

101

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

**USO DE LA TECNICA SWIM-UP PARA MEJORAR LA CALIDAD DEL SEMEN
CONGELADO DE CABRITOS MENORES DE UN AÑO.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A N :

**JORGE ALBERTO ~~SARMINA GUEVARA~~
MARIA GUADALUPE VILLALOBOS JUAREZ**

ASESOR: M en C. Arturo Angel Trejo González

Cuautitlán Izcalli, Estado de México

2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

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



ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. S. C.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLAN



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

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

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

"Uso de la técnica Swim-up para mejorar la calidad del semen congelado de cabritos menores de un año"

que presenta el pasante: Jorge Alberto Sarmina Guevara
con número de cuenta: 8901972-4 para obtener el título de:
Médico Veterinario Zootecnista

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 17 de Septiembre de 1 2002

PRESIDENTE MVZ. Rubén Trejo Rodríguez

VOCAL Dr. A. Enrique Esperón Sumano

SECRETARIO M.C. Arturo Angel Trejo González

PRIMER SUPLENTE M.C. Miguel Angel Pérez Razo

SEGUNDO SUPLENTE M.C. Deneb Camacho Morfín

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



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

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

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

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

"Uso de la técnica Swim-up para mejorar la calidad del semen congelado de cabritos menores de un año"

que presenta la pasante: María Guadalupe Villalobos Juárez
con número de cuenta: 9302159-3 para obtener el título de :
Médica Veterinaria Zootecnista

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 17 de Septiembre del 2002

PRESIDENTE MVZ. Rubén Trejo Rodríguez

VOCAL Dr. A. Enrique Esperón Sumano

SECRETARIO M.C. Arturo Angel Trejo González

PRIMER SUPLENTE M.C. Miguel Angel Pérez Razo

SEGUNDO SUPLENTE M.C. Deneb Camacho Morfín

Al estado mexicano
A quien debo mi formación académica.

A mi madre por su dedicación
y esfuerzo para con sus hijos.

A mi padre que no tuvo la oportunidad
de tener este texto en sus manos.

Al Doctor Trejo, Dra. Yolanda, Consuelo y Teresa
por ser más que guías y amigos.

A Dios y al tiempo por darme vida
hasta ahora.

INDICE

• Introducción	1
• Revisión de literatura	4
➤ Historia y situación actual de la cabra a nivel mundial	
➤ Situación de las cabras en México	
➤ Evaluación de semen caprino	
➤ Conservación del semen caprino	
• Objetivo	12
• Material y Método	13
• Resultados	15
• Discusión	19
• Conclusiones y Recomendaciones	20
• Bibliografía	23

Indice de tablas y cuadros:

- Cuadro 1.-Efecto del Swim-up y la congelación sobre las características seminales de cabritos jóvenes. 16
- Gráfica 1.- Cambios en la motilidad progresiva de los espermatozoides en cabritos jóvenes. 17
- Gráfica 2.- Cambios en la proporción de espermatozoides normales en cabritos jóvenes. 18

Indice de anexos:

- Anexo 1.-Diluyente a base de TRIS. 21
- Anexo 2.-Técnica del hematocitómetro. 22

INTRODUCCION

Desde su domesticación la cabra ha sido fuente de carne, leche, piel y pelo para el hombre.

El número de estos animales en el mundo y su importancia económica son considerables; sin embargo su atención ha sido relegada a lugares secundarios (SEP; 1982).

En México ha sido una actividad tradicional ligada al desarrollo cultural del país, desde que los españoles las introdujeron hace más de 500 años (Iruegas *et al.*, 1999).

El sistema de producción de tipo extensivo ya sea en sus variedades sedentaria o trashumante, constituyen la mayor parte de la caprinocultura en el país; esto ha ocasionado problemas en el deterioro de los recursos naturales, debido a un manejo deficiente y falta de conocimiento en la administración de tierras por parte de los pequeños productores. Esto aunado al crecimiento de la mancha urbana que esta reduciendo los espacios para la producción animal hace necesario el implementar medidas que favorezcan la implantación de sistemas de tipo semiintensivo o Intensivo que permitan el uso de una mayor infraestructura dando una mayor producción de mejor calidad y que al mismo tiempo permita mejorar la condición de vida del productor primario (Iruegas *et al.*, 1999).

De ahí la necesidad de profundizar en programas de apoyo e información a los pequeños productores, realizando investigaciones al respecto, estableciendo métodos de cría, producción e incluso mercado, además de acrecentar el acervo literario que permita tanto a los estudiantes como a los productores encontrar información útil y práctica que permita aclarar sus dudas.

Mediante la información recopilada podemos hablar del avance logrado en cuanto a reproducción animal la importancia que tiene la correcta selección de sementales dentro del rebaño, que el o los animales seleccionados deben ser evaluados y la calificación obtenida deberá ser excelente en cada uno de los puntos a evaluar asegurando así la transmisión de los caracteres más valiosos heredados de sus ascendientes, demostrando así su integridad como reproductor (Pinkerton, 1987).

Se han desarrollado diversos métodos para lograr que la hembra tenga un mayor número de partos y productos por año; actualmente se llevan a cabo, a nivel de laboratorio tanto de particulares como en universidades; investigaciones sobre sincronización de celo, inseminación artificial, superovulación, transplante de embriones, etcétera., todo ello con el fin de mejorar la producción.

Comúnmente y de manera equivocada se escoge a los animales en base a la apariencia externa que presentan, lo que no garantiza que su genética sea la misma dando como resultado individuos no deseados. Es de suma importancia el considerar el buen funcionamiento reproductivo, ya que el animal seleccionado deberá ser capaz de transmitir la información genética que haga que sus hijas sean mejores productoras que sus madres bajo circunstancias similares (Agraz 1984; Hafez, 1989).

Algunos aspectos a considerar en la elección de sementales son:

- Raza
- Salud
- Edad
- Peso
- Carácter
- Caracteres sexuales
- Conformación general
- Potencial hereditario
- Genealogía

El valor de un semental será mayor en la medida que logre transmitir la mayor parte de los caracteres que a continuación se enuncian:

- Mayor calidad y producción de leche
- Canales magras y de mayor masa muscular
- Más pelo y de mejor calidad
- Precocidad
- Longevidad productiva
- Resistencia a enfermedades y rusticidad (Pinkerton, 1987).

Aunque cada uno de estos caracteres es de suma importancia, en el presente trabajo se recalca la importancia de la precocidad animal; la cual consiste en un fenómeno fisiológico donde la velocidad de desarrollo regida por la herencia se ve acelerada hasta llegar a la pubertad y que disminuye conforme se alcanza la madurez (Neria y Solar, 1984).

Se entiende por pubertad el inicio de la actividad sexual, se distingue por la manifestación acentuada de los caracteres sexuales secundarios, posibilidad de erección y eyaculación, hay un incremento al máximo en la producción de hormonas gonadotropas hipofisarias, desarrollo de glándulas sexuales como vesículas seminales, próstata y estructuras anexas (Buxade, 1996).

Con la aparición de la pubertad se inicia una mejora paulatina de las características del semen que corresponde a las primeras etapas de la vida reproductiva (Arbiza, 1986).

Los machos jóvenes en sus primeras eyaculaciones, presentan a veces azoospermia, oligospermia o necrospermia, pero estos fenómenos se van resolviendo con cierta rapidez hasta llegar a la plena capacidad fecundante (Arbiza y De Lucas., 2001).

Algunos autores mencionan que entre los 5 y 10 meses es la aparición más temprana de la pubertad y de 12 a 24 meses la más tardía (Trejo, 1998).

En cabritos bien alimentados el deseo sexual o libido se ha presentado desde los 6 meses de edad de tal forma que la mayoría de los animales ya presentan deseo sexual a los 8 meses (Arbiza y De Lucas., 2001).

En la siguiente tabla se enlistan las características seminales en cabritos a diferentes edades.

Características del semen caprino a diferentes edades

MESES	4.5 A 5	9 A 10	36 A 42
Volumen seminal (ml)	0.18	0.57	0.92
Concentración espermática (Millones/ml)	1288	2533	2793
Motilidad espermática ,escala de 0 a 5	< 1	3.06	4.17
Espermatozoides vivos (%)	22.2	58.8	68.3
Espermatozoides anormales (%)	15.5	5.7	4.5

Arbiza 1986

Se puede decir que hay dos aspectos fundamentales, en el mejoramiento animal, el primero es seleccionar a los animales correctos y el segundo es escoger un método adecuado para la obtención y procesamiento del semen.

La electroeyaculación hace posible la colección de semen de animales domésticos bajo condiciones difíciles que impidan la colección por otros métodos tales como la vagina artificial o la monta natural; hoy se sabe que esta técnica no tiene ningún efecto nocivo sobre la libido o la espermatogénesis (Hafez, 1989., Neria y Solar, 1984).

Uno de los métodos utilizados para mejorar la calidad espermática es la técnica swim-up, que consiste en centrifugar a 3500 rpm los espermatozoides inmersos en un medio líquido de tal forma que los espermas que presenten anomalías se sedimenten y los sanos naden y a partir de este sobrenadante realizar pruebas directas e indirectas que nos permitan conocer la calidad del semen y posterior a ello elaborar pajillas, garantizando así una mayor tasa de fertilidad.

Por otro lado se debe considerar a los cabritos menores de un año como posibles sementales en base a su calidad seminal ya que según investigaciones es posible que los cabritos de 5 meses sean capaces de fertilizar a una hembra (Trejo y Medrano, 1998).

REVISION DE LITERATURA.

HISTORIA Y SITUACION ACTUAL DE LA CABRA A NIVEL MUNDIAL.

La cabra fue uno de los primeros animales domesticados por el hombre. Su origen se localiza en las altas mesetas asiáticas desde Turquía hasta el Tíbet. (Arbiza, 1986).

Desde la antigüedad la explotación de la cabra ha tenido como objetivo la obtención de leche y carne así como de piel y pelo empleados para proveer de vestimenta al hombre (Arbiza, 1986).

Debido a que la cabra ofrece una alta rusticidad es que ha logrado adaptarse fácilmente a regiones áridas y semiáridas así como al trópico seco, además de regiones frías o con fuertes vientos, donde los recursos forrajeros no son suficientes para especies mayores como bovinos (Arbiza, 1986).

De ahí que la mayor parte de la población caprina abarque los territorios de Asia y Africa con 92% de la población mundial, América con 5% y Europa con 3%, registrándose para 1999 una población mundial de 693.3 millones de cabezas (Iruegas, *et al*, 1999).

En cuanto a producción láctea la cabra provee del 2% de la producción mundial, teniendo mayor relevancia en los países de oriente y del Mediterráneo. En 1998 la producción mundial de leche de cabra alcanzó los 10,780 millones de litros siendo Asia el principal productor con 56%, Europa 21%, Africa 20% y América con 3% (Iruegas, *et al*, 1999).

En lo que respecta a la producción de carne, para 1998 fue de 3.8 millones, siendo los principales productores: India, China, Bangladesh, Pakistán, Indonesia, Irán, Nigeria, Etiopía, Egipto y Filipinas (Iruegas *et al*, 1999).

SITUACION DE LAS CABRAS EN MEXICO.

Durante el México colonial la producción caprina se extendía en la zona norte del país, se habla de caciques y monasterios que poseían rebaños de 10,000 cabezas, que debido a múltiples cruzas entre razas españolas dan origen al tipo conocido como "criollo", adaptado al clima árido y semiárido de los estados del norte del país como Coahuila, Nuevo León y Zacatecas, Siendo estos estados los de mayor producción durante el siglo XVIII (Arbiza, 1986).

A principios del siglo XX comienza la importación de animales de Europa y Estados Unidos, con el fin de corregir las deficiencias del ganado criollo, ya que era muy pequeño y tenía una baja producción de leche y carne, con respecto a otras razas.

Posterior a este periodo de abundancia y debido en parte al movimiento revolucionario del país surge un estancamiento y merma de la producción que se agrava con la sustitución de ganado bovino en los estados del norte, de tal manera que la cabra a quedado relegada a las zonas más agrestes y áridas ocasionando un sobrepastoreo de las mismas, de ahí que haya una baja infraestructura y un nivel de producción muy bajo por lo que se forma un vínculo erróneo entre producción caprina y pobreza (SEP, 1982; Arbiza 1986; Iruegas *et al*, 1999).

En 1993, el país obtuvo el nivel máximo de inventario con 11.3 millones de cabezas, nivel que hasta la fecha no se ha logrado acrecentar ya que para 1998 la población consistió en 8.6 millones lo que representó una disminución anual del 5.3% (Iruegas *et al*, 1999).

Algunos factores causales de esta disminución son :

- Temor por parte de los organismos de crédito tanto oficiales como privados a destinar tiempo y dinero a la producción caprina (Arbiza, 1986).
- Programas gubernamentales y políticas agropecuarias negativas que históricamente han demostrado su ineficacia (Acontecer ovino-caprino, 2000).
- Falta de interés de las instituciones superiores en promover la formación de personal especializado en el área (Arbiza, 1986).
- Falta de conocimiento en el manejo de tierras lo que origina sobrepastoreo y erosión (SEP, 1982).
- Producir sin considerar la comercialización del producto.
- El no considerar factores como clima, tipo y cantidad de terreno disponible, número de animales, etc. (SEP, 1982).
- La escasez de personal encargado de labores rutinarias en el cuidado del rebaño por considerarlo una actividad agotadora y mal pagada.

Estos entre otros muchos factores causales pueden verse mejorados con la participación activa entre productores, técnicos especialistas, investigadores del área y organismos gubernamentales (Acontecer ovino-caprino, 2000).

De tal manera que se pueda dar soporte especializado en los diferentes sistemas de producción del país; ya que predominan sistemas extensivos, en los que se observa una degradación de suelos y vegetación, la productividad es muy baja y los productos tienen un costo mucho menor del que alcanzan al llegar al consumidor final. Aquí es importante atender las limitaciones tecnológicas, administrativas y de integración; la principal producción de este sistema es cabrito mamón y comprende la zona árida y semiárida del país (Iruegas *et al*, 1999).

Los sistemas semiintensivos ubicados en regiones con mayor productividad combinan durante el año pastoreo y ramoneo de agostadero, esquilmos y la vegetación de áreas marginales. Estos sistemas pueden mejorar mediante un eficiente manejo sanitario, nutricional, reproductivo y de organización ya que cuentan con una economía sustentable; se ubica en gran parte de la zona templada del país (Iruegas *et al*, 1999).

Los sistemas intensivos emplean fuertes capitales y poco terreno cuentan con una administración eficiente y alta tecnificación; tienen un sistema de transformación y comercialización de sus productos bien integrado. Son ellos los que podrían contribuir al desarrollo del resto de los productores mediante esquemas asociativos; comprenden la zona del Bajío y de la Comarca Lagunera así como algunos estados de la zona centro del país; principalmente producen leche y ceba de chivos jóvenes (Iruegas *et al*., 1999).

Los tiempos actuales y venideros muestran que el reto principal es que el productor acepte que necesita asesoría para producir pues la solución no está en la importación de animales que muchas veces solo ocasiona que se gasten

esfuerzos y capitales difíciles de recuperar. Mientras que el reto de los técnicos es especializarse y actualizarse para dar un servicio profesional (Acontecer ovino-caprino, 2000).

EVALUACION DE SEMEN CAPRINO.

Cuando el semental es empleado para programas de inseminación artificial deba realizarse un examen exterior para obtener elementos que permita elaborar un juicio acerca de su capacidad reproductiva. Es necesario explorar la región lumbar y esternal del animal para establecer la condición física en que se encuentra y que se expresa en una escala de 0 a 10.

La condición física adecuada para una buena fertilidad se encuentra entre los valores 6 a 8; animales por debajo de esta calificación son demasiado delgados y la energía disponible no se emplea en forma de espermatozoides de manera adecuada, por el contrario los animales con calificación arriba de 8, están obesos y existen mecanismos fisiológicos que disminuyen la calidad seminal.

Una vez determinada la condición física, se procede a la revisión externa de los contenidos de la bolsa escrotal, evaluando la consistencia testicular y el libre desplazamiento de los órganos; esto incluye la medición del perímetro escrotal y el diámetro testicular, pues se ha demostrado una estrecha correlación entre la cantidad de tejido testicular sana y la cantidad de espermatozoides eyaculados.

Terminada la inspección de la bolsa escrotal, se procede a la revisión del pene, para esto se puede localizar la flexura sigmoidea por delante de la implantación del escroto a la pared abdominal y revisar el área por posibles lesiones, después se revisa el glande del pene, protuyéndolo por desdoblamiento de la flexura sigmoidea con el animal en posición de sentado, las principales alteraciones pueden ser persistencia del frenillo, que adhiere la prolongación uretral al glande o la presencia de cálculos uretrales en la prolongación uretral; pueden ser localizadas otro tipo de lesiones por lo que la revisión debe ser cuidadosa.

En el prepucio es común encontrar excoriaciones causadas por costras de estiércol húmedo que se adhiere, así como balanopostitis o inflamación del agujero prepucial.

El examen terminará con la inspección de problemas de la columna vertebral o del tren posterior que impidan la monta tales como:

- 1.-Crecimiento excesivo de las pezuñas.
- 2.-Lesiones de las vértebras lumbares.
- 3.-Lesiones de los miembros posteriores.

(Trejo, et al 2001).

Además del examen físico al animal, es necesario valorar el semen del mismo; que puede ser obtenido por medio de vagina artificial o electroeyaculación, en este apartado solo se describe esta última, ya que fue el método empleado y que se basa en la estimulación de algunas ramas del nervio pudendo que viajan junto a fibras de tipo simpático, las cuales inervan epidídimo, vasos deferentes, vesículas seminales y esfínter interno de la vejiga; estas fibras dan lugar a

contracciones involuntarias durante la eyaculación al igual que las fibras parasimpáticas que al incorporarse al nervio pudendo inervan al pene y dan lugar a una movilidad involuntaria.

Finalmente fibras simpáticas y parasimpáticas procedentes de la vértebra dorsal 11 a lumbar 2 forman el llamado plexo pélvico y llegan hasta el pene tras formar los nervios cavernosos, los cuales recorren parte de la próstata (García, 2000).

Las pruebas que se realizan al semen se dividen en químicas, físicas y biológicas.

A. **QUÍMICAS:**

1. Determinación de pH
2. Constituyentes químicos
3. Pruebas enzimáticas

(No se realizan en forma rutinaria)

B. **FÍSICAS:**

1. Volumen del eyaculado
2. Motilidad espermática
3. Concentración - Apreciación visual directa
4. Conteo de espermias en Hematocitómetro
5. Densidad Óptica con un espectrofotómetro
6. Anormalidades

(Chemineau *et al.*, 1991., Hafez, 1989., Evans y Maxwell. 1990).

C. **BIOLOGICAS**

1. Descartar la presencia de agentes infecciosos de etiología bacteriana como Brucelosis, Leptospirosis, Mycobacterias, Campilobacteriosis, etc., o de etiología viral como Artritis Encefalitis Caprina, entre otras (Hafez, 1989).

Las pruebas físicas, se dividen en: macroscópicas y microscópicas, las primeras dan tan solo una idea aproximada de la calidad y se refieren al volumen y color, las segundas indican el valor real del eyaculado e involucran: motilidad, concentración, porcentaje de vivos, muertos y con anomalías.(Hafez, 1989).

Características macroscópicas:

- 1.- El volumen de semen normalmente eyaculado, es alrededor de 1ml; aunque hay variaciones entre razas (Arbiza, 1986). En animales jóvenes entre los 7 y 10 meses el volumen seminal suele ser del orden de 0.2 a 0.5ml (Corcy, 1991).

Características microscópicas:

- 1.- Motilidad consiste en una evaluación subjetiva de la capacidad de movimiento o de la motilidad de los espermatozoides. Se utilizan las determinaciones de la llamada motilidad masal que consiste en colocar una gota de semen fresco sobre un portaobjeto que ha sido previamente calentado a 37-38°C y se observa en un microscopio con una platina a una temperatura similar a la del portaobjeto, para así evitar alteraciones en el comportamiento de espermatozoides (Arbiza, 1986).

Los espermatozoides se desplazan rápidamente, provocando con ello movimiento de la masa y oleadas de la misma (Corcy, 1991), calificándose con un porcentaje (De Lucas, 1986).

La medición visual de la motilidad espermática es rápida y económica pero los resultados son subjetivos ya que dependerán de la persona que los realice y de que variantes como tiempo y temperatura pueden afectarla (Suttiyotin y Thwaites, 1993).

CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN DE LA MOTILIDAD .

%	ESCALA	CARACTERISTICA
0	0	No hay motilidad
30	1	Pobre motilidad. Menos del 30% dando una motilidad pesada y lenta
30 - 50	2	Poca motilidad. Solo se mueve un 30 a 50% el movimiento es lento y oscilatorio, no hay ondas ni remolinos.
50 - 70	3	Buena motilidad. El 50 a 70 % de las células están en movimiento, esté es vigoroso. Ondas y remolinos forman una gota rápida.
70 - 80	4	Muy buena. Los espermatozoides se encuentran en movimiento rápido y vigoroso. Ondas y remolinos forman una gota rápida.
>80	5	Excelente. El 80% o más de los espermatozoides presentan movimiento vigoroso. Los giros y remolinos son rápidos y cambiantes.

De Lucas, 1986.

2.- Concentración, consiste en determinar la cantidad de espermatozoides por ml. o eyaculado; para realizarla se puede emplear el método directo para lo cual se requiere de un Hematocitómetro el cual es lento y laborioso pero de gran exactitud (Hafez, 1989).

El método indirecto consiste en la utilización del espectrofotómetro que determina la densidad o capacidad de la transmitancia de la luz a través de una muestra del semen diluido contra una sustancia patrón (De Lucas, T., 1986).

3.- Determinación de espermatozoides anormales, se emplea un frotis donde se clasifican las anomalías.

Dichas anomalías pueden ser identificadas utilizando colorantes; como eosina B, tinción de Wells y Awa, rosa de bengala, entre otras.

Existen dos tipos de anomalías: Las primarias que son el resultado de fallas en la espermatogénesis, como alteraciones en la morfología de la cabeza o pieza media, presencia de células redondas del epitelio germinal en cualquier fase de división y las secundarias se atribuyen a una función anormal del epidídimo o

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

del plasma seminal, estas incluyen la pérdida o lesiones del acrosoma, presencia de gotas citoplasmáticas y la pérdida de la cola (Chemineau et al., 1991; De Lucas, T., 1986; Hafez, 1989).

Los casos de colas enrolladas, dobladas en espiral o curvadas, se consideran de tipo primario aunque algunos técnicos las consideran secundarias. La pérdida de cabeza o cola puede deberse a la manipulación del semen al momento de preparar los frotis (De Lucas, T., 1986).

En ocasiones, pueden aparecer otros tipos de células como: eritrocitos, leucocitos, células epiteliales de la uretra o del pene, las cuales son más frecuentes cuando la concentración espermática es baja o existe un proceso infeccioso en alguna parte del aparato reproductor (De Lucas, T., 1986; Hafez, 1989).

CONSERVACIÓN DEL SEMEN CAPRINO

En los últimos años el interés por parte de productores y técnicos en cuanto a mejoramiento genético ha hecho a los científicos diseñar métodos para mejorar la conservación y calidad del semen, dentro de estos, los que han demostrado mayor eficacia son los preparados con yema de huevo y leche descremada (De Lucas, T., 1986).

La dilución del semen tiene como objetivo el proporcionar más volumen y un medio al espermatozoide que le permita sobrevivir el mayor tiempo posible, que lo proteja de las bajas temperaturas, cuando va a ser conservado durante mucho tiempo (De Lucas, T., 1986).

La yema de huevo ha sido reportada con tasas de fertilidad que van desde el 60% en semen congelado hasta 92% en semen fresco; en el caso particular del macho cabrío, se debe considerar el uso de la yema de huevo ya que el animal produce una enzima denominada "fosfolipasa A" que es producida por las glándulas bulbouretrales y que induce la coagulación de la yema de huevo al hidrolizar las lecitinas a isolecitinas produciendo un efecto tóxico para los espermatozoides (De Lucas, T. 1986; Evans, G., y Maxwell, W., 1990; Keskintepe *et al.*, 1998).

Sin embargo esto se puede remediar con el lavado del semen, que consiste en centrifugarlo retirando el plasma seminal, con lo cual se elimina la enzima, otra forma es que la concentración de la yema de huevo no exceda el 2% de la dilución final (De Lucas, T. 1986; Evans, G., y Maxwell, W., 1990; Keskintepe *et al.*, 1998).

Existen además diluyentes sintéticos que contienen diversos amortiguadores; siendo los más utilizados: Tris el cual ha sido seleccionado para utilizarse rutinariamente en la técnica de swim-up, ya que ni la motilidad espermática ni el plasma seminal han mostrado cambios significativos; citrato, glucosa o fructosa como fuente de energía (Evans, G., y Maxwell, W., 1990).

El semen puede ser utilizado en tres formas:

- Semen fresco de uso inmediato: es utilizado en un período de 30 minutos, debe mantenerse a una temperatura de 30°C. Puede emplearse diluido o sin diluir.
- Semen enfriado: este conserva su poder fecundante durante 10 a 12 horas por lo que debe ser utilizado el mismo día. debe ser enfriado a 5°C, disminuyendo 2°C por minuto
- Semen congelado : Este método permite conservarlo por días o hasta años posterior a su recolección, el semen preparado se enfría primeramente a 5°C y aquí se le da un tiempo de reposo conocido como periodo de equilibrio que comprende de 2 a 3 horas para luego ser colocado en pajillas, se coloca en vapor de Nitrógeno por 10 minutos lo cual permite que descienda la temperatura de - 70 a - 80°C y de ahí se sumerge en Nitrógeno líquido para bajar a - 196°C. la cual es una temperatura de conservación (Arbiza,1986., De Lucas, T. 1986).

Respecto a los diferentes diluyentes, algunos autores señalan que tanto yema de huevo, leche descremada y Tris son los más adecuados ya que han permitido la preservación del semen por varios años con niveles aceptables de fertilidad (Evans, G., y Maxwell, W.,1990; Keskinpepe *et al.*, 1998; Neria , V. y Solar, P. 1984).

Entre los métodos utilizados para mejorar la calidad espermática, se encuentran:

- El swim-up (nadar hacia arriba)
- Migración a través del moco cervical
- Filtración en fibra de vidrio de Borosilicato
- Filtros de sefadex
- El uso de Gradientes de Percoll

La técnica empleada para el procesamiento de las muestras de semen fue swim-up ya que es válida para la medición de la motilidad espermática que además de objetiva es barata (Suttiyotin y Thwaites, 1993).

Las variables espermáticas que se pueden evaluar con esta técnica son: recuperación espermática, motilidad, vigor, morfología. Los espermatozoides obtenidos por swim-up bajo diferentes condiciones también han sido examinadas para la fertilización *in vitro*, así como la evaluación del estado general de los espermatozoides descongelados, en donde se observó la existencia de capacidad espermática en semen utilizado para la inseminación artificial (Coscioni *et al.*, 2001).

La supervivencia de espermatozoides después del congelamiento descongelamiento; es afectada por factores, tales como concentraciones de ingredientes utilizados en los diluyentes del semen, la concentración de glicerol y otros crioprotectores, conservadores, congelamiento y descongelamiento así como la calidad de semen utilizado para el congelamiento.

La pérdida de la motilidad espermática de muestras de semen en el medio de Tris, no parece tener mayor efecto ya que la pérdida de motilidad es

insignificante, la falla de las condiciones para estandarizar las evaluaciones de la técnica swim-up, para la motilidad espermática han sido realizadas en el pasado, pero no ha sido posible la comparación de resultados de diferentes laboratorios (Suttiyotin y Thwaites,1993).

Se espera que este estudio contribuya a mejorar la tecnología de selección de los espermas mas activos así como la fertilidad del semen postdescongelado.

OBJETIVO:

Determinar si la técnica swim-up mejora la calidad del semen congelado en cabritos menores de un año.

MATERIAL Y METODO:

El presente trabajo se realizó en el módulo caprino de la cátedra de reproducción y genética en ovinos y caprinos de la FES Cuautitlán ubicada en el kilómetro 2.5 de la carretera federal Cuautitlan - Teoloyucan en el Estado de México con latitud N 19° 39' 00"; longitud O 99° 12' 40"; a 2270 msnm con una precipitación pluvial de 600 a 800 mm. Anuales y una temperatura promedio de 12°C a 16°C (INEGI, 1981).

Se utilizaron 4 cabritos encastados a $\frac{3}{4}$ de nubio con 7 meses de edad al inicio del experimento, se obtuvieron 10 eyaculados por individuo recolectando el semen dos veces por semana posteriormente se evaluó el semen antes y después de congelar, utilizando la técnica del swim-up de la siguiente manera:

El semen fue obtenido mediante electroeyaculación del animal por medio de estímulos eléctricos de 9 voltios, a través de dos electrodos introducidos en el recto, con una duración de 5 segundos alternando con 5 segundos de descanso hasta lograr el eyaculado del animal.

El semen fue captado en un tubo Eppendorf graduado para medir el volumen obtenido en forma directa; se tomó una gota del semen que fue utilizada para ver motilidad progresiva del semen en el microscopio compuesto, utilizando un lente objetivo de 10X y un lente ocular de 10X. En otro tubo Eppendorf se preparó una dilución 1:100 (SEMEN:HANCOCK).

La evaluación de la concentración espermática se realizó mediante el método del hematocitómetro o cámara de Neubauer, expresando la concentración en espermatozoides por ml. (anexo 2)

Para evaluar la morfología del semen se realizaron frotis utilizando el colorante rosa de bengala al 1% en citrato de sodio al 2.9%; se contaron 100 espermatozoides al microscopio en aumento 100x, clasificándolos en espermatozoides normales, con anomalías primarias y secundarias.

La mayoría del semen que no se utilizó en las pruebas previas fue depositado en un tubo de ensaye y mantenido a 37°C en baño María. Se procedió a lavar el semen adicionando el doble del volumen del semen de medio HTF (Human Tuval Fluid) modificado con bicarbonato de sodio y se centrifugó a 3500 rpm durante 10 minutos para efectuar la técnica de swim-up, el sobrenadante fue retirado y se adicionó nuevamente el medio HTF modificado con bicarbonato de sodio manteniéndose en incubación por 2 horas a 37°C. Posteriormente se preparó un medio a base de TRIS (anexo 1) adicionado con yema de huevo a 37°C; se retiró la clara de la yema empleando papel filtro depositándola en un vaso de precipitado de donde se tomaron 2 ml que se adicionaron al medio TRIS el cual se homogeneizó en el agitador Vortex posteriormente se procedió a la elaboración de pajillas, empleando pajillas francesas de 0.5 ml. obteniendo 2 pajillas por muestra por animal; la muestra del semen sometido a la técnica de Swim-up se tomó de la parte más superficial para no extraer el sedimento posteriormente fueron sometidos a un periodo de adaptación o equilibrio conservándose en refrigeración a 5°C por 2 horas para luego ser expuestas durante 15 minutos a vapor de

nitrógeno líquido, después las pajillas fueron sumergidas en nitrógeno líquido para su conservación en congelación.

Un mes después se realizó la evaluación del semen postdescongelado que consistió en la evaluación de la motilidad al microscopio en un objetivo de 10x; el resto del semen fue teñido con rosa de bengala realizando un frotis y observando la morfología de 100 espermatozoides clasificándolos en espermatozoides normales, espermatozoides con anomalías primarias y anomalías secundarias.

Los datos fueron evaluados estadísticamente mediante correlación lineal y para las medias de las características seminales se utilizó la prueba de "t" en su modalidad de datos apareados (Snedecor y Cochran, 1971).

RESULTADOS

Al aplicar el procedimientos a los cabritos, fue posible disminuir las anomalías primarias y secundarias en las muestras y por ende aumento el total de espermatozoides normales, esto se logra por el movimiento propio de las células espermáticas que tienen geotropismo negativo.

La técnica Swim-up, permite la separación de espermatozoides viables en individuos con oligospermia, por lo que esta misma técnica puede ser utilizada en animales jóvenes donde todavía no se ha establecido una espermatogénesis del todo normal ya que sus patrones hormonales están logrando apenas niveles adecuados.

La motilidad progresiva fue baja en los eyaculados recién obtenidos lo que señala que su espermatogénesis no era satisfactoria razón por la cual no es conveniente proceder a la congelación de semen de animales recién entrados a la pubertad.

En el cuadro uno se presentan las medias para el semen de cabritos jóvenes antes y después de la congelación y con una separación de espermatozoides móviles por la técnica del Swim-up y se aprecia que para tres variables de importancia fisiológica se obtuvieron ventajas con el tratamiento.

La motilidad progresiva fue mayor en el semen fresco que en el descongelado 30.5% contra 11.2% ($P < 0.05$), lo que representa el 36.6% de recuperación de la motilidad progresiva.

Los espermatozoides normales se incrementaron con el tratamiento 75.2% contra 65.8% después y antes de congelar respectivamente ($P < 0.05$).

Las anomalías primarias y secundarias se redujeron después del tratamiento en beneficio de la calidad seminal ($P < 0.05$).

En la gráfica uno, se presentan los cambios en la motilidad progresiva de los espermatozoides en cabritos jóvenes y se puede ver que existe un aumento paulatino conforme pasaron los días.

En la gráfica dos, se anotan los cambios en la proporción de los espermatozoides normales y al igual que la motilidad progresiva se nota un aumento paulatino.

Los cambios mostrados en la gráfica uno sobre la motilidad progresiva de los cabritos conforme aumento su edad, muestran caídas leves, esto pudo deberse al día que se tomó la muestra; mientras que en el octavo eyaculado hay una caída drástica en el porcentaje de motilidad progresiva ocasionada posiblemente por la casi nula obtención de semen de uno de los cabritos.

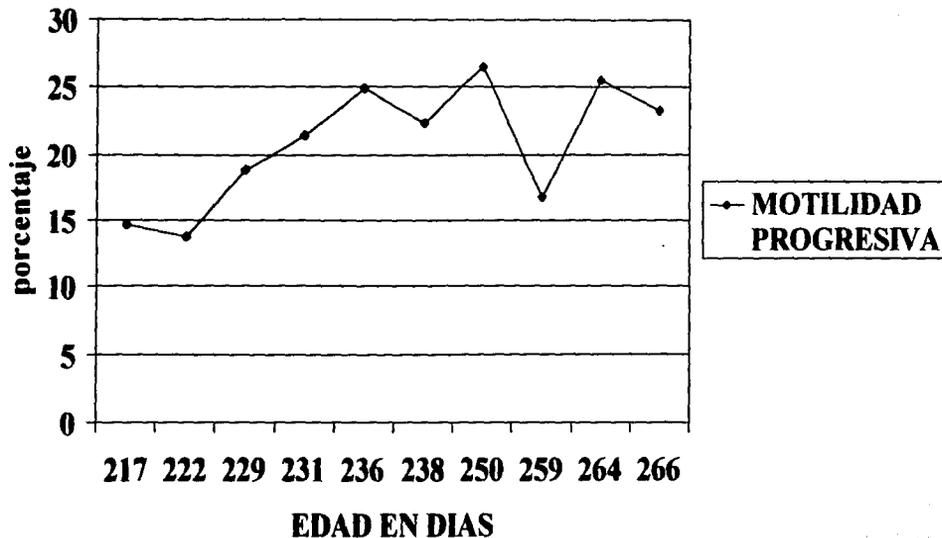
Este mismo problema parece haber ocasionado el desplome del porcentaje de espermatozoides normales mostrado en la gráfica dos

Cuadro 1.- Efecto del Swim-up y la congelación sobre las características seminales de cabritos jóvenes (Medias mínimo cuadráticas).

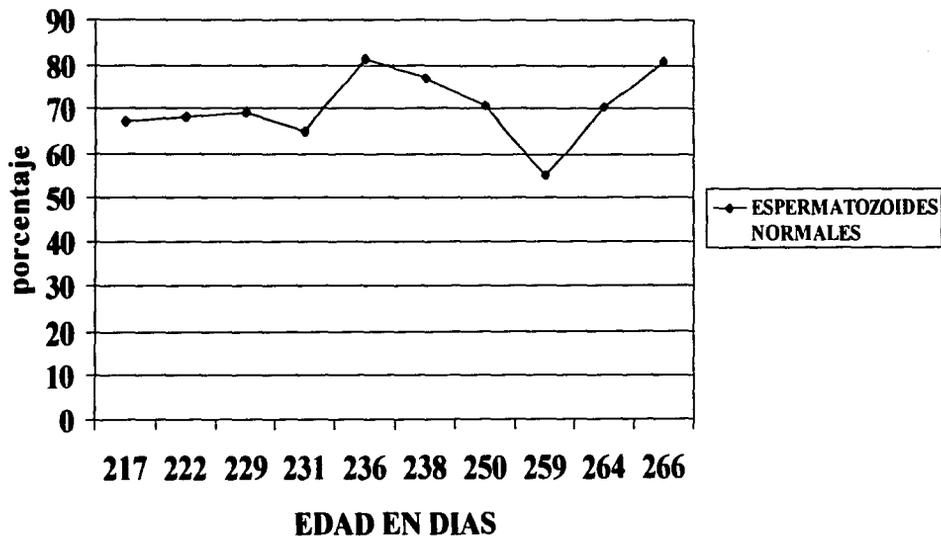
TRATAMIENTO	ANTES DE CONGELAR	DESPUES DE CONGELAR CON SWIM-UP
Motilidad progresiva	30.5% +- 1.5 a	11.2% +- 1.5 b
Espermatozoides normales	65.8% +- 2.9 b	75.2% +- 2.9 a
Anormalidades primarias	20.0% +- 1.7 b	14.3% +- 1.7 a
Anormalidades secundarias	9.1% +- 0.6 b	2.2% +- 0.6 a
Letras diferentes en el mismo renglón, representan diferencias significativas (P<0.05)		

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Gráfica 1
Cambios en la motilidad progresiva de los espermatozoides en
cabritos jóvenes



Gráfica 2
Cambios en la proporción de espermatozoides normales en cabritos jóvenes



DISCUSION

Refiriéndonos a las fuentes, algunos investigadores señalan que la recuperación de la motilidad progresiva en semen congelado debe ser del 50% en comparación del semen fresco y que porcentajes menores deben ser rechazados; De Lucas Tron en un artículo refiere a Wierzbowski y Kareta , quienes en 1993 encontraron que solo cuando el porcentaje de motilidad progresiva esta por debajo del 10% se ve afectado el porcentaje de fertilidad en el rebaño (De Lucas 1986). En nuestro caso el porcentaje obtenido fue de 11.2 % con una recuperación de la motilidad del 36.7 %.

El aumento de 10% en espermatozoides normales, no se refleja en la motilidad, lo que indica que en este trabajo existió daño espermático, tanto por la congelación como por el efecto de la centrifugación, y la recuperación de la motilidad progresiva que no superó el 50% que se ha señalado como adecuado después de la congelación (Pickett y Berndtson, 1974).

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las variables donde se encontraron diferencias significativas fueron: motilidad espermática, anomalías primarias, anomalías secundarias y espermatozoides normales

La motilidad espermática fue superior en el semen fresco que en semen descongelado

Las anomalías primarias y secundarias se redujeron después del tratamiento en beneficio de la calidad seminal

RECOMENDACIONES

La técnica Swim-up puede utilizarse con eyaculados de cabritos menores de un año ya que al utilizar dicha técnica se eliminan de manera considerable los espermatozoides que presentan algún tipo de anomalía

La técnica Swim-up se puede utilizar en cabritos poco antes de llegar a la madurez sexual, ya que para entonces han mejorado notablemente los parámetros del eyaculado como son volumen, motilidad, concentración espermática y morfología por lo cual puede ser apto para procesarse y utilizarse.

ANEXO 1

DILUENTE A BASE DE TRIS SOLUCION MADRE

TRIS	3.604 g.
D-GLUCOSA(DEXTROSA)	1.99 g.
ACIDO CITRICO	1.48 g.
AGUA DESTILADA	100 ml.
GLICEROL	7%
YEMA DE HUEVO	15%
PENICILINA	100,000 UI
ESTREPTOMICINA	0.1 g.

Valencia, et al 1994.

ANEXO 2

TECNICA DEL HEMATOCITOMETRO

1. Se colocó un cubreobjetos en el centro de la cámara Newbauer donde se encuentran las zonas de contéo.
2. Se tomo una gota del semen diluido en el medio Hancock que estaba en una dilución de 1:100 (semen:Hancock).y se depositó sobre la cámara teniendo cuidado que no se rebasara el área delimitada.
3. Se dejó reposar durante 5 minutos.
4. Se colocó la cámara en un microscopio de contraste de fase y se observó con el lente 10x hasta ubicar el área de contéo
5. Se cambio el lente objetivo a 40x,
6. Se procedió al conteo de la siguiente forma

1			2
	5		
3			4

7. Se contaron los espermatozoides (cabezas) contenidos en los cinco cuadros, se consideraron dentro del cuadro los que tocaban las triples líneas (cuadros chicos) de la parte superior y del lado derecho.
8. Se colocó un cubreobjetos en el centro de la cámara
Se obtuvo la concentración total de espermatozoides por mililitro multiplicando el número total de espermatozoides obtenidos por cinco.

$$(10 \times 10 \times 100 \times 100 \times 5) = 5\ 000\ 000$$

BIBLIOGRAFIA

1. Acontecer ovino-caprino. Oportunidades de inversión en la industria de la carne y leche de cabra en México. Ediciones Pecuarías de México, Vol II, **8** :4, 6, 22-26, (2000).
2. Agraz, G. A. Caprinotecnia I. Ed. Limusa, 2ª edición, México , D.F. 1984, pp. 840.
3. Agraz, G. A. Caprinotecnia III. Ed. Limusa, México , D.F. 1989 , pp. 3254.
4. Arbiza, A. S. Producción de caprinos. Editor. A. G. T. México , D.F. 1986, pp. 695.
5. Arbiza, A. S., De Lucas, T.J. La leche caprina y su producción. Editores mexicanos unidos, México, D.F. 2001, pp. 211.
6. Barros, C., Vigil, P., Herrera, Arguello, B., Walker, R., Selection of morphologically abnormal spermatozoa by human cervical mucus. Arch. Androl. 1985. Vol 16.
7. Buxade, C. Zootecnia, bases de reproducción animal. Ediciones mundi – prensa
8. Corcy, J. C. La cabra. Ed. Española, Barcelona España 1991, pp. 307.
9. Coscioni, A. C., Reichenbach, H.D., Schwartz, J., LaFalci, V.S., Rodrigues, J.L., Brandelli, A. Sperm function and production of bovine embryos in vitro after Swim-up different calcium and caffeine concentration. Animal Reproduction Science **67**: 59-67 (2001).
10. Cheminau, P., Cagnie', Y., Guérin, Y., Orgeur, P., Vallet, J.C. Trainig Manual on Artificial Insemination in sheep and Goats. FAO, Animal Production and Health. Ed. FAO, Rome , Italy, 1991, pp. 222.
11. Devendra, C., Mcleroy, G.B. Producción de cabras y ovejas en los trópicos. Ed. El Manual Moderno, México, D.F. 1986, pp. 295.
12. De Lucas, T. J. Inseminación Artificial en cabras . Apéndice 2., Producción de caprinos, Arbiza, A. S. Editor. A. G. T. México , D.F. 1986, pp. 695.
13. Evans, G., Maxwell, W.M.C. Salamon's Inseminación Artificial de ovejas y cabras. Ed. Acribia, Zaragoza, España, 1990, pp. 192.
14. García, E.A. Posibilidades reproductivas. www.minusval200.com. 2000.
15. Hafez, E.S.E. Reproducción e inseminación artificial en animales. Ed. Interamericana Mc-Graw Hill , 5ª edición, México, D.F. 1989, pp. 694.
16. INEGI. Síntesis Geográfica, Nomenclátor y Anexo Cartográfico del Estado de México. México, D.F. 1981, pp. 223.
17. Iruegas, E.L.F., Castro, L. C., Avalos , F. L. Oportunidades de desarrollo en la industria de la leche y carne de cabra en México. FIRA, Boletín informativo, vol. 32, **313** :5-99 (1999).
18. Keskin-tepe, L., Simplicio, A. A., Brackett, B.G. Caprine blastocyst development after in vitro Fertilization with spermatozoa frozen in different extenders. Theriogenology Elsevier Science. **49** : 1265-1274 (1998).

19. Neria, V.J.B., Solar, P. A. J. Comparación entre la motilidad y morfología de los espermatozoides de carnero antes y después de la congelación de muestras obtenidas con vagina artificial y electroeyaculador FES-C. U.N.A.M, Estado de México, 1984.
20. Pickett, B.W. y Berndtson, W.E. Preservation of bovine spermatozoa by freezing in straws. A review. *J. Dairy Sci.* 1974. 57: 1287.
21. Pinkerton, F. Reproducción, En: Tecnología de la producción caprina. FAO, Chile, Santiago de Chile, 1987. pp, 242
22. SEP., Secretaria de Educación Pública. Cabras., Manuales para educación agropecuaria, Ed. Trillas, México, D.F. 1982. pp, 108
23. Simplicio, A. A ., Brackett, B.G., Keskinetepe, L. Use of cryopreserved spermatozoa for caprine in vitro fertilization (IVF), *Theriogenology Elsevier Science* . 47. 299 (1997).
24. Snedecor, W.G., Cechran, G.W. Métodos estadísticos. Cía. Editorial Continental, México, D.F. 1971. pp, 703
25. Suttiyotin, P., Thwaites, C. J. Evaluation of the ram semen motility by a swim-up technique. *Journal of Reproduction and Fertility*. 97 :339-345 (1993).
26. Trejo, G.A. Características y eficiencia reproductiva de los caprinos, enfocada a las condiciones de las zonas áridas y semiáridas del altiplano mexicano. En: Taller de trabajo, sanidad y reproducción de caprinos, 26-28 de octubre Salinas, G.H., Flores, A.S., Ruiz, Z.F. SARH. México, D.F. 1982, pp. 78.
27. Trejo, G.A., Medrano, H.J. Mejoramientos de los eyaculados caprinos mediante filtración. XIII Reunión nacional sobre caprinocultura, Facultad de agronomía, U.A.S.L.P., San Luis Potosí, México 1998.
28. Trejo, G.A., González, R.V.D., Escobar, C.M., Toledo, F.D. y De los Santos, P.T. Comparación de la calidad del semen obtenido con electroeyaculador a tres diferentes niveles de amperaje en corderos de la raza Columbia. 2º Congreso Latinoamericano de Especialistas en Pequeños Rumiantes y Cámelidos Sudamericanos. Mérida, Yucatán, México. 2001. Trabajo 51.
29. Valencia, M.J., González, H.G., González, G.M.E., Trejo, G.A. *Veterinaria México* **25** (2):127-131 , México 1994.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**