diluyente sobre la motilidad progresiva del semen descongelado, como el reportado por Dorado *et al.* (2010) quienes no encontraron efecto del diluyente Tris ($33.0\pm 1.02\%$) contra el diluyente leche ($32.01\pm 1.32\%$) evaluada con el método CASA (análisis de semen asistido por computadora).

También hay trabajos que aunque no evalúan el efecto de varios diluyentes, si los valores obtenidos de motilidad al descongelar son diferentes a los encontrados en este estudio. Como el trabajo de Dorado *et al.* (2009), quienes reportan motilidad de $56.07\pm 1.32\%$ con un diluyente a base de tris-ácido cítrico (Byladil), siendo más alto este valor que el obtenido en este estudio.

Estas variaciones en cuanto a la motilidad evaluada al descongelar se deben a varios factores entre los que se encuentran; los relacionados a la composición del diluyente, los relacionados a la técnica de congelación-descongelación y los relacionados al contenido del semen, principalmente a la composición del plasma seminal (Medrano, 2008, Leboeuf *et al.*, 2000)

Naing *et al.* (2010) hacen una comparación de diluyentes con monosacáridos (fructuosa y glucosa) y disacáridos (sucrosa y trealosa), la combinación de glucosa trealosa mejora significativamente las características postdescongelado del semen caprino de raza Boer.

VIII.- CONCLUSIONES

Estudio 1

Se encontró un efecto de la estación del año sobre el peso del epidídimo y del testículo, así como la respectiva cantidad de espermatozoides en cada uno de ellos, los datos obtenidos en este estudio sugieren que en machos jóvenes, la producción de gametos es independiente al desarrollo de los órganos. Debido esto a que el mayor peso de los órganos ocurre, principalmente en la primavera y la mayor cantidad de espermatozoides en los órganos se presentan en el otoño.

No se presentó un efecto estacional para la concentración de testosterona y para el área de los túbulos seminíferos.

Estudio 2

No existió un efecto de la raza, macho y del número de eyaculado sobre la motilidad progresiva del semen descongelado.

Se presenta un efecto significativo de la estación del año, el tipo de diluyente y la interacción de estos, sobre la motilidad progresiva del semen descongelado.

El otoño y el invierno son las mejores estaciones para congelar semen, debido a que se obtienen las mejores motilidades al descongelar el semen, demostrando una mayor capacidad a la congelación y descongelación de los espermatozoides de estas épocas.

El mejor diluyente fue el que se elaboró a base de sacarosa-yema de huevo, con el que se obtuvo la mejor motilidad.

Las mejores motilidades de semen descongelado se obtuvieron con semen a base de sacarosa-yema de huevo durante todas las estaciones del año.

La capacidad de los espermatozoides a la congelación y descongelación fue similar durante la época de invierno para todos los diluyentes, presentando similar motilidad espermática al descongelado, por lo que es la mejor época del año para congelar semen.

Se debe continuar con este tipo de trabajos en la búsqueda de una mejor evaluación de la congelabilidad del semen, que permita garantizar un proceso de congelación-descongelación no tan dañino para los espermatozoides y obtener una buena fertilidad al utilizar este semen en los programas de inseminación artificial.

IX.- LITERATURA CITADA

- Agga, G.E., Udala, U., Regassa, F., Wudie, A., 2011. Body measurements of bucks of three goat breeds in Ethiopia and their correlation to breed, age and testicular measurements. *Small Rumin. Res.* 95, 133-138.
- Ahmed, M.A., Mohammad, J.T., Rami, T.K., 2004. Factors affecting semen characteristics and scrotal circumference in Damascus bucks. *Small Rumin. Res.* 53, 141-149.
- Ahmed, M.M.M., Makawi, S.A., Gadir, A.A. 1997. Reproductive performance of Saanen bucks under tropical climate. *Small Rumin. Res.* 26, 151-155.
- Álvarez, R.L., Zarco, Q.L.A., 2001. Los fenómenos de bioestimulación sexual en ovejas y cabras. *Vet. Méx.* 32 (2), 117-129.
- Amman, R.P., Lambiase, J.R., 1967. Use for Triton X-100 in determining sperm reserves. *J. Anim. Sci.* 25, 917.
- Amann, R.P., Almquist, J.O., 1961. Reproductive capacity of dairy bulls. I.- Technique for direct measurements of gonadal and extragonadalsperm reserves. *J. Dairy Sci.* 44, 1537-1543.
- Anónimo, 2010. Caprinos. La ganadería Mexicana. *Revista Ganadero.* 2010. 136-141.
- Arbiza, A.S.I., De Lucas, T.J., 2001. La leche caprina y su producción. Editores Mexicanos Unidos, S.A., México.
- Arrebola, F., Pérez-Marín, C.C., Santiago-Moreno, J., 2010. Limitation of seasonality in reproductive parameters of Mediterranean bucks, using photoperiod treatment. *Small Rumin. Res.* 89, 31-35.
- Atessahin, A., Numan, B.M., Barbaros, T.P., Kizil, M., 2008. Effects of anti-oxidant additives on microscopic and oxidative parameters of Angora goat semen following the freeze-thawing process. *Small Rumin. Res.* 77, 38-44.
- Azarêdo, G.A., Esper, C.R., Resende, K.T., 2001. Evaluation of plasma membrane integrity of frozen-Thawed goat spermatozoa with or without seminal plasma. *Small Rumin. Res.* 41, 257-263.
- Baldassarre, H., 2007. Reproducción asistida en la especie caprina: Inseminación artificial a clonación. *Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte.* 31 (2), 274-282.

- Baldasarre, H., Karatzas, C.N., 2004. Advanced assisted reproduction technologies (ART) in goats. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83, 255-266.
- Barkawi, A.H., Elsayed, E.H., Ashour, G., Shehata, E., 2006. Seasonal Changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in Zaraibi goats. *Small Rumin. Res.* 66, 209-213.
- Barrera-Saldaña, H.A., Ascacio-Martínez, J.A., Sifuentes-Rincón, A.M., Arellano-Vera, W, Arbiza, S.I., 2010. Applications of biotechnology and genomics in goats. *Small Rumin. Res.* 89, 81-90.
- Becerril, B.J., Trejo, G.A., Gómez, E.G., 1986. Correlaciones entre una escala de condición física, el perímetro torácico, el peso, la fertilidad y la prolificidad en ovejas Lincoln. *Memorias del XII Congreso Nacional de Buiatría*. Tampico, Tamaulipas, México. 21 al 23 de agosto, 684-688.
- Benavente, M.F., Fresno, M.R., Delgado, J.V., 2007. Volumen testicular en macho cabrío tinerfeño. *Archivos de Zootecnia*. 56 (suppl. 1), 551-556.
- Boyazoglu, J., Hatziminaoglou, I., Morand-Fehr, P., 2005. The role of the goat in society: Past, present and perspectives for the future. *Small Rumin. Res.* 60, 13-23.
- Bowles, J., Koopman, P., 2010. Sex determination in mammalian germ cell: extrinsic versus intrinsic factors. *Reproduction*. 139, 943-958.
- Brito, F.I., Valencia, M.J., Balcázar, S.A., Angulo, M.R., Mejía, V.O., 2004. Congelación de semen de carnero en pellets con los diluyentes tris-glucosa yema de huevo o lactosa-yema de huevo. *Avances en Investigación Agropecuaria, Universidad de Colima*. 8 (2), 1-9.
- Ceiro, F., Batista, R., Grimon, M., Brea, O., Neira, S., 2006. Evaluación de las características seminales del semental cabrío y su respuesta ante la crioconservación. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*. VII (7), 1-6. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070706.html>.
- Chemineau, P., 1993. Reproducción de las cabras originarias de las zonas tropicales. *Revista Científica, FCV-Luz*. III (3), 1-6.
- Córtez, R.C., Germán, A.C.G., Ortiz, S.J., Salazar, O.J.A., Luque, A.M., Rodríguez, C.J.C., Gallegos, S.J., 2005. Manejo reproductivo del macho cabrío: Una revisión. IV Curso Internacional de Reproducción en Rumiantes. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Estado de México, México. 179-212.

Da Silva, M.M., Dimas, B.S., Costa, A.H., Sicherle, C.C., Bartoli, S.D., Rodello, L., 2009. Motility and viability of ram sperm cryopreserved in a Tris-egg yolk extender supplemented with anti-oxidants. *Small Rumin. Res.* 85, 85-90.

Delgadillo, S.J.A., Vielma, J., Flores, J.A., Véliz, F.G., Duarte, G., Hernández, H., 2008. La calidad del estímulo emitido por el macho determina la respuesta de las cabras sometidas al efecto macho. *Trop. Subtrop. Agrosys.* 9 (1), 39-45.

Delgadillo, S.J.A., 2005. Anatomía y fisiología del tracto genital. En: *Inseminación artificial en caprinos*. 1ª. Ed. Edt. Trillas. México D.F.13-26.

Delgadillo, S.J.A., Flores, C.J.A., Véliz, D.F.G., Duarte, M.G., Vielma, S.J., Poindron, M.P., Malpaux, B., 2003. Control de la reproducción de los caprinos del subtrópico mexicano utilizando tratamientos fotoperiódicos y efecto macho. *Vet. Méx.* 34 (1), 69-79.

Devendra, C., 2010. Concluding synthesis and the future for sustainable goat production. *Small Rumin. Res.* 89, 125-130.

Dorado, J., Muñoz-Serrano, A., Hidalgo, M., 2010. The effect of cryopreservation on goat semen characteristics related to sperm freezability. *Anim. Reprod. Sci.* 121, 115-123.

Dorado, J., Hidalgo, M., Muñoz, A., Rodríguez, I., 2009. Assessment of goat semen freezability according to the spermatozoa characteristics from fresh and frozen samples. *Anim. Reprod. Sci.* 112, 150-157.

Elsayed, E.H., Barkawi, A.H., Shafie, M.M., Ashour, G., Shehata, E., 2007. Seasonal variation in the activity of the leydig cells in Egyptian Nubian goat (Zaraibi) bucks. *Small Rumin. Res.* 70, 280-285.

FAO, 2010. (<http://faostat.fao.org/site/573/DesktopDefault.aspx?PageID=ancor>)

Flores, J.A., Duarte, G., Vielma, J., Hernández, H., Fernández, I.G., Fitz, R.G., Delgadillo, J.A., 2010. Efecto macho en cabras. *Memorias Curso Bases de la Cría Caprina*. El trópico una alternativa para la producción caprina. Coatepec, Veracruz, 4-6 de agosto.

Flores, G.H.F, Medrano, H.JA., 2008. Espermatogénesis. En: *Reproducción de Ovejas y Cabras*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. 49-65.

Ford Jr., D., Okere, C., Bolden-Tiller, O., 2009. Libido test scores, body conformation and testicular traits in Boer and Kiko goat bucks. *J. Agric. Biol. Sci.* 4(5), 54-61.

LFourie, P.J., Schwalbach, L.M., Naser, F.W.C., Greyling, J.P.C., 2005. Relationship between body measurements and serum testosterone levels of Dorper rams. *Small Rumin. Res.* 56, 75-80.

Fourie, P.J., Schwalbach, L.M., Naser, F.W.C., Van der Westhuizen, C., 2004. Scrotal, testicular, and semen characteristics of young Dorper rams managed under intensive and extensive conditions. *Small Rumin. Res.* 54, 53-59.

Furtoss, V., David, I., Leboeuf, B., Guillouet, P., Boué, P., Bodin, L., 2009. Genetic and non-genetic parameters of several characteristics of production and semen quality in young bucks. *Anim. Reprod. Sci.* 110, 25-36.

Gadella, B.M., van Gestel, R.A., 2004. Bicarbonate and its role in mammalian sperm function. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83, 307-319.

García, E., 1989. Atlas Nacional de México, "Climas". Vol. II, escala 1:4,000,000, México. Instituto de Geología. UNAM.

González-Bulnes, A., López, S.A., Santiago, M.J., Veiga, L.A., Toledano, D.A., Contreras, I., 2005. II. Métodos alternativos en biotecnologías reproductivas en ovinos y caprinos. IV Curso Internacional de Reproducción en Rumiantes. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Estado de México, México. 17-28.

Gravance, C.G., Robertson, K.R., Champion, Z.J., Casey, P.J., 1997. The effects of cryopreservation on the morphometric dimensions of caprine sperm heads. *Anim. Reprod. Sci.* 49, 37-43.

Gurría, T.F., 2010. Problemática y Perspectivas de la Caprinocultura Mexicana. Memorias: Curso Bases de la Cría Caprina. El trópico una alternativa para la producción caprina. Coatepec, Veracruz, 4-6 de Agosto.

He, Z., Kokkinaki, M., Pant, D., Gallicano, G.I., Dym, M., 2009. Small RNA molecules in the regulation of spermatogenesis. *Reproduction.* 137, 901-911.

Hidalgo, M., Rodríguez, I., Dorado, J.M., 2007. The effect of cryopreservation on sperm head morphometry in Florida male goat related to sperm freezability. *Anim. Reprod. Sci.* 100, 61-72.

Holtz, W., 2005. Recent developments in assisted reproduction in goats. *Small Rumin. Res.* 60, 95-110.

Hong, Z., Hailing, L., Hui, M., Guijie, Z., Leyan, Y. and Dubing, Y., 2010. Effect of vitamin E supplementation in diet on antioxidant ability of testis in Boer goat. *Anim. Reprod. Sci.*, 117, 90-94.

- Hong, Z., Hailing, L., Hui, M., Guijie, Z., 2009. Effect of vitamin E supplementation on development of reproductive organs in Boer goat. *Anim. Reprod. Sci.* 113, 93-101.
- Ichimaru, T., Matsuyama, S., Ohkura, S., Mori, Y., Okamura, H., 2003. Central Cholecystokinin-Octapeptide Accelerates the Activity of the Hypothalamic Gonadotropin-Releasing Hormone Pulse Generator in Goats. *J. Neuroendocrin.* 15, 80-86.
- Islam, R. Ahmed, K., Deka, B.C., 2006. Effect of holding and washing on the quality of goat semen. *Small Rumin. Res.* 66, 51-57.
- Jainudeen, H., Wahid, H., Hafez, E.S.E., 2000. Ovejas y Cabras. En: *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. 7ª. Ed. McGraw-Hill, México, 519 pp.
- Johnson, L., Thompson Jr., D.L., Varner, D.D., 2008. Role of Sertoli cell number and function on regulation of spermatogenesis. *Anim. Reprod. Sci.* 105, 23-51.
- Karagiannidis, A., Varsakeli, S. and Karatzas, G., 2000. Characteristics and seasonal variations in the semen of Alpine, Saanen and Damascus goat bucks born and raised in Greece. *Theriogenology* 53, 1285-1293.
- Katz, S.L., 2008. Variation in male sexual behavior. *Anim. Reprod. Sci.* 105, 64-71.
- Knights, M., Garcia, G.W., 1997. The status and characteristics of the goat (*Capra hircus*) and its potential role as a significant milk producer in the tropics: A review. *Small Rumin. Res.* 26, 203-215.
- Leboeuf, B., Guillouet, P., Bonné, J.L., Forgerit, Y., Magistrini, M., 2004. Goat semen at 4°C until 76 hours before artificial insemination: Different attempts to maintain the fertility. *South African Journal of Animal Science*. 34 (supplement 1), 233-235.
- Leboeuf, B., Restall, B., Salamon, S., 2000. Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 62, 113-141.
- Li-Guang, S., Ru-jie, Y, Wen-bin, Y., Wen-juan, X., Chun-xiang, Z., You-she, R., Lei, S., Fu-lin, L., 2010. Effect of elemental nano-selenium on semen quality, glutathione peroxidase activity, and testis ultrastructure in male Boer goats. *Anim. Reprod. Sci.* 118, 248-254.
- Lu, C.D., Gangyi, X., Kawas, J.R., 2010. Organic goat production, processing and marketing: Opportunities, challenges and outlook. *Small Rumin. Res.* 89, 102-109.
- Ma, H., Quan, F., Chen, D., Zhang, B., Zhang, Y., 2010. Alterations in mitochondrial function and spermatozoa motility in goat spermatozoa following incubation with human lysozyme plasmid. *Anim. Reprod. Sci.* 121, 106-114.

- Malik, R.K., Lohan, I.S., Dhanda, O.P., Tuli, R.K., 1997. Test for the acrosomal reaction of goat spermatozoa treated with heparin. *Small Rumin. Res.* 26, 163-166.
- Marengo, S.R., 2008. Maturing the sperm: Unique mechanism for modifying integral proteins in the sperm plasma membrane. *Anim. Reprod. Sci.* 105, 52-63.
- Martin, G.B., 2005. Métodos “limpios, verdes y éticos” para aumentar la eficiencia reproductiva en pequeños rumiantes. IV Curso Internacional de Reproducción en Rumiantes. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Estado de México, México. 1-16.
- Martin, G.B., Milton, J.T.B., Davidson, R.H., Banchemo, H.G.E., Lindsay, D.R., Blache, D., 2004. Natural methods for increasing reproductive efficiency in small ruminants. *Anim. Rep. Sci.* 82-83, 231-246.
- Maxwell, W.M.C., Evans, G., Hollinshead, F.K., Bathgate, R., de Graaf, S.P., Eriksson, B.M., Gillan, L., Morton, K.M., O'Brien, J.K., 2004. Integration of sperm sexing technology into the ART toolbox. *Anim. Reprod. Sci.* 82-83, 79-95.
- Medrano, H.J.A., Terrazas, A., Soto, R., 2010. Principles and perspectives for the conservation of goat buck spermatozoa. *Small Rumin. Res.* 89, 140-143.
- Medrano, H.J.A., 2008. Principios y Perspectivas de la Conservación de Espermatocitos. En: Reproducción de Ovejas y Cabras. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. 217-232.
- Miranda-de la Lama, G.C., Mattiello, S., 2010. The importance of social behaviour for goat welfare in livestock farming. *Small Rumin. Res.* 90, 1-10.
- Mohamed-Elkheir, A.E., Terada, T., 2004. Effects of the supplementation of trehalose extender containing egg yolk with sodium dodecyl sulfate on the freezability of goat spermatozoa. *Theriogenology.* 62, 809-818.
- Mohamed-Elkheir, A.E., Terada, T., 2004. Effects of egg yolk during the freezing step of cryopreservation on the viability of goat spermatozoa. *Theriogenology.* 62, 1160-1172.
- Montaldo, H.H., Torres, H.G. and Valencia, P.M., 2010. Goat breeding research in México. *Small Rumin. Res.* 89, 155-163.
- Morales, B., Rosello, C.F., Espriu, S.R., Fernández, P.A., Zacarias, A.G., 1975. Panorama Socioeconómico del Área de Influencia de la Escuela Nacional de Estudios Profesionales Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. 52 pp mas anexos.
- Morga, F.J., Orihuela, T.A., 2001. Frecuencia del lamido poscopulatorio del pene en machos cabríos (*Capra hircus*) y posible función. *Vet. Méx.* 32 (4), 301-303.

- Murata, K., Wakabayashi, Y., Kitago, M., Ohara, H., Watanabe, H., Tamogami, S., Warita, Y., Yamagishi, K., Ichikawa, M., Takeuchi, Y., Okamura, H., Mori, Y., 2009. Modulation of gonadotropin-Releasing Hormone Pulse Generator Activity by the Pheromone in Small Ruminants. *J. Neuroendocrin.* 21, 346-350.
- Naing, S.W., Wahid, H., Mohd, A.Z., Rosnina, Y., Zuki, A.B., Kazhal, S., Bukar, M.M., Thein, M., Kyaw, T., San, M.M., 2010. Effect of sugars on characteristics of Boer goat semen after cryopreservation. *Anim. Reprod. Sci.* 122, 23-28.
- Numan, B.M., Sariözkan, S., Barbaros, T.P., Sakin, F., Atessahin, A., Kulaksiz, R., Cevik, M., 2010. The effect of antioxidants on post-thawed Angora goat (*Capra hircus ancyrensis*) sperm parameters, lipid peroxidation and antioxidant activities. *Small Rumin. Res.* 89, 24-30.
- Numan, B.M., Sariözkan, S., Barbaros, T.P., Alkim, U.P., Ibrahim, A.H., 2009. Effect of antioxidants on microscopic semen parameters, peroxidation and antioxidant activities in angora Goat semen following cryopreservation. *Small Rumin. Res.* 81, 90-95.
- Ohkura, S., Takase, K., Matsuyama, S., Mogi, K., Ichimaru, T., Wakabayashi, Y., Uenoyama, Y., Mori, Y., Steiner, R.A., Tsukamura, S.H., Maeda, K.I. and Okamura, H., 2009. Gonadotrophin-Releasing Hormone Pulse Generator Activity in the Hypothalamus of goat. *J. Neuroendocrin.* 21, 813-821.
- Parvizi, N., 2000. Neuroendocrine regulation of gonadotropins in the male and the female. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 31-47.
- Pattanaik, A.K., Khan, S.A., Mohanty, D.N., Varshney, V.P., 2004. Nutritional performance, clinical chemistry and semen characteristics of goats fed mustard (*Brassica juncea*) cake based supplement with or without iodine. *Small Rumin. Res.* 54, 173-182.
- Paulenz, H., Soltun, K., Adnoy, T., Andersen Berg, K., Soderquist, L., 2005. Effect of different extenders on sperm viability of buck semen stored at room temperature. *Small Rumin. Res.* 59, 89-94.
- Peacock, C., Sherman, D.M., 2010. Sustainable goat production- Some global perspectives. *Small Rumin. Res.* 89, 70-80.
- Pérez, B., Mateos, E., 1996. Effect of photoperiod on semen production and quality in bucks of Varata and Malagueña breeds. *Small Rumin. Res.* 23, 23-28.
- Prado, V., Orihuela, A., Lozano, S., Pérez, L.I., 2003. Effect on ejaculatory performance and semen parameters of sexually-satiated male goats (*Capra hircus*) after changing the stimulus female. *Theriogenology.* 60, 261-267.

- Prado, V.M., Orihuela, T.A., Lozano, T. S., Pérez, L.M.I., 2001. Efecto del sistema de crianza (extensivo vs semiintensivo) del macho cabrío, sobre la obtención de semen mediante vagina artificial. *Vet. Méx.* 32 (4), 297-300.
- Purdy, P.H., 2006. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Rumin. Res.* 63, 215-225.
- Purdy, P.H., Ericsson, S.A., Dodson, R.E., Sternes, K.L., Garner, D.L., 2004. Effects of the flavonoids, silibinin and catechin, on the motility of extended cooled caprine sperm. *Small Rumin. Res.* 55, 239-243.
- Quittet, E., 1978. *La cabra: Guia practica para el ganadero*. Ed. E. Quittet, Edt. Mundi Press, Madrid, ESpaña. 321pp.
- Rahman, A.N.M.A., Abdullah, R.B., Wan-Khadijah, W.E., 2008. Gametogenesis, Fertilization and Early Embryogenesis in Mammals with Special Reference to Goat: A Review. *J. Biol. Sci.* 8 (7), 1115-1128.
- Rekwot, P.I., Ogwu, D., Oyedipe, E.O., Sekoni, V.O., 2001. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. *Anim. Reprod. Sci.* 65, 157-170.
- Rubino, R., Morand-Fehr, P, Renieri, C., Peraza, C., Sarti, F.M., 1999. Typical products of the samall ruminant sector and the factors affecting their quality. *Small Rumin. Res.* 34, 289-302.
- Sahlu, T., Goetsch, A.L., 2005. A foresight on goat research. *Small Rumin. Res.* 60, 7-12.
- Scaramuzzi, R.J., Martin, G.B., 2008. The Importance of Interactions Among Nutrition, Seasonality and Socio-Sexual Factors in the development of Hormone-Free Methods for controlling Fertility. *Reprod. Dom. Anim.* 43 (suppl. 2), 129-136.
- Scott, C.J., Tilbrook, A.J., Rawson, J.A., Clarke, I.J., 2000. Gonadal steroid receptors in the regulation of GnRH secretion in farm animals. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 313-326.
- Semira, W.T, Schafer-Somi, S., 2007. Involvement of cholesterol, calcium and progesterone in the induction of capacitation and acrosome reaction in mammalian spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* 102, 181-193.
- Shi, L., Yue, W., Zhang, Ch., Ren, Y., Zhu, X., Wang, Q., Shi, L., Lei, F., 2010. Effects of maternal and dietary selenium (Se-enriched yeast) on oxidative status in testis and apoptosis of germ cells during spermatogenesis of their offsprings in goats. *Anim. Reprod. Sci.* 119, 212-218.

Snedecor, G.W., Cochran, W.G., 1971. Métodos Estadísticos. Ed. Compañía Continental. 703 pp.

Singh, B., Dixit, V.D., Singh, P., Georgie, G.C., Dixit, V.P., 2000. Effect of naloxone on the plasma levels of LH, FSH, Prolactin and testosterone in Beetal bucks. *Small Rumin. Res.* 37, 51-55.

Soto, G.R., 2008. Control neuroendocrino del eje reproductivo. En: *Reproducción de Ovejas y Cabras*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. 9-30.

Talebi, J., Souri, M., Moghaddam, A., Karimi, I., Mirmahmoodi, M., 2009. Characteristics and seasonal variation in the semen of Markhoz bucks in western Iran. *Small Rumin. Res.* 85, 18-22.

Thibier, M., Guerin, B., 2000. Hygienic aspects of storage and use of semen for artificial insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 62, 233-251.

Tibary, A., Anouassi, A., Khatir, H., 2005. Update on reproductive biotechnologies in small ruminant and camelids. *Theriogenology*. 64, 618-638.

Todini, L., Delgadillo, J.A., Debenedetti, A., Chemineau, P., 2006. Plasma total T3 and T4 concentrations in bucks as affected by photoperiod. *Small Rumin. Res.* 65, 8-13.

Trejo, G.A.A., 2008. Técnicas de Inseminación Artificial y Sitio de Depósito de semen. En: *Reproducción de Ovejas y Cabras*. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. 191-200.

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 II Reunión Nacional Sobre Caprinocultura*. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. A-8 - A-13.

Tsakmakidis, I.A., 2010. Ram semen evaluation: Development and efficiency of modern techniques. *Small Ruminant Research*. 92, 126-130.

Valencia, M.J., González, H.G., González, G.M.E., Trejo, G.A., 1994. Motilidad y daño acrosomal del semen caprino congelado en pajillas de 0.25 ml y 0.5 ml y descongelado a dos diferentes ritmos de temperatura. *Vet. Méx.* 25 (2), 127-131.

Walkden-Brown, S.W.; Restall, B.J.; Scaramuzzi, R.J.; Martin, G.B. and Blackberry, M.A., 1997. Seasonality in male Australian cashmere goats: Long term effects of castration and testosterone or oestradiol treatment on changes in LH, FSH and prolactin concentrations, and body growth. *Small Rumin. Res.* 26, 239-252.

Watson, P.F., 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim. Reprod. Sci.* 60-61, 481-492.

Zamiri, M.J., Khalili, B., Jafaroghli, M., Farshad, A., 2010. Seasonal variation in seminal parameters, Testicular size, and plasma testosterone concentration in Iranian Moghani rams. *Small Rumin. Res.* 94, 132-136.

Zarazaga, L.A., Gatica, M.C., Celi, I., Guzman, J.L., Malpaux, B., 2010. Effect of artificial long days and/or melatonin treatment on the sexual activity of mediterranean bucks. *Small Rumin. Res.* 93, 110-118.

ANEXO 1

SOLUCIÓN TRITÓN

FÓRMULA PARA PREPARAR SOLUCIÓN HOMOGENEIZANTE DE TEJIDO TESTÍCULAR

TRITÓN X-100	0.05%
TIOMERSAL* 1:1000	100 ppm
SOLUCIÓN SALINA FISIOLÓGICA	c.b.p.

*merthiolate

Amman and Almquist, 1961

ANEXO 2

DILUYENTE A BASE DE LECHE

INGREDIENTES	FRACCIÓN "A"	FRACCIÓN "B"
LECHE DESCREMADA	50 ml	42 ml
GLICEROL	-----	8 ml
PENICILINA	50,000 UI	50,000 UI
ESTREPTOMICINA	0.05 g	0.05 g
La fracción "A" del diluyente deberá, agregarse cuando el semen y el diluyente se encuentran a 37°C		
La fracción "B" del diluyente, deberá agregarse cuando el semen y el diluyente se encuentran a 5°C		
Una vez calculada la cantidad de diluyente que se va a agregar a cada eyaculado, las fracciones "A" y "B" deberán agregarse en partes iguales en los tiempos señalados.		

Cortel, J.M., Artificial insemination. En Goat Production. Ed. Gall .Academic Press.

Cortel, J.M. 1981. Collection, processing and artificial insemination of goat semen.
In: Goat Production. Ed. Gall, C. Academic Press.

ANEXO 3

DILUYENTE A BASE DE LACTOSA.
Este diluyente, permite agregar el glicerol a 37°C y es utilizado para congelar el semen en pastillas.

INGREDIENTE	PORCENTAJE	CANTIDAD
LACTOSA AL 11%	72%	72 ml
GLICEROL	8%	8 ml
YEMA DE HUEVO	20%	20 ml
PENICILINA	100UI/ml	100,000 UI
ESTREPTOMICINA	0.001 g/ml	0.1 g

Nagase H, Graham EF. 1964. Pelleted semen: comparison of different extenders and processes on fertility of bovine spermatozoa. In: V ICAR Meeting. Trento: International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. p 387-389.

ANEXO 4

DILUYENTE A BASE DE SACAROSA

SOLUCION MADRE		
SACAROSA	10 g	
EDTA	80 mg	
FOSFATO DE POTASIO	100 mg	
AFORAR CON AGUA DESTILADA	100 ml	
	CAPRINOS	
GLICEROL	4%	
YEMA DE HUEVO	15%	
PENICILINA	100,000 UI	
ESTREPTOMICINA	0.1 g	
Eliminar de la solución madre el equivalente de yema de huevo y glicerol.		

AUTOR (ES): Trejo G.A., Peralta L.M., Castro M.P., Moreno P.V. y García A.C.
TITULO: Congelación de semen e inseminación artificial en caprinos.
PUBLICACION: Memorias de la II Reunión Nacional Sobre Caprinocultura.
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
Saltillo, Coahuila.
25 a 27 de septiembre de 1986.: A-8 - A-13.