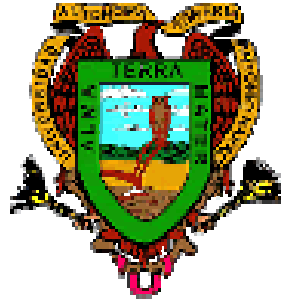


**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

DIVISION DE CIENCIA ANIMAL



PROCESAMIENTO DE SEMEN CAPRINO

Por:

JUAN VICENTE NAVARRETE MENDOZA

MONOGRAFIA

**Presentada como requisito parcial para
Obtener el Título de:**

Ingeniero Agrónomo Zootecnista

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Noviembre de 2005

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

PROCESAMIENTO DE SEMEN CAPRINO

MONOGRAFIA

POR:

JUAN VICENTE NAVARRETE MENDOZA

**QUE SOMETE A LA CONSIDERACION DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:**

**INGENIERO AGRONOMO ZOOTECNISTA
APROBADA**

**ING. RODOLFO PEÑA ORANDAY
PRESIDENTE**

**M.C. LAURA E. PADILLA GONZALEZ
SINODAL**

**M.C. ENRIQUE ESQUIVEL GUTIERREZ
SINODAL**

**DR. RAMON F. GARCIA CASTILLO
COORDINADOR DE LA DIVISION DE CIENCIA ANIMAL**

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MEXICO

NOVIEMBRE DE 2005

DEDICATORIA

A Dios nuestro señor por darme el don de la vida y una familia divina.

A mis padres, el Sr. Juan Navarrete Mayo y la Sra. Lilia Martha Mendoza Morales, por ser unos padres maravillosos, ejemplo vivo del trabajo, la responsabilidad y el cumplimiento. Por todo el amor y el apoyo que me brindaron a lo largo de mi carrera y toda mi vida, con profundo agradecimiento y respeto, gracias.

A mis hermanos, Liliana, Elizabeth y Erik, por todo el tiempo que han dedicado a ofrecerme cariño y comprensión, les agradezco infinitamente su apoyo moral incondicional que ha contribuido a mi formación profesional y personal.

A Rosario, la compañera de mi vida, te agradezco que hayas llenado de amor mi corazón, eres un ejemplo de superación y responsabilidad, por tu comprensión, paciencia y motivarme a siempre seguir adelante, gracias. Te amo.

A mi Bebe, por alegrar nuestras vidas con tu concepción y ser una inspiración para superarme día con día, gracias.

A mi familia, por hacerme ver que en la vida de un hombre es indispensable estar rodeado de personas queridas que le brinden cariño y apoyo.

A la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” por forjarme como profesionista y haberme envuelto en su seno en los años mas maravillosos en la vida de un hombre ¡los años de estudiante!.

AGRADECIMIENTOS

A el Ing. Rodolfo Peña Oranday, asesor principal en la elaboración de mi documento recepcional y un gran amigo, gracias por todo el apoyo brindado.

A la M. C. Laura E. Padilla González, por su contribución en la formulación, elaboración y finalización de este documento, gracias.

A el Ing. Enrique Esquivel G. y la Lic. Laura Maricela Lara López por su importante participación en el desarrollo y revisión de este trabajo.

A todos mis amigos que en todo momento me brindaron su amistad, calmando la nostalgia que se genera al estar en tierras lejanas, también por que de alguna manera contribuyeron a la realización de este trabajo, por esto y más agradezco especialmente a:

Ing. Hernán villatoro moreno.

Ing. Antonio Navarrete Alfonso.

Ing. Rodolfo. A. Vicente Cid de León.

Ing. Luís Eder Hernández Vázquez.

Ing. Edwing Portillo Vega.

Ing. Edwin Nava Gallardo.

Lic. Educ. Innova Lisette Valadez Esparza.

INDICE GENERAL

	Pagina
Dedicatoria	II
Agradecimientos	IV
INDICE DE CUADROS	V
INDICE DE FIGURAS	VI
INTRODUCCION	1
Objetivo	3
ANTECEDENTES	4
REVISION DE LITERATURA	6
EVALUACION Y SELECCIÓN DE SEMENTALES DONANTES DE SEMEN	6
ESTACIONALIDAD DE LA ESPECIE CAPRINA	7
CARACTERISTICAS DEL SEMENTAL	8
CARACTERISTICAS DEL EYACULADO	9
EXTRACCION Y COLECCIÓN DEL SEMEN	10
METODOS DE COLECCIÓN	11
Vagina Artificial	12
Entrenamiento del Macho Cabrio para Uso de Vagina Artificial	14
Uso del Electroeyaculador	15
EVALUACION DEL EYACULADO	18

DILUYENTES PARA SEMEN	31
CARACTERISTICAS GENERALES DEL DILUYENTE	33
SELECCIÓN DEL DILUYENTE	34
TIPOS DE DILUYENTES	36
Tris-Yema-Fructosa	36
Citrato-Yema-Glucosa	37
Leche Ultrapasteurizada	39
Diluyente de Agua de Coco	41
RESULTADOS EXPERIMENTALES DE DILUYENTES	42
¿QUE ES UN CRIOPROTECTOR?	45
CALCULOS DE DILUCION	47
PERIODO DE EQUILIBRACION O ESTABILIZACION	48
CONSERVACION DE SEMEN DURANTE CORTO TIEMPO	49
CONGELACION DE SEMEN	50
MANEJO Y CONSERVACION DE SEMEN CONGELADO	52
DESCONGELAMIENTO DE LAS PAJUELAS DE SEMEN	53
RESUMEN DE LOS PUNTOS IMPORTANTES IMPLICADOS EN LA CONGELACION, CONSERVACION Y DESCONGELACION DEL SEMEN	54
INSEMINACION ARTIFICIAL	56
METODOS DE INSEMINACION ARTIFICIAL	58
Inseminación Vaginal	58

Inseminación Cervical	60
Inseminación Intrauterina (Laparoscopia)	64
CONCLUSIONES	67
LITERATURA CITADA	68

INDICE DE CUADROS

	Pagina
CUADRO 1. Concentración del Semen del Macho Cabrio Valorada por su Consistencia y Apariencia	22
CUADRO 2. Sistema de Valoración de la Onda de Movimiento	24
CUADRO 3. Diluyente Tris-Yema-Fructosa	37
CUADRO 4. Diluyente Citrato-Yema-Glucosa	37
CUADRO 5. Diluyente Leche Ultrapasteurizada.....	40

INDICE DE FIGURAS

	Pagina
FIGURA 1. Semental de la raza Boer	9
FIGURA 2. Vagina Artificial empleada en Machos Cabrios	13
FIGURA 3. Movimiento Masal de los Espermatozoides del Macho Cabrio	25
FIGURA 4. Movimiento Progresivo de los Espermatozoides	26
FIGURA 5. Espermatozoides Normales del Macho Cabrio	30
FIGURA 6. Congelación del Semen por Exposición a Vapores de Nitrógeno Liquido.....	51
FIGURA 7. Manejo de pajuelas en Termos con Nitrógeno Liquido	52
FIGURA 8. Equipo para I. A. Cervical	61
FIGURA 9. Posición Correcta para la Inseminación Cervical	62

INTRODUCCION

Hoy en día existen en México diversos factores que frenan el desarrollo de la producción pecuaria caprina a tal grado que tales condiciones han puesto al margen nuestra producción comparada con el nivel tecnológico de otros países, considerándola así en una situación crítica que inspira preocupación por los profesionistas involucrados en el área.

Entre los factores más importantes que predisponen esta situación tan precaria, figura la escasa o casi nula información que disponen los productores del campo y los investigadores para poder desempeñar una efectiva explotación caprina, como consecuencia nace una necesidad de obtener mayor conocimiento que ayude a realizar un trabajo más eficiente para poder sufragar las demandas del mercado que hoy en día se han tornado más exigentes en el sentido de calidad de canal, derivados y tamaño de producción.

En la actualidad es necesario eficientar el nivel tecnológico, una ruta a seguir es la inseminación artificial a través de la conservación "In Vitro" de semen congelado para poder utilizar la genética más sobresaliente de machos donantes de semen de la región y ésta pueda ser utilizada en explotaciones de pequeña o mediana producción, que por lo general no cuentan con los recursos necesarios para obtener un semental de buena o excelente calidad, esta metodología no resulta del todo confiable en nuestro país debido a que se encuentra con diferentes obstáculos producto de una falta de investigación consistente en esta especie.

En el procesamiento de semen para su utilización en la Inseminación Artificial se debe analizar detenidamente, todos los factores que puedan involucrarse en el fracaso de la misma, por lo tanto tomaremos en cuenta desde

el momento de selección del macho donante de semen hasta el descongelado de las pajillas al momento de inseminar.

Durante el complejo trayecto a seguir en el procesamiento de semen los puntos mas importantes son: La selección del macho donante, técnica empleada para la extracción del semen, la manipulación correcta del semen después de la extracción, la utilización de un diluyente de buena calidad que proporcione los nutrientes necesarios para la supervivencia de los espermatozoides, así como la incorporación de un crioprotector que evite el daño al espermatozoide por los cristales de hielo que se forman al momento de la congelación con nitrógeno liquido, la adecuada descongelación en baño María de la pajilla al momento de inseminar, este ultimo es un punto muy critico que puede ser decisivo en el fracaso o éxito de todo el proceso, esta es la razón que sigamos con admirada atención la actividad prodigiosa de los investigadores para reafirmar la Inseminación Artificial y sobre todo para incrementar y perfeccionar el conjunto de disciplinas, adelantos y conocimientos que acompañan a la que hoy podemos llamar realmente “La Ciencia de la Inseminación Artificial”.

Mediante el presente documento se pretende difundir en forma clara y simple los medios mas adecuados para la obtención, supervivencia y conservación de los espermatozoides en base a estudios previos que se han hecho sobre el mismo y de esta manera sean utilizados para optimizar las técnicas ya establecidas logrando igualar las producciones de otras especies que están sujetas a un estudio mas intenso, adoptando de estas las aplicaciones mas practicas, teniendo un respaldo a la seguridad de su utilización, colaborando así al desarrollo del ámbito pecuario en nuestro país.

OBJETIVO

- Proporcionar información acerca de la metodología del procesamiento de semen caprino y sus avances, resultado de la investigación de este rubro, a los productores agropecuarios, estudiantes, profesionistas e interesados en esta área.

ANTECEDENTES

Según Galina (1989) Antoni Van Leeuwenhoech en 1617 descubre “los animalitos del semen” con ayuda del microscopio.

Jacobi (1725), y Veltheim (1963), fertilizan los huevos de la hembra con semen obtenido de peces.

Spallanzani (1780-1785), realiza con éxito la primera inseminación experimental de una perra, la que parió 2 machos y una hembra, 62 días después.

Harrison (1893) y Pearson (1893), colectaron semen de la vagina de una yegua con una jeringa y lo introdujeron en el útero de otras yeguas.

Hoffman (1905), en Alemania recomienda la dilución del semen con leche.

Iwanow (entre 1889 y 1930), revoluciona la inseminación artificial en equinos, bovinos, ovinos, animales salvajes, aves e insectos. Realiza diluciones y transporte de semen. Experimenta cruzamientos entre bovino europeo, el cebú y búfalos, así como entre el caballo domestico y la cebra.

Spallanzani (1803) reporto que el esperma enfriado con nieve no moría, sino que solo se tornaba inmóvil hasta ser expuesto al calor.

Milowanow (1932), publica la inseminación en Rusia, de medio millón de ovejas y 1350 bovinos.

La primera vagina artificial para recolectar semen de perros la diseño

Amantea (1914), de la Universidad de Roma; posteriormente los rusos diseñaron vaginas artificiales para garrones, toros y carneros. El electroeyaculador se diseñó a fines de la década de los 40 (Sorensen, 1979).

Phillips y Lardy (1932) descubrieron un método nutritivo amortiguador para diluir el eyaculado, siendo un diluyente fosfatado con yema de huevo que protegía a los espermias durante el enfriamiento de temperatura a 5 °C.

Se mejoraron los diluyentes al sustituir los fosforados usados por Phillips y Lardy por los que contenían Citrato de Sodio (Salisbury y Vandemarck, 1964).

Sorensen en 1940 introdujo el uso de las pipetas de plástico para el almacenamiento de semen congelado en pajillas (Derivaux, 1961).

REVISION DE LITERATURA

EVALUACION Y SELECCIÓN DE SEMENTALES DONANTES DE SEMEN

En la practica de la Inseminación Artificial con semen congelado, se espera obtener material genético de un semental de comprobada capacidad reproductiva, que logre transmitir a sus descendientes las características deseadas, en este proceso se puede utilizar semen fresco, enfriado o congelado, pero de igual manera es indispensable una correcta evaluación del reproductor.

Según Ferreira y Pérez (2001) los machos caprinos son animales precoces que a los cuatro meses de edad pueden entrar en pubertad alcanzando la madurez sexual a los siete meses después del nacimiento, aunque el peso, el desenvolvimiento corporal y la producción espermática ideal se alcanza a los dos años de edad en promedio, el reproductor puede actuar efectivamente como donador de semen hasta los siete u ocho años de edad, cuando deberá ser sustituido por presentar una disminución en su potencial reproductivo.

Evans y Maxwell (1990) mencionan que en la selección del semental se deben examinar los órganos reproductores poniendo especial atención en el tamaño y forma de los testículos y epidídimos, órganos que pueden ser palpados a través del escroto. Los testículos deben ser firmes y elásticos, carentes de lesiones o deformidades y moverse libremente dentro del saco escrotal, también inspeccionar anomalías en prepucio, pene y conducto eyaculatorio.

La selección del semental es indispensable, pues el animal seleccionado debe estar probado y su calificación debe ser excelente en todos sus órdenes.

Debe transmitir los caracteres más valiosos que heredo de sus ascendientes y que este demostrada su integridad como reproductor, ya que los errores en selección afectaran a un mayor numero de individuos en la próxima generación. En suma los caracteres más valiosos, según la raza son: mayor calidad y producción de leche, mejor carne, más pelo y mejor calidad, precocidad, longevidad productiva, resistencia y rusticidad. (Agraz, 1989).

Es muy importante que el macho seleccionado posea semen de buena calidad y en cantidad. Este factor se debe controlar inmediatamente antes de comenzar el programa de Inseminación Artificial, aun cuando se haya controlado anteriormente, por ejemplo antes de comprarlo. (Evans y Maxwell, 1990).

ESTACIONALIDAD DE LA ESPECIE CAPRINA

La estacionalidad reproductiva no es tan marcada en el macho como en la hembra, por lo que puede tener actividad sexual todo el año. La disminución del foto período estimula la actividad reproductiva del macho cabrio. En el hemisferio norte esto ocurre en el otoño. Las variaciones estacionales afectan las características del semen, sin embargo en México estas diferencias son menos marcadas que las presentadas en otros países mas alejados de la línea ecuatorial.

La disminución de horas luz estimula la síntesis y liberación del LH y FSH, resultando un incremento en la espermatogenesis y la producción de testosterona por el testículo.

La movilidad y concentración espermática disminuyen fuera de la estación reproductiva natural, de igual forma se ve afectada la capacidad fertilizadora del espermatozoide caprino.

Altas temperaturas ambientales también pueden modificar las características seminales ya que los testículos requieren una temperatura menor que la corporal. Se afecta la movilidad, concentración y proporción de espermatozoides anormales, ya que se incrementa la proporción de células muertas, espermatozoides con gota citoplásmica y cabezas piriformes. (Galina, 1988).

CARACTERISTICAS DEL SEMENTAL

Según Ferreira y Pérez (2001) en la selección de un reproductor deben observarse algunas características tales como:

- A. El reproductor debe tener un aspecto sano en general exento de anomalías corporales y presentar aspecto masculino.
- B. Los testículos deben ser asimétricos, ovoides, firmes y presentes en la bolsa testicular. Animales con problemas de criptordismo (uno o ambos testículos presentes en abdomen), orquitis (inflamación en los testículos) e hipoplasia (carácter genético de disminución de tamaño) deben ser descartados como reproductores.
- C. El animal debe estar libre de alteraciones prepuciales y/o penianas.
- D. Debe presentar una buena libido.
- E. Debe tener integridad testicular (ausencia de miasis, garrapatas, micosis, gusaneras y otras lesiones corporales).
- F. Debe estar exento de toda enfermedad.
- G. No presentar malformaciones (tetras súper numéricas, tetras bipartidas, hernia umbilical).
- H. Tener buenos cascos y aplomos.
- I. No ser retrognata ni prognata.

Un semental que reúna todas estas características se puede considerar un excelente reproductor (figura 1) que puede ser útil para usarse en programas de mejoramiento genético.

Figura 1. Semental de la raza Boer. <http://www.chillan.udec.cl/boer/boer.html>



Hammond y Marshall (1926) citados por Bonadonna (1989) hicieron notar que en los reproductores cabrios la patología sexual es relativamente limitada, más bien la infertilidad esta predominantemente conectada a causas fisiológicas, mientras que la esterilidad por factores patógenos es poco frecuente.

CARACTERÍSTICAS DEL EYACULADO

Galina (1988) concluye que el eyaculado de semental seleccionado debe reunir las siguientes características:

Volumen (ml.)	0.1 – 1.5
Concentración ($\times 10^9$ /ml.)	2 - 6
Motilidad (%)	60 - 80
Espermatozoides anormales (%)	11

EXTRACCION Y COLECCIÓN DEL SEMEN

La colección de semen debe hacerse lo mas natural posible para obtener el mayor volumen así como su concentración de espermatozoides, tratando que se efectué bajo las condiciones sanitarias necesarias para evitar la contaminación de la muestra, con la finalidad que no se vea alterada en su calidad. Cualquiera que sea la técnica, empleada correctamente puede dar muestras óptimas.

La recolección de esperma constituye una premisa fundamental en la metodología de la Inseminación Artificial ganadera, hay que tomar en cuenta que en la obtención del esperma y en el rendimiento de los correspondientes métodos, influyen condiciones ambientales, temperamentales, psicológicas y anatómico funcionales (Pérez, 1966)

Evans y Maxwell (1990) señalan que existen dos métodos para extraer y recoger el semen, denominados como el de la vagina artificial y el de estimulación eléctrica, este ultimo tiene el inconveniente de producir malestar en el macho, no se pueden hacer colectas frecuentes de semen y este se contamina fácilmente con la orina durante la recolección.

Pérez (1966) menciona que la electroeyaculación tiene por finalidad provocar una contracción eléctrica inducida en los órganos mantenedores del esperma, la excitación provocada por el electrodo con voltaje de 35 o 40 voltios provoca eyaculaciones con un volumen comprendido entre 0.5 y 1.9 c.c. de semen normal, además recomienda que los reproductores estén en ayunas al momento de la colección.

Según Pérez (1966) Los métodos de recolección de semen deben reunir las siguientes condiciones:

- A. Obtención del máximo volumen de eyaculado.
- B. No debe constituir un peligro para el animal.
- C. No debe significar riesgo durante su ejecución al operador.
- D. Obtener el material seminal en estado de absoluta pureza, por lo que se refiere a la contaminación externa.
- E. El método no debe desencadenar en los sementales reflejos inhibitorios, capaces de alterar el deseo sexual y en consecuencia el rendimiento eyaculatorio.

Según Agraz (1989) el régimen sexual de los caprinos permite obtener esperma una o dos veces por semana en machos jóvenes y 2 o 3 en los adultos, recogándose dos eyaculados consecutivos. La muestra de semen puede ser recogida por medio de tres diferentes sistemas:

- A. Obtenida la muestra de la vagina de la cabra, inmediatamente después de la copula.
- B. Usando una vagina artificial en lugar de la cabra.
- C. Por excitación eléctrica (electroeyaculación).

METODOS DE COLECCIÓN

La eyaculación o emisión voluntaria del esperma, previa erección, es un proceso anatomofisiológico que se desarrolla en dos tiempos: primero se produce la contracción violenta y progresiva de los órganos (epidídimo, ampollas deferentes y conductos eyaculadores) y luego tiene lugar la contracción tónica de los músculos (uretrales, vulvocavernosos e isquiocavernosos) en virtud del cual el semen es lanzado al exterior con violencia (Pérez, 1966).

Actualmente existen varias metodologías para la obtención de semen, en nuestro caso analizaremos dos técnicas interesantes que van mas apropiadas para la especie caprina.

VAGINA ARTIFICIAL:

La vagina artificial para caprinos se construyo por primera vez en Rusia en 1931, el modelo fue adoptado en todos lados con sus respectivas modificaciones en detalles de construcción (Bonadonna, 1986)

Según Evans y Maxwell (1990) la vagina artificial es una imitación de la vagina de la cabra, que proporciona el estímulo térmico (temperatura) y mecánico (presión) para la erección del pene del macho y que son, igualmente necesarios para producir la eyaculación.

Pérez, (1966) señala que en los caprinos los corpúsculos sensitivos en el pene se localizan en la base de dicho órgano y sobre todo, detrás de la inflexión sigmoidea, este hecho debe ser considerado en la recolección para que los estímulos aumenten en dicha región, los cuales recogen las sensaciones de tacto, presión y temperatura.

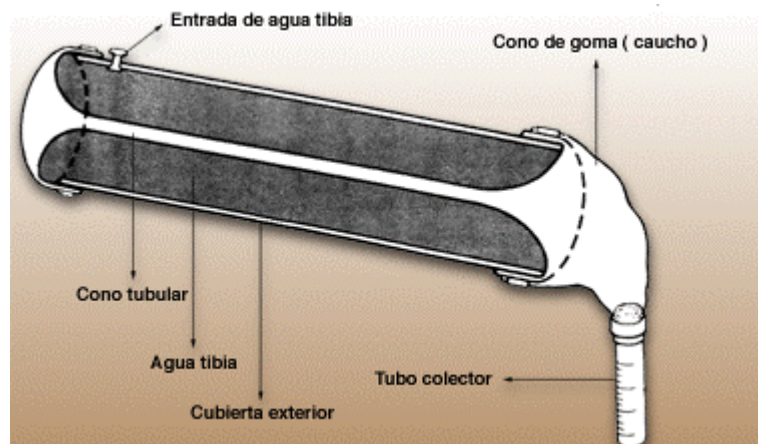
Para la recolección del semen ya sea con un potro o una cabra en calor, debe acostumbrarse al semental a una rutina: preparada la vagina artificial, se trae al semental, se amarra cerca de la cabra en calor, se deja aproximadamente 15 minutos y después se para cerca de la hembra; se les suelta a que intente montar a la hembra, no dejando que eyacule. Al tercer intento de montar se le coloca la vagina y así es como se obtiene el máximo de concentración de espermatozoides. Se pueden sacar hasta dos tomas en el mismo día con una buena concentración (Agraz, 1989).

La vagina artificial consiste en una caperuza externa de 15 x 5.5 cm. para el macho cabrio, fabricada de goma, plástico o material sintético que tenga propiedades aislantes. La vagina deberá estar limpia, seca y estéril, después de cada uso se debe lavar y enjuagar con agua destilada. La vagina artificial debe tener una temperatura de 42 – 45 ° C. inmediatamente antes de recoger el semen eyaculado (Evans y Maxwell, 1990).

El empleo de la vagina artificial es el método menos estresante para el semental y como consecuencia el más eficiente, incluye una armazón de hule rígido adaptado a cada especie animal con una válvula para introducir agua y presión con aire, una funda de látex interior y un embudo de hule de 20 cm. de longitud por 2.5 cm. de diámetro interno con tubo colector de plástico o vidrio graduado (figura 2), todo el material debe estar perfectamente esterilizado, una vez preparada la vagina artificial debe mantenerse a una temperatura de 40 ° C con agua y lubricada.

Figura 2. Vagina Artificial empleada en Machos Cabrios.

http://www.uc.cl/sw_educ/prodanim/caracter/fi8.htm



Al momento que el semental monta el maniquí o la hembra en celo desvaina el pene, el operador debe tener cuidado de introducirlo en la vagina

artificial para captar el eyaculado, inmediatamente después de obtener la muestra se lleva a un lugar sanitizado para realizar los estudios posteriores para determinar su calidad y poder dar un fallo en cuanto a su posible utilización (Evans y Maxwell, 1990).

ENTRENAMIENTO DEL MACHO CABRIO PARA USO DE VAGINA ARTIFICIAL

Según Evans y Maxwell (1990) los pasos recomendados para el entrenamiento de machos cabrios son los siguientes:

- A. Llevar a los machos a los aparatos de sujeción, en el cobertizo, durante 5-10 días, para acostumbrarlos al ambiente que los rodea.
- B. Introducir una o dos hembras en estro en el cobertizo y dejar que las cubran los machos.
- C. Acostumbrar al macho a que cubra a la hembra cuando esta colocada en el sujetador (presencia de un ayudante), cuando el semental monte, el ayudante debe acostumbrar al animal que se deje palpar la vaina del pene.
- D. Los machos cabrios que montan con regularidad a las hembras maniqués, en presencia del ayudante, pueden acostumbrarse con facilidad a eyacular en la vagina artificial.

VENTAJAS:

- A. Menor stress al semental.
- B. Mayor limpieza del eyaculado.
- C. Mayor concentración de espermatozoides en el eyaculado.
- D. Se pueden practicar varias extracciones en un mismo día y en días consecutivos.

- E. En caso que el semental este adiestrado se facilita la extracción.
- F. El equipo tiene bajo valor económico.
- G. Se obtiene semen con mayor rapidez.
- H. Proporciona semen de mayor calidad.

DESVENTAJAS:

- A. Su difícil aplicación a nivel campo.
- B. Se necesita adiestramiento del animal (2-3 semanas).
- C. Es indispensable la presencia de un maniquí o una hembra en celo.
- D. La pérdida de tiempo en adiestramiento del semental en caso que las pruebas de calidad de semen se observen negativas.
- E. Complicada elaboración de la Vagina Artificial.
- F. Se obtiene menor volumen del eyaculado.

USO DEL ELECTROEYACULADOR

El primero que probó el método eléctrico para obtener el material seminal en machos cabrios fue Gunn en Sydney, Australia, en el año 1932 y en el mismo año publicó sus primeras observaciones experimentales.

En el estado actual del proceso tecnológico, los métodos de electroeyaculación son dos: El de dos electrodos (anal y dorsal) y el de electrodo rectal bipolar. El segundo es el que se utiliza universalmente, mientras el primero se abandonó (Bonadonna, 1989).

Salisbury y Vandemark (1964) comentan que la electroeyaculación es la obtención de semen por medio de la estimulación eléctrica, se emplea una sonda rectal bipolar para provocar la excitación eléctrica de los nervios regionales, próximos a las glándulas accesorias y a la base del pene, que son

los que determinan la erección y la eyaculación. Este método resulta especialmente valioso en aquellos sementales que son incapaces de montar.

Bonadonna (1989) considera al proceso de electroeyaculación como el resultado de una serie de contracciones rítmicas de orden expulsivo, que afectan los diferentes segmentos de las vías urogenitales de emisión del semen, desde los epidídimos hasta los conductos deferentes, las ampollas seminales, los conductos eyaculatorios y la uretra peniana.

La electroeyaculación tiene por finalidad provocar una contracción eléctrica inducida en los órganos mantenedores del esperma y en los músculos uretrales que son fundamentales en la descarga espermática (Pérez, 1966).

Pérez (1966), concluye que excitaciones del orden de 25-30 voltios y 100 m. a. durante 5-6 segundos, con intervalos de 10 segundos, provocan el grado de erección más adecuado.

El electroeyaculador comprende un electrodo conectado a una fuente de energía, el cual es colocado por vía rectal al animal y se le pasan impulsos eléctricos, lo cual de forma artificial va a provocar una eyaculación pero sin ser una respuesta sexual.

Pérez (1966), citado por Guevara (1994); menciona que la electroeyaculación tiene por finalidad provocar una contracción eléctrica inducida en los órganos mantenedores del esperma, la excitación sucesiva del centro eyaculatorio con voltaje de 45-40 voltios y de 160 a 180 m. a. provoca eyaculaciones con un volumen comprendido entre 0.5 y 1.9 c. c. de semen normal, además recomienda que los animales estén en ayunas en el momento de la recolección.

La eyaculación se presenta por lo general después de cuatro y siete estímulos, el volumen del eyaculado es un poco mayor que el de las muestras recolectadas con vagina artificial y la concentración de espermatozoides es menor en forma proporcional (Hafez 1987, citado por Guevara, 1994).

Se debe introducir el electrodo rectal a 10 o 12 centímetros sosteniéndolo fijo, se aplicaran entonces una serie de 10 a 20 excitaciones a 30 voltios, los shocks eléctricos deben aplicarse cada 5 segundos durante tiempo similar. De esta forma se obtiene una eyaculación rápida, con o sin erección del miembro. Con este sistema un macho cabrío eyacula de 0.9 a 2.7 c. c. de semen con aproximadamente 1, 500. 000. 000 (mil quinientos millones de espermatozoides por mm³) (Agraz, 1989).

Para la colección de semen del macho se deben cortar los pelos o la lana larga que bordee la vaina, el prepucio se debe limpiar correctamente con agua destilada y secar con toallitas. La sonda se humedece o lubrica con vaselina y se inserta en el recto a una profundidad de 15-20 cm. procurando no lesionar la mucosa. Se debe sujetar el glande del pene con la mano e introducirlo en un tubo de ensayo estéril. El ayudante debe presionar sobre la sonda hacia el suelo de la pelvis, aplicándose estímulos de 3-8 segundos a intervalos de 15-20 segundos. Después fluirá la secreción de las glándulas accesorias y luego el semen. Cuando se obtiene líquido muy claro se debe desechar para evitar diluciones innecesarias del semen (Evans y Maxwell, 1990).

VENTAJAS:

- A. El proceso es relativamente fácil y en poco tiempo.
- B. Se puede realizar a nivel campo sin dificultades.
- C. Se obtienen eyaculados mayores al observado con vagina artificial.
- D. No se necesita adiestramiento del semental.

- E. Se puede electro eyacular gran cantidad de animales diferentes en un corto lapso de tiempo.
- F. Un semental puede probarse reproductivamente en poco tiempo.
- G. Puede utilizarse en un macho que no es posible entrenarlo a la vagina artificial.
- H. Se pueden utilizar machos valiosos que no pueden cubrir normalmente o han perdido su deseo sexual.
- I. Se pueden utilizar machos demasiado jóvenes que aun no aprenden a montar.

DESVENTAJAS:

- A. Con esta técnica se provoca stress en los sementales.
- B. La concentración de espermatozoides es menor en el eyaculado.
- C. La muestra puede contaminarse de orina.
- D. No se pueden hacer frecuentes recogidas de semen de un mismo semental en un periodo de tiempo a comparación con la vagina artificial.
- E. La muestra puede contaminarse fácilmente.
- F. El equipo tiene un alto valor económico.
- G. El operador debe ser hábil para provocar menos stress a los sementales.

EVALUACION DEL EYACULADO

Desde el punto de vista biológico el semen puede definirse como el conjunto de células vivas vehiculadas en un medio líquido en el cual son capaces de desarrollar procesos bioquímicos con intercambio de productos de naturaleza distinta, derivada de la propia actividad metabólica del zoospermo. Desde el punto de vista fisiológico la palabra esperma es sinónimo de eyaculado y es resultante de la mezcla de la secreción testicular con las secreciones correspondientes a las glándulas del aparato genital masculino en el momento de la eyaculación con previa erección.

El eyaculado de caprinos es de escaso volumen y alta concentración de espermatozoides, ya que en todas las especies el volumen del eyaculado depende de la capacidad secretora de las glándulas del aparato reproductor (Pérez, 1966).

Según Evans y Maxwell (1990) después de recogido el semen y antes de usarlo se debe examinar, tanto la cantidad como la calidad del eyaculado.

Salisbury y Vandemark (1964) comentan que desde el punto de vista económico y biológico es fundamental que el esperma sea preparado y transportado para su empleo únicamente cuando posee las máximas probabilidades de éxito en la fecundación. Por consiguiente inmediatamente después de la colección, cada eyaculado debe ser sometido a una serie de métodos de exámenes sistemáticos. Si en un examen inicial se halla que el eyaculado no cumple las condiciones típicas establecidas para satisfacer la función fertilizante, este debe ser eliminado.

Una vez recogido el semen se debe poner especial atención para que no sea expuesto a condiciones desfavorables al recogerlo o manejarlo. Para la recogida y manejo de semen debe utilizarse material de vidrio perfectamente limpio, estéril, seco y templado (30 ° C.) para el manejo y valoración del semen se debe habilitar una zona provista de paredes, este lugar debe contener como mínimo una mesa o banco de trabajo y suficiente espacio para colocar el material, como microscopio, baño de agua, etc. (Evans y Maxwell 1990).

El examen de las muestras seminales deberá incluir la observación de su aspecto en conjunto, su volumen, concentración celular y motilidad. Estas determinaciones son necesarias para establecer las medidas de rutina implicadas en la dilución, manipulación y transporte del semen (Salisbury y Vandemark, 1964).

La muestra de semen obtenida del semental se debe mantener a una temperatura alrededor de 35 ° C. para proceder a hacer su evaluación, en la cual debemos analizar los siguientes aspectos:

VOLUMEN

Pérez (1966) concluye que la alimentación influye de forma notable en el volumen eyaculatorio, en primavera y cuando los sementales se encuentran sometidos a régimen verde, se obtienen los mayores volúmenes de eyaculación, las copulas reiteradas a intervalos demasiado cortos, disminuyen el volumen recolectado de esperma y por el contrario, la excitación sexual acentuada les aumenta, de aquí la conveniencia de mantener al semental a excitación sexual ante la presencia de hembras en celo aumentando de este modo el volumen del eyaculado.

Según Evans y Maxwell (1990), citado por Guevara (1994) el volumen no solo varia entre especies sino entre la misma especie independientemente de las variaciones individuales existen otros factores como la edad, condiciones climáticas, el estado nutricional y la frecuencia de eyaculaciones. Establece que el volumen promedio es de 1-1.5 mililitros.

Pérez (1966) establece que los volúmenes de eyaculado de sementales de 2 a 5 años de edad que pueden calificarse como normales son de 0.5 a 2.0 c. c. con una media de 0.8 c. c. no obstante, en periodo de celo aumenta el rendimiento; cuando se trata de recolecciones vaginales, se obtienen los máximos volúmenes en relación con los resultados de la electroeyaculación.

El volumen del eyaculado es 0.1 ml. con un rango de 0.5 y 1.2 ml. Las eyaculaciones normales de un esperma altamente concentradas son mas acidas y el ph puede alcanzar hasta 5.9 como en los borregos.

El volumen del eyaculado se puede medir directamente del tubo de recogida, si está calibrado. Cuando la recogida de semen se efectúa con vagina artificial el promedio del volumen para machos cabrios es de 1.0 ml. Depende de la edad y la condición del animal, frecuencia de recogidas y destreza del operario. Cuando el semen se obtiene por electroeyaculación el volumen que se obtiene depende de la destreza del operario así como la respuesta del animal. (Evans y Maxwell, 1990).

Ferreira y Pérez (2001) concluyen que el volumen del eyaculado varía de 0.5 a 2.0 milímetros.

APARIENCIA

Es el resultado de la apreciación visual de la muestra de semen tan pronto es colectada, la cual debe tener tonalidad amarillenta y con aspecto cremoso. Se desprecian eyaculados muy claros, acuosos y turbios o con poca consistencia pues indican un reducido número de espermatozoides, colores oscuros indican exceso de contaminación en la muestra.

Ferreira y Pérez (2001) señalan que la tonalidad del eyaculado del macho cabrio debe ser amarilla, despreciándose el semen con coloración rojiza o color chocolate, indicando presencia de sangre o pus, respectivamente.

El semen del macho cabrio es blanco grisáceo a amarillo y el color es más variable que el del semen del borrego, de hecho el matiz varía entre uno y otro animal.

Evans y Maxwell (1990) indica que el color del semen es el primer factor que se valora y se hace en el mismo tubo de recogida, de acuerdo a su apariencia se puede tener una idea de la concentración de espermatozoides

(cuadro 1). El semen del macho cabrio es color blanco grisáceo o amarillento, pudiendo variar de un eyaculado a otro, aun del mismo semental. La presencia de sangre dará al semen una coloración rosácea y puede ser debido a lesiones del pene durante la recogida. Las coloraciones gris o parda son indicadores de contaminación o alguna clase de infección en el sistema reproductor.

Cuadro 1. Concentración del semen del macho cabrio valorada por su consistencia y apariencia (Evans y Maxwell, 1990).

No. De espermatozoides ($\times 10^9$) por ml.			
Valor	Consistencia y apariencia	Media	Valores extremos
5	Creмосa amarillenta espesa	5.0	4.5 – 6.0
4	Creмосa amarillenta	4.0	3.5 – 4.5
3	Creмосa amarillo tenue	3.0	2.5 – 3.5
2	Lechosa	2.0	1.0 – 2.5
1	Nebulosa	0.7	0.3 – 1.0
0	Clara (acuosa)	Insignificante	

MOTILIDAD

Según Evans y Maxwell (1990) la motilidad se valora mediante la característica onda del movimiento del semen o según la proporción de la motilidad progresiva de los espermatozoides en una muestra. La valoración por la onda de movimiento es el sistema más simple para determinar la movilidad del semen fresco.

Agraz (1989) sugiere que la estimación de la motilidad es subjetiva y se necesita hacer una observación minuciosa en infinidad de muestras con objeto de afinar esta apreciación.

Los métodos utilizados corrientemente para valorar la motilidad espermática son principalmente visuales y sus resultados se expresan en términos más comparativos que absolutos. Se tiende a definir la motilidad de los zoospermos de un eyaculado en conjunto o como valor medio de la población, este tipo de valoración visual es influido fácilmente por la concentración celular (Salisbury y Vandemark 1964).

La motilidad se determina microscópicamente, no existen aparatos que den la medida exacta, por lo que la determinación se realiza subjetivamente de dos formas:

MOTILIDAD MASAL

Se evalúa en base a vigor o potencia del oleaje observado en el lente del microscopio a 10 X, calificándolo en porcentaje de espermatozoides en movimiento.

El semen normal del macho cabrio presenta una onda de movimiento característica cuando se observa al microscopio. En efecto, los observadores con buena agudeza visual pueden ser capaces de observar la onda de movimiento en el tubo de colección, a simple vista, aunque la valoración precisa el uso del microscopio (cuadro 2). Se coloca una gota de semen sobre un porta objetos, limpio, seco y templado a 37 ° C. se cubre y se observa la onda con pocos aumentos. Normalmente se valora entre 0 y 5 puntos, despreciándose las muestras inferiores a 4. Aunque esta forma de valoración es subjetiva, con la práctica se puede hacer una estimación bastante segura (Evans y Maxwell, 1990).

Cuadro 2. Sistema de valoración de la onda de movimiento. (Evans y Maxwell, 1990)

Valor	Clase	Descripción
5	Muy buena	Densa, ondas de movimiento muy rápidas. No se pueden observar las células individuales. El 90 % o más de los espermatozoides son activos.
4	Buena	Movimiento vigoroso, pero las ondas y los remolinos no son rápidos como los de valor 5. Alrededor del 70-85 % de células activas.
3	Regular	Solo aparecen ondas de movimiento lento. Se pueden ver espermatozoides aislados. El 45-65 % de las células son activas.
2	Pobre	No aparecen ondas aunque se observe movimiento de espermatozoides. Solo viven el 20-40 % de las células espermáticas y su movilidad es pobre.
1	Muy pobre	Muy pocos espermatozoides (alrededor del 10 %) presentan signos de vida, pero con movimientos débiles.
0	Muertos	Ningún espermatozoide presenta movimiento.

Agraz (1989) sugiere observar al microscopio una vez obtenida la muestra, colocando rápidamente una gota de semen puro en un porta objetos a 37° C. se observa sin cubre objetos y empleando objetivo seco y débil. Cuando la motilidad en masa es grande se observa claramente el movimiento vigoroso del oleaje que recorre todo el campo microscópico. Este tipo corresponde al clasificado como muy bueno (80%). Si la muestra presenta un movimiento lento en su oleaje, la motilidad es buena (70%), pero si tiene solo un movimiento vibratorio en la superficie del campo microscópico se clasifica como mediano y debe desecharse.

Ferreira y Pérez (2001) sugieren que la motilidad masal es el movimiento en masa de los espermatozoides en el plasma seminal. Es semejante a las olas

del mar (figura 3) y puede recibir una evaluación de 0 (sin movimiento) a 5 (movimientos muy fuertes), siendo utilizadas muestras con valores mayores de 3.

Figura 3. Movimiento Masal de los Espermatozoides del macho cabrio.

<http://groups.msn.com/r5arcss5t2fo6hbl3ev63dak44/semn.msnw>



Holy (1983), citado por Guevara (1994) observa que en la muestra de semen vivo se valora el movimiento masivo de los nemaspermos y el tipo de movimiento individual con el fin de establecer el porcentaje de nemaspermos vivos, lo que es de extraordinaria importancia para la dilución final del semen y la fertilidad.

MOTILIDAD INDIVIDUAL

En este caso el semen es diluido en citrato de sodio al 2.9 % para poder observar el movimiento progresivo y rectilíneo de los espermatozoides individualmente, así como la proporción de ellos en movimiento.

De acuerdo con Evans y Maxwell (1990), citado por Guevara (1994) los espermatozoides pueden tener los siguientes tipos de movimientos: movimiento progresivo hacia delante, movimiento circular o rotatorio y movimiento

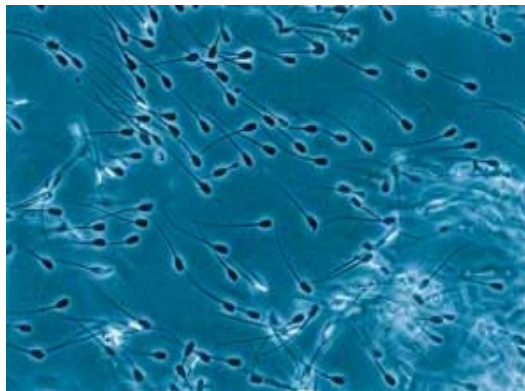
oscilatorio o convulsivo sin progreso ni cambio de posición. Se observa bajo microscopio, bajo cubre objetos, los espermatozoides moviéndose en diferentes direcciones.

Peters y Ball (1991), citados por Guevara (1994) mencionan que al menos el 60 % de los espermatozoides deben presentar un movimiento regular, si los espermatozoides se mueven hacia atrás o menos círculos pueden que estén dañados por el frío, el calor o la presión osmótica.

Según Ferreira y Pérez (2001) la motilidad individual progresiva (MIP) es el movimiento individual en flecha de cada espermatozoide (figura 4). Se califica de 0 a 5 y deben ser utilizadas las muestras con valores mayores de 3.

Figura 4. Movimiento progresivo de los espermatozoides.

<http://www.visionveterinaria.com/articulos/119.htm>



CONCENTRACION

Es el número de espermatozoides por mililitro de muestra, se realiza por medio del hemocitrometro y una pipeta de dilución 1:200. Se realiza la lectura al microscopio en áreas determinadas de la cuadrícula, multiplicando el total de

espermatozoides contados por un factor conocido y así se obtiene la cuenta de espermatozoides por mililitro.

La concentración es el número de espermatozoides por unidad de volumen, normalmente expresado en ml. Su determinación es muy importante ya que la relación de dilución depende de ella (Evans y Maxwell, 1990).

Ferreira y Pérez (2001) dicen que la concentración es determinada en el microscopio a través de espectrofotometría y significa la cantidad de espermatozoides en cada mililitro de semen. El valor normal en machos cabrios es de 3 billones/ml.

Evans y Maxwell (1990), citados por Guevara (1994) mencionan que la concentración es el número de espermatozoides por unidad de volumen y un semen de buena calidad contiene de 3.5 a 6 mil millones de espermatozoides por mililitro.

Holy (1983) citado por Guevara (1994) menciona que la concentración del semen en una unidad de volumen y su apreciación tiene gran significancia no solo para la clasificación si no también para la dilución del semen.

Pérez (1966) dice que se puede considerar un esperma denso aquel que al microscopio nos determina una imagen en la que los zoospermos están en la máxima concentración, no habiendo espacios apreciables libres o, en todo caso, menores al desarrollo de la cabeza del espermatozoide.

Salisbury y Vandemark (1964) sugieren que la concentración de espermatozoides en un eyaculado puede ser establecida por cuatro métodos generales: a) por recuento visual directo al microscopio del número de células que se hallan en un volumen determinado, si el semen es diluido en una

proporción constante conocida; b) por determinación en un nefelómetro, de la capacidad de absorción de luz del esperma diluido en proporción fija, comparando su densidad óptica con la de una muestra de esperma de concentración conocida por conteo directo; c) por comparación de la densidad óptica del semen diluido en proporción determinada con la de sulfato barico u otros productos de densidad conocida, calibrados frente a muestras conocidas por contaje directo; d) por determinación del volumen celular calibrado mediante recuento directo.

Agraz (1989) concreta que en la determinación del número de espermatozoides por centímetro cúbico es necesario un hemocitometro. Se llena la pipeta correspondiente hasta la marca 0.5 con semen y enseguida se llena el resto con suero fisiológico mezclándolos perfectamente, se dejan escapar 2 o 3 gotas y se vierten las siguientes en la cuadrícula del hemocitometro observando los cuadros 1, 2, 3, 4 y 5. Por ejemplo:

Se tiene un semental que al trabajarlo da 2 c. c. de semen, se procede lo anterior, resultando:

Cuadros No. 1: 20 espermatozoides, No. 2: 35 espermatozoides, No. 3: 30 espermatozoides, No. 4: 25 espermatozoides y No. 5: 40 espermatozoides.

Multiplicada esta cantidad por 10,000 se conoce lo que tiene un milímetro cúbico obteniendo 1' 500, 000 (un millón quinientos mil), se vuelve a multiplicar esta cantidad por 1,000 para saber lo que tiene un centímetro cúbico y se obtiene 1'500,000.000 (mil quinientos millones de espermatozoides) por c.c. como la muestra fue de 2 c.c. se multiplica esta cantidad por dos, obteniendo 3'000, 000,000 (tres mil millones). Suponiendo que la muestra tuviera el 50 % de espermatozoides anormales, entonces se tiene 1'500, 000,000 de espermatozoides viables por c.c.

MORFOLOGIA

Según Agraz (1989) la morfología tiene por objeto de estudio la forma y tamaño de los espermatozoides. El semen que presente demasiados espermatozoides anormales debe rechazarse, ya que esas diferencias afectan no solo lo relacionado al tamaño: gigantes, medios y enanos, sino a la deformación: dos cabezas, cabeza deformada, sin cola, cola corta o retorcida sobre si misma, dos colas, cuello filiforme, etc. La presencia de espermatozoides anormales en grandes cantidades en un eyaculado, indica desde luego un trastorno espermático con la consiguiente reducción de la fertilidad.

El examen morfológico del semen es una prueba de control de calidad. Cada eyaculado contiene una serie de espermatozoides anormales, pero si la proporción de estos es muy alta entonces nos encontraremos ante un semen de baja calidad (Evans y Maxwell, 1990).

Ferreira y Pérez (2001) comentan que la proporción de espermatozoides patológicos (sin cola, con doble cola, con doble cabeza, etc.) dentro de la población espermática no debe sobrepasar el 15 % para que la muestra pueda ser útil.

En animales que llevan mucho tiempo en reposo sexual puede encontrarse hasta un 6 % de atipias zoospermicas que radican principalmente en alteraciones cefálicas (cabeza desprendida, sin capuchón, hinchada, estrangulada, etc.). las variaciones en la cola suponen, en la mayoría de los casos, alteraciones ocurridas después de la recogida del eyaculado (shock térmico, biológico, etc.); en este sentido, las anomalías mas frecuentes son colas retorcidas, en espiral, etc. (Pérez, 1966).

En esta prueba se determina las anomalías primarias y secundarias de los espermatozoides mediante una tinción de contraste y observarla al microscopio, determinando esta prueba en porcentaje.

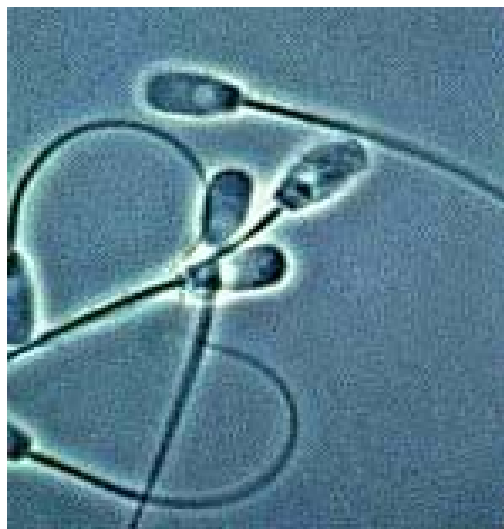
Evans y Maxwell (1990) comentan que los espermatozoides normales y anormales se pueden detectar en frotis de semen teñidos (figura 5), preparados sobre un porta objetos y sugiere utilizar la tinción Eosina-nigrosina, colorante que tiene la siguiente composición:

Eosina (soluble en agua)	1.67 g
Nigrosina (soluble en agua)	10.00 g
Citrato sodico, 2H ₂ O	2.90 g
Agua destilada, c.s.p.	100 ml

Los componentes del colorante se disuelven en un recipiente idóneo colocado en un baño de agua caliente. Antes de usarlo se debe filtrar.

Figura 5. Espermatozoides normales del macho cabrio.

<http://www.visionveterinaria.com/articulos/119.htm>



En la tinción Salisbury y Vandemark (1964) fijan el frotis al calor, los aclara con cloramina al 0.5 %, los tiñe primeramente con Fuchsin fenicada en caliente durante 1-2 minutos, luego elimina el exceso de colorante con agua, termina con una tinción de contraste con azul de metileno, enjuaga y seca con papel filtro.

Según Evans y Maxwell (1990) los pasos para valorar la morfología de los espermatozoides en una muestra de semen, son los siguientes:

- A. Colocar, en lugares separados, 1-2 gotas de colorante y una pequeña gota de semen, sobre el extremo de un porta objetos, templado a 37 ° C. antes de mezclarlas dejar que las gotas alcancen la misma temperatura.
- B. Se mezclan el semen y el colorante, se extiende sobre el porta objetos con la ayuda del borde de otro porta, de tal manera que se forme una delgada película sobre el porta objetos. Si la película es muy gruesa el control será más difícil.
- C. Dejar que se seque la muestra y observar al microscopio con aumento grande (por lo menos 400 X).
- D. Examinar, por lo menos, 100 espermatozoides en diferentes campos, cuantos mas espermatozoides se observen más aumenta la seguridad de la prueba. Anotar el número de espermatozoides normales y el de los distintos tipos de anormales.
- E. Las muestras de semen que contengan más del 15 % de espermatozoides anormales no se deben utilizar para Inseminación Artificial.

DILUYENTES PARA SEMEN

El semen se diluye para permitir la inseminación a muchas hembras y para conservar su capacidad fecundante a lo largo de todas las fases del

procedimiento que es preciso atravesar, antes que este en condiciones adecuadas para su introducción en el aparato genital de la hembra en celo (Salisbury y Vandemark, 1964).

Según Agraz (1989) la dilución tiene especial importancia en la aplicación de la inseminación artificial en los caprinos, debido a la gran densidad del semen eyaculado. Es necesaria la dilución cuando el número de cabras a inseminar es grande y debe aprovecharse al máximo la capacidad reproductiva de los sementales.

De acuerdo a Bonadonna (1989) el efecto de dilución se verifica con el agregado del diluyente al material seminal; por la acción ejercida por el diluyente (física, química y fisicoquímica) puede ser activadora o bien inhibidora frente a la dinámica de los espermatozoides.

Aunque el volumen de un solo eyaculado es suficiente para inseminar a más de una hembra, el empleo de diluyentes apropiados ha permitido la explotación al máximo de las posibilidades potenciales favorables de la inseminación artificial. (Salisbury y Vandemark, 1964).

En cuanto al grado de dilución recomendable no pueden darse normas generales, esto dependerá de la calidad del semen obtenido (Agraz, 1989).

Los métodos de dilución del esperma caprino, en su composición general son parecidos a los que se emplean en grandes rumiantes, aunque los zoospermos de aquella especie toleran mejor las condiciones de la dilución que en general se consigue con mayor facilidad (Pérez, 1966).

Después de la etapa de evaluación, considerando tener la muestra de semen de buena calidad, se prosigue la fase de dilución, la cual debe tener

concentración final para cada dosis, de aproximadamente 200 millones de espermatozoides por mililitro. En caso de no disponer de medios para determinar con eficacia tal concentración, se procede una dilución practica con una parte de semen para nueve de diluyente (1:9), esto es para 1.5 ml. de semen, se adicionan 13.5 ml. de diluyente, obteniéndose 15 ml. de semen diluido, cantidad suficiente para inseminar 30 hembras, ya que se utiliza 0.5 ml. de la solución para cada una (Ferreira y Pérez, 2001).

De acuerdo a Evans y Maxwell (1990) la dilución del semen se realiza por dos razones:

- A. **RAZONES TECNICAS:** la ventaja del uso de la inseminación artificial es que los sementales de gran valor pueden utilizarse para inseminar muchas mas hembras que las que podrían cubrir por monta natural. En la inseminación natural el macho cabrio deposita miles de millones de espermatozoides en la vagina de la hembra, de ese gran numero solamente unos 100-140 millones atraviesan el cervix, lo que garantiza un gran desperdicio de espermatozoides. En inseminación artificial cervical 100 millones de espermatozoides por dosis aseguran la fertilización, diluidos en 0.05-0.20 ml. si se utiliza semen sin diluir, este volumen contendría un numero de espermatozoides superior al limite mínimo de seguridad, lo que resultaría en un método poco económico.

- B. **RAZONES BIOLÓGICAS:** los diluyentes apropiados proporcionan a los espermatozoides nutrientes, sistema amortiguador a los cambios de PH y un ambiente isotónico. Además protegen a los espermatozoides del shock del enfriado y/o congelado.

CARACTERISTICAS GENERALES DEL DILUYENTE

Los diluyentes son sustancias que se agregan al eyaculado para conservar su fertilidad y con esa dilución se persigue:

- Añadir al semen sustancias nutritivas, protectoras y amortiguadoras.
- Aumentar el volumen y por lo tanto inseminar mayor número de hembras.
- Reducir el metabolismo de los espermatozoides al mínimo al descender la temperatura del semen diluido.
- Restringir el crecimiento microbiano mediante la adición de antibióticos (Valencia et al., 1986, citado por Padilla 1997).

SELECCIÓN DE DILUYENTE.

Un buen diluyente no debe ser tóxico para los espermatozoides, tener PH y presión osmótica compatibles con la sobrevivencia espermática; ser de bajo costo y de fácil preparación (Ferreira y Pérez, 2001).

Según Pérez (1966), las premisas fundamentales del diluyente es proteger a los zoospermos en relación a la muerte por anabiosis de hambre e intoxicación sucesiva por catabolitos tóxicos resultantes de su metabolismo.

Los diluyentes comúnmente usados para diluir semen del macho cabrio contiene TRIS (hidroximetilo amino metano) o citrato de sodio como buffers, glucosa o fructosa como fuente de energía y yema de huevo como protector al choque frío. La yema debe ser de huevo fresco, sin restos de albúmina ni membranas. Si el semen diluido va a ser congelado deberá contener un agente crió protector como el glicerol (Evans y Maxwell, 1990).

El descubrimiento del valor de la yema de huevo de gallina como medio de dilución (Phillips, 1938) ha desempeñado un papel trascendental en el rápido

desarrollo de la inseminación artificial en los últimos años (Salisbury y Vandemark, 1964).

Desde un principio muchos investigadores reconocieron la acción protectora de la yema de huevo fresco frente al choque térmico de los espermatozoides, hace poco se averiguó que esta acción se debe a su contenido de lipoproteínas y lecitinas. Este influjo protector se debe a que tales sustancias amparan la integridad de la cubierta lipoproteica del espermatozoide, la yema contiene igualmente glucosa que es utilizada por los espermatozoides con preferencia a la fructosa del propio semen (Salisbury y Vandemark, 1964).

En los diluyentes, la yema de huevo ayuda a proteger la membrana del espermatozoide contra el shock por frío. El dilutor destinado a incorporarse al semen del macho cabrio se agrega una cantidad menor de yema de huevo, para evitar que se ponga de manifiesto una reacción enzimática, pues el plasma seminal de esta especie contiene una enzima que coagula la yema de huevo. La concentración de la enzima es mayor cuando el semen se obtiene por electroeyaculación. El problema se puede resolver utilizando un medio que no contenga huevo (la leche por ejemplo), utilizando menor concentración de yema de huevo, descartando el plasma del semen por centrifugación, con lo que se eliminara la enzima (Evans y Maxwell, 1990).

La adición de sulfas, penicilina, estreptomycin y otros antibióticos eleva la fertilidad obtenida con semen refrigerado o a temperatura ambiente (Alba, 1985).

La selección del diluyente depende de la especie animal a trabajar debido a las características propias del semen. Su preparación debe hacerse en

un medio libre de contaminación, así, como el material empleado debe estar esterilizado.

Según Salisbury y Vandemark (1964) un diluyente debe cumplir con los siguientes requisitos:

- A. Proporcionar un equilibrio adecuado de elementos minerales esenciales para la vida de las células espermáticas.
- B. Aportar los nutrientes que precisan los zoospermos para su metabolismo aerobio y anaerobio.
- C. Suministrar lipoproteínas y/o lecitinas que protejan al espermatozoide del choque frío.
- D. Proveer sustancias químicas que tengan poder tampón sobre los productos finales del metabolismo citoespermático.
- E. Estar libres de sustancias, productos bacterianos o gérmenes infectivos que sean nocivos para los zoospermos, el aparato genital femenino, el proceso de fecundación y la implantación, así como el desarrollo del huevo fecundado.

TIPOS DE DILUYENTES

TRIS-YEMA-FRUCTOSA

El uso de Tris, del ácido cítrico, de la fructosa, de la yema de huevo, y del suplemento del glicerol (cuadro 3) ha permitido a la esperma del macho cabrio ser almacenado con éxito por varios años antes de ser utilizado en la inseminación cervical o laparoscopia (Amoah, 2001).

Cuadro 3. Diluyente Tris-Yema-Fructosa (Evans y Maxwell, 1990).

Tris (hidroximetil amino metano) (g)	3.634
Fructosa (g)	0.50
Acido cítrico (monohidratado) (g)	1.99
Yema de huevo (ml)	2.5 *
Agua destilada en vidrio c.s.p. (ml)	100
Glicerol	7
Penicilina	1000 UI
Estreptomicina	1000 mg

CITRATO-YEMA-GLUCOSA

La importancia del citrato sodico al agregarlo al diluyente radica en la obtención de una mejora de la vitalidad zoospermatoca, además, iguala el nivel de fertilidad observado en diluyentes con la presencia de fosfato. El citrato sodico es un agente quelante, que fija solidamente el calcio y otros iones metálicos, dispersa los glóbulos grasos de la yema, hasta el punto que pueden verse aisladamente los espermatozoides mediante el examen microscópico (Salisbury y Vandemark, 1964).

Se investiga mucho sobre la proporción de los ingredientes de dicho diluyente, los resultados han descrito una formula que se puede apreciar en el cuadro 4.

Cuadro 4. Diluyente Citrato-Yema-Glucosa (Evans y Maxwell, 1990).

Citrato sodico (2H ₂ O) (g)	2.37
Glucosa (g)	0.80
Yema de huevo (ml)	2.5 *

Agua destilada en vidrio c.s.p. (ml)	100
Glicerol %	7
Penicilina	1000 UI
Estreptomina	1000 mg

*cuando se utilicen estos medios sintéticos, para diluir el semen de macho cabrio, no ocurrirá la reacción de coagulación si la concentración de la yema de huevo no excede el 2 % después de diluida. Esto se debe considerar a la hora de hacer los cálculos de dilución del semen. Con las concentraciones indicadas en las tablas no habrá peligro siempre que no se diluya mas de 1+3 (semen +diluyente); si se precisa una mayor concentración se debe reducir la cantidad de yema de huevo.

Cuando se preparen los diluyentes indicados en los cuadros, las sustancias químicas deben pesarse en primer lugar y disolverse en una probeta de 100 ml adicionando 90-95 ml de agua destilada en vidrio. Adicionar luego la yema de huevo y llevarlo al volumen final con agua destilada en vidrio, el diluyente se mezcla moviendo la probeta hacia atrás y adelante, para obtener una buena distribución de la yema de huevo. Los huevos que se utilicen, para obtener la yema, no deben de tener más de 4-5 días. La cáscara del huevo debe ser lavada con agua caliente, después se pasa sobre ella una porción de algodón o papel empapado en alcohol y dejándola secar. Después de quebrar el huevo y separada la clara, la yema se sitúa sobre un papel filtro de tal forma que no se rompan sus membranas. Los restos de clara se pueden eliminar enrollando el papel sobre la yema, luego la yema se vierte sobre un vaso estéril mediante plegamiento y deslizado sobre el papel. Las membranas de la yema quedaran sobre el papel y se desechan. Antes de adicionarla al diluyente, la yema de huevo se debe batir con ayuda de una varilla de vidrio estéril. Los dos diluyentes indicados deben ser preparados recientemente cada día que se colecte semen y se insemine (Evans y Maxwell, 1990).

Posterior a los cálculos de dilución se procede a hacer la mezcla de semen al diluyente que contiene yema de huevo, de la siguiente manera:

- El diluyente total calculado se divide en dos partes iguales las cuales corresponden a las fracciones A y B.

FRACCION A: se adiciona al semen a la misma temperatura del diluyente (35 °C.)

- Posterior a esta mezcla, se procede a bajar la temperatura gradualmente a 5 °C. en un tiempo aproximado de 1.5 horas.

FRACCION B: La cual contiene el total del glicerol, se mezcla con la dilución anterior en dos partes iguales con intervalo de 15 minutos, ambas a 5°C, para así iniciar el tiempo de equilibracion (Evans y Maxwell, 1990).

LECHE ULTRAPASTEURIZADA

En condiciones de campo el diluyente de semen mas fácilmente accesible es la leche de vaca, se utiliza descremada y ultra pasteurizada, pues tiene la propiedad de conservarse mejor además, que puede utilizarse directamente como diluyente agregándole otras substancias (cuadro 5), solo basta abrir cada día un nuevo envase de leche. Se utiliza la leche descremada pues la grasa puede ocasionar una dificultad de visionar los espermatozoides al observarlos en el microscopio (Evans y Maxwell, 1990).

Según Evans y Maxwell (1990) cuando el diluyente se prepara con leche entera, los puntos a considerar son:

- A. Utilizar leche fresca, del mismo día en que se vaya a utilizar, procedente de una vaca sana.
- B. Observar las más críticas condiciones de higiene.
- C. Filtrar la leche a través de varias capas de gasa estéril dentro de un recipiente de vidrio limpio.

- D. Colocar el recipiente que contenga la leche en un baño de agua y calentar lentamente.
- E. Cuando comience a hervir el agua, dejar que la leche se caliente 8-10 minutos, tiempo en que la leche llegara a 92-95 ° C. no debe hervir la leche.
- F. Procurar que no penetre nada de agua dentro de la leche, lo mejor es cubrir la boca del recipiente con una lámina de aluminio.
- G. Después de 8-10 minutos de haber comenzado a hervir el agua, se debe enfriar la leche a 30 ° C. para emplearla como diluyente.
- H. Se aconseja eliminar la nata y grasa acumulada en la superficie de la leche al enfriarla.

Cuadro 5. Diluyente Leche Ultra Pasteurizada (Evans y Maxwell, 1990)

Leche ultra pasteurizada %	100
Glicerol %	7
Penicilina	1000 UI
Estreptomicina	1000 mg

Agraz (1989) también considera a la leche como un magnifico diluyente usándose pasteurizada y homogeneizada a 30 °C. En baño María durante 20 minutos, después se enfría, se filtra y se divide en dos porciones iguales: "A" y "B".

A la fracción A se agrega 20 % de glicerina neutra, mezclándose bien. El semen se diluye en la porción B, se enfría en agua durante 6 horas hasta 5°C.

Después ambas fracciones se unen lentamente en 30 minutos y se mantiene la mezcla 18 a 20 horas a 5 grados Celsius que corresponde al tiempo de equilibracion. Se envasa la muestra en ampolletas recubiertas de

silicio con tapones de hule, o en pajuelas de 0.25 o 0.50 ml. que contengan de 70 a 150×10^6 espermatozoides por dosis, se colocan estas en termos anchos con alcohol frío a 5 grados durante 6 horas; enseguida a -10 grados C., en un lapso de 45 minutos y luego a -15 grados C. en 5 minutos para pasar bruscamente a -79 grados C. estas muestras son fértiles durante tres meses.

DILUYENTE DE AGUA DE COCO

La tecnología del semen caprino posee obstáculos con relación a su congelación, proveniente de problemas generados por la interacción del plasma seminal con los fosfolípidos existentes en los diluyentes usualmente utilizados para el beneficio y la crió-preservación del contenido espermático.

El agua de coco por ser pobre en fosfolípidos, se presenta como un diluyente favorable, facilitando un excelente comportamiento del semen caprino, tanto in Vitro como in vivo.

El agua de coco presenta resultados satisfactorios con el semen diluido y enfriado a 4 °C. Sin embargo para su congelación los resultados no son favorables, pues la presencia de fosfolípidos es necesaria para la crió-preservación de las células espermáticas, habiendo la necesidad de añadir cierta cantidad de fosfolípidos después del lavado del plasma seminal, permitiendo una buena crió-preservación del material espermático, habilitando de esta forma el semen caprino tanto in Vitro como in vivo, después de la congelación.

La yema de huevo, por ser rica en fosfolípidos, protege los espermatozoides del choque térmico. Se justifica por lo tanto la adición de una pequeña proporción de yema de huevo al agua de coco.

Después de la colecta el semen es evaluado y enseguida se lava el material espermático con 50 ml de agua de coco natural y filtrada proveniente del fruto con 6 meses de maduración, 25 ml de citrato de sodio a 5% y 25 ml de agua destilada, en proporción de un volumen de semen por 9 de la solución. Procesándose la centrifugación del material durante 20 minutos a una velocidad de 550 rotaciones por minuto. Después de la centrifugación se extrae con una pipeta el sobre nadante añadiendo nuevo volumen de la solución de agua de coco en la misma proporción y se efectúa la segunda lavada (Ferreira y Pérez, 2001).

De acuerdo a Ferreira y Pérez (2001) la dilución se prepara de la siguiente manera:

- Se efectúa la primera dilución añadiendo el diluyente de agua de coco in natura, con 10% de yema de huevo a 0% de glicerol, en la proporción de un volumen de semen para 10 del diluyente.
- El enfriamiento del semen ocurre de forma progresiva en la refrigeradora donde permanece por 45 minutos dentro de un recipiente con agua hasta alcanzar los 4° C.
- A los 4° C se efectúa la glicerolización, utilizándose agua de coco in natura mas 10 % de yema y 14 % de glicerol.
- La glicerolización se realiza en tres etapas que cuenta con la adición a cada 5 minutos de una fracción del diluyente a 4 °C. doblando el volumen y reduciendo la concentración de la primera dilución por la mitad.

RESULTADOS EXPERIMENTALES DE DILUYENTES

Palomino, Camacho, Huanta y Falcón (2001) compararon dos dilutores para semen caprino “in Vitro” citrato-yema (A) y leche descremada-yema (B), se utilizo un factor de dilución de 1/6 de semen y dilutor respectivamente, los

parámetros para determinar la viabilidad espermática fueron motilidad masal (0-5) y motilidad progresiva (%) post-dilución, manteniéndose a una temperatura de 4°C. La solución B mostró viabilidad hasta 48 hrs. Post-dilución, mientras que la solución A demostró viabilidad espermática hasta las 96 hrs. Post-dilución con un 60 % de motilidad progresiva considerándose el mejor dilutor.

Hellemann (1997) utilizó los diluyentes tris (20 % yema de huevo, 6.4 % de glicerina) y el citrato de sodio (20 % de yema de huevo y 7 % de glicerina), las fracciones diluidas se envasaron en pajuelas de 0.25 ml. el periodo de adaptación fue de 3-4 hrs. a 5 °C antes de su congelación, la cual se realizó a 10 cm. sobre el nivel del nitrógeno líquido por 15 minutos, posteriormente se sumergió en nitrógeno y se almacenó por lo menos una semana. El parámetro a evaluar fue la motilidad al descongelar el semen. El índice de motilidad es significativamente inferior en las fracciones diluidas con citrato de sodio además, se registró alta proporción de flagelos espermáticos infectados. Las fracciones procesadas con diluyente tris dieron mejores resultados en la recuperación espermática del semen tras la congelación.

Tamayo (2005) evaluó tres diluyentes para semen refrigerado, leche descremada (LD), yema de huevo citrato (YHC) y leche ultra pasteurizada (LUHT), los parámetros a evaluar fueron motilidad individual progresiva (%) y normalidad acrosómica (AN). Se estudiaron las muestras a las 8 y 72 hrs. encontrando diferencias significativas. Los valores más elevados fueron para el diluyente YHC, por lo tanto es el más recomendado para conservar la viabilidad espermática del semen refrigerado a 5 °C.

En un experimento realizado con semen de machos cabrios de la raza Saanen, de 1-2 años de edad, se encontró que la motilidad después del lavado del semen era de 80 -90 % lo que indica que aun después de la centrifugación del semen los espermatozoides resultan bastante viables, el lavado es para

eliminar la enzima coaguladora de la yema de huevo. Se realizaron inseminaciones cervicales obteniéndose un 67 % de preñez con semen fresco y 53 % con semen congelado (Gacitua y Arav, 2005).

Roca, Carrizosa, Campos, La fuente, Vázquez y Martínez (1997) realizaron un experimento para evaluar la viabilidad y fertilidad de los espermatozoides del macho murciano-granadina, se utilizó el diluyente tris-yema de huevo y se refrigeró a 5 °C, el semen fue recogido por vagina artificial. El % de yema de huevo para espermatozoides “sucios” fue de 2% y para los espermatozoides “lavados” fue de 12%, se estudiaron las muestras a las 48 hrs. y se evaluaron motilidad progresiva e integridad del acrosoma obteniéndose mejores resultados en los espermatozoides sucios. Se realizó inseminación cervical con las muestras obteniéndose 73.5% de preñez con los espermatozoides sucios y 70.3% con los espermatozoides lavados.

Azawi, Al-Dahash y Juma (2003) compararon 50 muestras de semen caprino diluidas en 5 dilutores, citrato-yema de huevo (YC), fosfato-fructosa-yema de huevo (YFP), citrato-yema de huevo-glicina-fructosa (YGC), leche desnatada-yema de huevo (YSKM), tris-fructosa-yema de huevo (YTF). Se utilizó un índice de dilución de 1:10 de semen y diluyente respectivamente, se enfriaron las muestras a 4° C, se evaluaron a las 0, 24, 48, 72, 96 y 120 horas después de la dilución, los parámetros a evaluar fueron motilidad y espermatozoides dañados (%), los mejores resultados obtenidos se observaron por el diluyente YTF con una recuperación espermática de 21.7% a las 120 horas. Se concluye que el diluyente YTF puede utilizarse para preservar semen enfriado a 4° C.

Paulenz, Soltun, Adnoy, Andersen y Soderquist (2004) evaluaron el efecto de diversos diluyentes sin yema de huevo en la viabilidad del semen del macho cabrio almacenada a temperatura ambiente, se utilizaron 4 sementales

obteniéndose 5 eyaculados de cada uno, los diluyentes fueron : leche desnatada (milla), Laiciphos (lai), Solución de Beltsville (BTS) y Biociphos Plus (Bio-5 y Bio-20). El semen diluido fue almacenado a temperatura ambiente, excepto el Bio-5 que fue almacenado a 5 °C. La motilidad espermática y estado acrosomal fueron evaluados después de 3, 8, 12, 24 y 28 hrs. El mejor diluyente fueron los elaborados a base de leche especialmente el Laiciphos que conservo mayor motilidad e integridad acrosomal a las 28 hrs. conservado a 20 °C. No se registro motilidad alguna después de 3 hrs. de almacenaje en BTS. El almacenaje a 5 °C en Biociphos plus es mejor para la viabilidad espermática que el almacenaje a 20 °C.

Padilla (1997) evaluó 4 diluyentes para semen de ovino, Combinación de Leche y Yema Deshidratadas, Citrato, Leche y Solución Buffer de Sales Minerales, el parámetro de la evaluación fue la perdida de motilidad espermática post-descongelación. Se encontró que todos los diluyentes son estadísticamente diferentes, con una media de 42.26 %, 50.59 %, 55.59 % y 60.64 % en perdida de motilidad respectivamente. La superioridad en la respuesta post-descongelamiento para el diluyente Combinación de Leche y Yema deshidratadas cuyos componentes son leche en polvo y yema de huevo deshidratada lo tornan ideal para su uso en semen de carnero procesado.

¿Qué ES UN CRIOPROTECTOR?

Un crioprotector es una pequeña molécula que penetra fácilmente en el interior de las células y de esta forma, reduce el punto de congelación del agua. Algunos ejemplos son el glicerol (glicerina), el etileno glicerol y el dimetilsulfóxido (DMSO).

Conforme los tejidos se enfrían lentamente, el hielo se forma primero entre las células. Al crecer los cristales de hielo aumenta la concentración de

solutos en el líquido restante alrededor de ellos, causando la deshidratación osmótica entre las células. Si están presentes los crioprotectores el punto de congelación de la solución no congelada baja mas rápidamente, limitando la cantidad de hielo que se forma. En cuanto la temperatura es inferior a -40 °C. La concentración de crioprotector es tan alta en la solución no congelada restante, que el hielo deja de crecer, los espermatozoides sobreviven suspendidos en el líquido residual no congelado entre los cristales de hielo (Mazur, 1984).

Los espermatozoides al ser congelados, necesitan ser deshidratados parcialmente a fin de evitar la formación de cristales que lesionen las estructuras citoplasmáticas (Mazur, 1984), esta deshidratación se logra incorporando un aceite crioprotector al medio de congelación, en la congelación de espermatozoides se utilizan dos tipos de crioprotectores:

PERMEABLES O INTRACELULARES:

De bajo peso molecular, son el glicerol (G), dimetil sulfoxido (DMSO), 1-2 propanodiol etiloenglicol (EG), propilenglicol (PG), polietilenglicol (PEG), etanol y otros alcoholes, todos los compuestos deshidratan la célula penetrando a esta para ayudar a proteger el citoplasma (Miyake y Col., 1993).

IMPERMEABLES O EXTRACELULARES:

Son de alto peso molecular, son el polivinilpirrolidona (PVP), glucosa, fructosa, ficol de extrano sorbitol, sucrosa, lactosa, trealosa, rafinosa y otros azucares (Kuleshova, 1999). Estos compuestos extraen el agua libre intracelular utilizando la diferencia de presión osmótica sin penetrar la célula, son efectivos para preservar la funcionalidad y estructura de las membranas a baja actividad de agua.

Los crioprotectores previenen la deshidratación total y la degeneración proteica, causada por la congelación del agua intra y extracelular durante el proceso. Además, no deben ser tóxicos para el espermatozoide (Dochi y Col, 1990).

González (2005), realizó una investigación de crío preservación del espermatozoide caprino, se utilizó semen de 5 sementales maduros, las muestras fueron diluidas en un medio de tris-yema de huevo, se fraccionaron las muestras utilizándose diferentes crioprotectores, glicerol (7%), glicol etileno (7%) y dimetilformahido (3%), la congelación fue por exposición a vapores de nitrógeno líquido a 3 cm. por encima del nivel, por 15 minutos, al descongelar se evaluó motilidad, integridad de membranas plasmáticas y el acrosoma, el crioprotector que demostró mejores resultados fue el glicerol, seguido del glicol etileno.

Deka y Rao (2003) probaron los efectos del % de glicerol (4, 6.4 y 9) como crioprotector, se utilizaron 20 eyaculados, 4 de cada uno de los 5 sementales usados, el semen se recogió por medio de vagina artificial, el diluyente usado fue tris-yema-fructosa, el semen se envaso en pajuela francesa de 0.5 ml y congelo por exposición a vapores de nitrógeno líquido durante 10 minutos a 5 cm. del nivel del nitrógeno. Se almaceno 14 hrs. y la pajuela fue descongelada en agua a 37 °C. en 15 seg. Se evaluaron la motilidad progresiva del espermatozoide (PPM) y el porcentaje de acrosomas dañados (PDA). Los resultados arrojaron una mayor PPM y menor PDA en las muestras a las cuales se le incorporo 6.4 % de glicerol.

CALCULOS DE DILUCION

Para determinar el número de pajuelas que se pueden obtener de un eyaculado se determina la cantidad de espermatozoides viables que contenga

la muestra y se define la cantidad de ellos presentes en la pajilla, suficientes para asegurar la fertilización del ovulo.

Una vez evaluada la muestra de semen, se le agrega al semen una cantidad igual de diluyente con el fin de que el poder de fertilización no decline rápidamente después de la colección y de acuerdo a los resultados se procederá a hacer los cálculos de dilución para lo cual se consideran los siguientes parámetros: volumen, concentración y motilidad para determinar el numero de pajillas para así definir la cantidad de diluyente necesario para la muestra de semen a procesar (Guevara, 1994).

Tan pronto sea evaluada la muestra de semen y considerando los resultados obtenidos se procede a hacer los cálculos de dilución de la siguiente manera:

- Determinación del número de células o espermatozoides vivos.
Células vivas = volumen X concentración X % de motilidad.
- Determinación del número de pajillas.
Numero de pajillas = $\frac{\text{numero de células vivas}}{\text{Cantidad de espermatozoides /dosis}}$
- Determinación de la proporción del diluyente.
Cantidad de diluyente = numero de pajillas X volumen de pajilla (0.5 ml)

La concentración de espermatozoides por pajilla puede variar desde 30 hasta 400 millones según la especie que se trate (Evans y Maxwell, 1990).

PERIODO DE EQUILIBRACION O ESTABILIZACION

Este periodo es el tiempo que se designa al espermatozoide para que sea rodeado y/o penetrado por el crioprotector, este desaloja líquidos de la

célula evitando que se formen cristales de hielo al momento de la congelación, así se previene el daño celular por cristales de agua.

Deka y Rao (2003) probaron tiempos de estabilización en 20 eyaculados de sementales cabrios, los tiempos fueron 1, 3 y 5 horas, el semen fue diluido en tris-yema-fructosa-acido cítrico, con la presencia de glicerol al 6.4 %, se congelaron las pajuelas sometidas a vapores de nitrógeno líquido a 5 cm. sobre el nivel. Los resultados observados sugieren que el periodo de estabilización de 3 horas fue el más apropiado para la penetración del glicerol en la célula, como consecuencia menor índice de daños al espermatozoide y mayor recuperación espermática.

CONSERVACION DEL SEMEN DURANTE CORTO TIEMPO

El fundamento de conservar el semen es prolongar la capacidad de fertilización de los espermatozoides, al reducir o detener su movilidad y reacciones metabólicas. La conservación en estado líquido se efectúa a temperaturas de 5-15°C (Evans y Maxwell, 1990).

Este método consiste en enfriar el semen diluido desde 30 °C a 15 °C o, más frecuente a 5 °C. Manteniéndolo a esta temperatura hasta el momento de utilizarlo. El diluyente puede ser tris-yema-fructosa, citrato-yema-glucosa o leche de vaca (entera, en polvo, ultra pasteurizada), pues estos diluyentes le brindan protección al espermatozoide contra el posible shock de frío, durante el enfriamiento. Para evitar crecimiento bacteriano se deben adicionar 1.000 UI de penicilina sodica y 1 mg de sulfato de estreptomicina, por cada mililitro de diluyente (Evans y Maxwell, 1990).

Para el enfriamiento el semen se coloca en pajuelas de plástico (0.20 o 0.50 ml) previamente etiquetadas. El llenado se puede hacer mediante vacío

por un extremo de la pajuela que cierra cuando contacta al semen, el otro extremo se cierra ultrasonicamente, por calor o polvo de alcohol de polivinilo.

El enfriamiento de semen se puede hacer en frigorífico, el enfriamiento a 5 °C. se hace 1 y 2 horas, debiendo ser gradual el descenso de temperatura, una vez enfriado a 5 °C se debe conservar a esa temperatura todo el tiempo que dure su almacenaje.

El periodo máximo de almacenaje de semen conservado a 5 °C para inseminación cervical es de 48 horas, para inseminación intrauterina (laparoscopia) puede utilizarse hasta 6 días después de conservado el semen (Evans y Maxwell, 1990).

CONGELACION DE SEMEN

El semen se congela con nitrógeno líquido a una temperatura de -196 °C. Entonces quedan detenidas las reacciones metabólicas de los espermatozoides. Esto hace que se pueda conservar durante mucho tiempo y se asegure la disponibilidad de un semental en particular. También se facilita el transporte del semen, el semen se puede recoger y conservar en épocas distintas a la estación reproductora.

El semen del macho cabrio se puede congelar por un método muy rápido sometido a vapores de nitrógeno líquido o en bloques de hielo seco (dióxido de carbono sólido a -79°C). Cuando se utiliza el primero generalmente se congela en pajuelas de plástico, mientras que en el otro se deposita el semen en las oquedades de un bloque de hielo seco. Sea de una forma u otra el semen congelado se transfiere, luego, a tanques de nitrógeno líquido para su conservación (Evans y Maxwell, 1990).

Según Evans y Maxwell (1990) el proceso de congelación con nitrógeno líquido es el siguiente:

- A. Cuando se van a congelar las pajuelas se debe dejar un pequeño espacio de aire en ellas (en el extremo por donde se llena) para evitar que se rompa al congelarla.
- B. El semen debe tener una temperatura previa de 5°C y mantenerse a esa temperatura por 1.0 – 1.5 horas para que exista equilibrio entre el semen y el glicerol.
- C. Las pajuelas se colocan horizontalmente en una gradilla fría a 5°C que expone a los vapores del nitrógeno líquido (-80 a -100°C) a 3-4 centímetros por encima de la superficie (figura 6).
- D. Transcurridos 7-8 minutos las pajuelas con semen congelado se introducen en nitrógeno líquido (-196°C) y luego en gobelets de tamaño apropiado para colocarlas en la canastilla en el contenedor de nitrógeno.

Figura 6. Congelación del semen por exposición a vapores de Nitrógeno.
<http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd17/texto/coleccion.htm>



MANEJO Y CONSERVACION DE SEMEN CONGELADO

Cuando se maneje y se conserve semen congelado es importante que las pajuelas se mantengan en nitrógeno líquido (por encima de su nivel) en todo momento, a excepción de cuando se tenga que manejar una dosis. Se debe controlar el nivel que alcanza el nitrógeno líquido en el recipiente y en caso de necesidad se debe rellenar. Cuando se trasladen los contenedores que transportan las pajuelas, la operación deberá ser con extremo cuidado y rapidez para reducir al mínimo la exposición del semen a temperaturas elevadas (figura 7). Para facilitar el transporte de las pajuelas se deben colocar dentro de las canastillas del contenedor, cuando se eleve la canastilla para tomar el semen no deben extraerse completamente del contenedor, solo lo suficiente para superar la línea de congelación. Cualquier subida de temperatura del semen congelado puede afectar negativamente sobre su viabilidad (Evans y Maxwell, 1990).

Figura 7. Manejo de pajuelas en termos con Nitrógeno Líquido.
<http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulgaf/d17/texto/coleccion.htm>



Una consideración que se debe hacer cuando se haya conservado semen congelado durante un largo periodo de tiempo, es si se habrá afectado su viabilidad. El semen congelado del macho cabrio resulta satisfactorio a 3, 5, 7 y hasta 11 años en su poder de fertilización mediante Inseminación Artificial Cervical (Evans y Maxwell, 1990).

DESCONGELAMIENTO DE LAS PAJUELAS DE SEMEN

En 1972 se descubrió que el daño al acrosoma era menor si se descongelaban las pajuelas a mayor rapidez que la permitida en agua con hielo que se venia recomendando. Se ha demostrado que el descongelamiento rápido propicia la mayor recuperación de motilidad y fertilidad (Robbins, et al., 1976. Citado por De Alba, 1985).

La descongelación del semen es un punto muy crítico pues los espermatozoides se pueden lesionar si el proceso no es el adecuado. Como norma general cuanto mas rápido se congele el semen mas rápidamente se debe descongelar, a fin de tener una más rápida recuperación de los espermatozoides.

El semen del macho cabrio se debe descongelar a una temperatura no inferior a 37 °C. La descongelación a temperaturas superiores a 37 °C puede mejorar la recuperación de espermatozoides viables pero se corre el riesgo de exposición por encima del nivel crítico, lo cual resultaría fatal para las propias células, lo recomendable es la descongelación a 37 °C.

Se han diseñado varios tipos de aparatos para descongelar pajuelas de semen, pero en la práctica lo más normal es utilizar un baño de agua con termostato, inmediatamente después de descongelar colocar la pajuela en la pistola de inseminación (Evans y Maxwell, 1990).

Angulo, Ortiz, Berruecos, Fieldman, y Valencia, M, J. (1999); Compararon el efecto de 2 temperaturas y tiempos de descongelación sobre la motilidad y fertilidad del semen caprino, se utilizo el diluyente Tris-Yema-Fructosa, se congelo en pajillas francesas de 0.25 ml. se descongelaron dos grupos, uno en Baño Maria a 36 °C./8 seg. Y el segundo a 70 °C./4 seg. La motilidad al descongelar fueron 51.28 % y 47.98 % respectivamente. La fertilidad fue de 30.7 % y 29.2 % respectivamente.

Padilla (1997) encontró diferencias significativas entre las temperaturas de descongelamiento a 35 °C/30 seg. Y 75 °C./10 seg. En lo que respecta a perdida de motilidad post-descongelación del semen de carnero, 50.23 % Vs. 53.60 % respectivamente, no siendo significativa para 5 °C/15 min. (52.84 %) en relación a las otras dos temperaturas. Concluyo que la temperatura óptima es a 35 °C/30 seg.

Guevara (1994) comparo tres temperaturas de descongelación de semen de carnero, 32, 35 y 37 °C por 30 seg. No encontró diferencia significativa, por lo que se puede establecer un rango de temperatura de descongelación sin efecto aparente en el semen de carnero de 35 a 37 °C/30 seg.

Deka y Rao (2003); Estudiaron el efecto sobre motilidad espermática post-descongelamiento del semen de sementales cabrios, la temperatura fue de 37 °C. con tiempos de 12 y 15 seg. Los resultados demostraron una mayor recuperación espermática al descongelar con una temperatura de 37 °C/15 seg.

RESUMEN DE LOS PUNTOS IMPORTANTES IMPLICADOS EN LA CONGELACION, CONSERVACION Y DESCONGELACION DEL SEMEN.

- a) Asegurarse que todo el material así como las sustancias químicas estén perfectamente disponibles y en buenas condiciones. Todos los utensilios

que van a estar en contacto con el semen deberán estar limpios, secos y estériles.

- b) Controlar la temperatura (5°C) del frigorífico, de la cámara fría o del cubículo frío utilizado para refrigerar el diluyente del semen.
- c) Preparar el diluyente para la congelación. Colocar en una probeta graduada todos los constituyentes, exactamente pesados y disolverlos en agua que se haya destilado en material de vidrio. Adiciónense los antibióticos, el glicerol y la yema de huevo enrasándose hasta el volumen final con más agua. Colocar el diluyente en un baño de agua a 30°C antes de usarlo.
- d) Colocar los tubos de ensayo que contienen el semen recién colectado en el baño de agua. Una vez analizado, dilúyase debidamente antes de ser transferido a los viales estériles donde se vaya a conservar.
- e) Para congelar el semen en forma de pajuelas, llenar estas con el semen diluido, dejar un pequeño espacio de aire entre el tapón de cierre y el semen, para evitar que la pajuela se rompa durante la congelación. Cerrar las pajuelas y situarlas en el frigorífico o habitación fría.
- f) Controlar el ritmo de congelación mediante termómetro. Enfriar a 5°C. en 1.5 a 2.0 horas.
- g) Para congelar se someten las pajuelas a vapores de nitrógeno líquido, 3-4 cm. por encima del nivel de este. Después de 7-8 minutos se sitúan las pajuelas en el nitrógeno. Colocar las pajuelas en gobelets de plástico llenos de nitrógeno líquido y conservarlos en canastillas en el recipiente para su fácil acceso.
- h) Asegurarse que el nivel de nitrógeno este siempre por encima del nivel de las pajuelas. Comprobar este nivel cada 7-14 días y rellenar el tanque, en caso de necesidad.
- i) Tener la precaución de no exponer las pajuelas a temperaturas elevadas, particularmente cuando se trasladen de una a otra canastilla. Utilizar pinzas adecuadas a la hora de manejar el semen congelado.

- j) Utilizar guantes protectores para manejar el nitrógeno líquido.
- k) Para descongelar el semen de las pajuelas, colocar estas en un baño de agua a 37°C durante un minuto, secar las pajuelas, cortar el extremo de esta e inmediatamente situarla en la pistola de inseminar (Evans y Maxwell, 1990).

INSEMINACION ARTIFICIAL

La Inseminación Artificial constituye una técnica especial en la reproducción y mejoramiento de las especies domesticas, basadas en conocimientos científicos. El procedimiento consiste en obtener una muestra de semen de un semental probado de raza pura, diluirla en un número de dosis conveniente, hacer sobrevivir los espermatozoides por el mayor tiempo y depositar esta dosis en el tracto genital de las cabras en celo.

En México la inseminación artificial es accesible a todos los criadores debido a los honorarios moderados que se cobran por este servicio (Agraz, 1989).

VENTAJAS DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL (Agraz, 1989).

- a) El mejoramiento en masa de la ganadería de un país, en un plazo mas breve, al poder utilizar sementales probados de calidad superior y de registro, a costo razonable.
- b) La mayor importancia de este sistema radica en una selección más estricta entre los machos que se consideran poseedores de alto valor genético.
- c) Aumenta la eficacia reproductora por la prevención, control y erradicación de las enfermedades transmitidas por vía venérea.

- d) Ampliación del periodo de utilización del semental, por sufrir menos desgaste físico.
- e) Permite utilizar aquellos sementales que por su edad o incapacidad no pueden efectuar una monta.
- f) Amortización más rápida del costo de adquisición de los reproductores de mayor valor económico.
- g) Mayor aprovechamiento del semental por que uno solo puede fecundar hasta 300 hembras al año y más de 2400 en su vida reproductiva, lo cual no se lograría bajo condiciones naturales, ya que este mismo semental serviría solamente para cubrir 60 cabras por año y 480 en total.
- h) La recolección de semen se puede hacer diariamente por lo menos durante 6 meses, lo que no es práctico en los toros. Consecuentemente el criador de cabras, podrá utilizar a un determinado semental en cualquier momento mientras los criadores de ganado bovino, no siempre pueden obtener semen fresco de un toro en particular.
- i) Facilidad del envío de dosis de semen a grandes distancias conservando sus cualidades fertilizantes.
- j) Mayor uniformidad de tipo y homogeneidad de los descendientes de un prototipo establecido.
- k) Aumento en el valor y rendimiento de los rebaños en lo zootécnico y económico.
- l) Economía en el servicio, al alcance de todos los ganaderos, evitándose el tener que invertir grandes sumas en adquisiciones y mantenimiento de sementales.
- m) Evitar grandes pérdidas, pues no existe la necesidad de exponer a los sementales de pura raza o mejorados, de elevado precio, al riesgo de morir en las zonas tropicales y parasitadas.
- n) Permite lograr crías de mejor calidad en mayor número.

- o) Mayor control al utilizar un numero pequeño de reproductores sanos, con un control genético selecto, explotados racialmente para obtener el máximo rendimiento.
- p) Establece la posibilidad de una organización de servicios sociales, ya de cooperativa de criadores o de instituciones comerciales.

DESVENTAJAS

- a) Propagación de enfermedades por deficiencia técnica del inseminador.
- b) La fragilidad de los espermatozoides que necesitan un cuidadoso manejo, para que conserven su vitalidad total, cualidad necesaria para obtener un porcentaje mas elevado de concepciones.
- c) Cuando se emplean sementales no probados, ocasionara individuos no deseados en proporción mucho mayor que con la monta natural.
- d) La principal causa que frena la difusión de este sistema es el temperamento nervioso del genero capra, tanto en la recolección del semen como en la implantación del mismo, esto se confirma a través de los bajos índices de fertilidad (60%) en relación con otras especies, o sea, 240 a 300 cabras anuales por semental.

Las primeras tres limitaciones se previenen con técnicos especializados responsables, o recurriendo a una institución de reconocida seriedad, a la vez que llevando los controles y registros correspondientes. No así la cuarta que es característica de la especie caprina.

METODOS DE INSEMINACION ARTIFICIAL

INSEMINACION VAGINAL

Evans y Maxwell (1990) mencionan que la inseminación vaginal consiste

en la deposición del semen dentro de la vagina anterior sin intento de localizar el cervix.

La inseminación vaginal es el método mas simple y mas rápido cuando se utiliza semen fresco diluido, pero requiere una dosis de semen generalmente mayor que si se utiliza alguno de los otros métodos.

EQUIPO

El equipo utilizado para la inseminación vaginal esta formado simplemente por una pipeta de plástico rígido conectada a una jeringa de 1.0 ml.

TECNICA

Este método consiste en la deposición del semen dentro de la parte anterior de la vagina sin intentar localizar el cervix. En los países de habla inglesa se le conoce a este método, como método SID ((shot in the dark) esto es, disparar a oscuras.

La vulva de la hembra se debe limpiar con algodón para evitar la contaminación de la vagina al introducir la pipeta. Además se procura que la vagina este libre de orina para que no contamine el semen y altere su pH.

La pipeta se carga primero con un poco de aire, hasta la división 0.2 ml., y luego se carga con la dosis requerida de semen. El aire tiene la misión de ayudar a que se expulse toda la cantidad del semen contenida en la jeringa.

La pipeta se debe introducir, con sumo cuidado, lo más lejos posible en la vagina, deslizando su punta por la parte superior de esta, evitándose así su

introducción accidental en la uretra, que esta en el suelo de la vagina. Por lo general no se utiliza especulo, la introducción de la pipeta puede ser facilitada abriendo la vulva con la mano libre y tratando de mover de un lado a otro, con suavidad la pipeta para que penetre mejor, una vez en su sitio, se aprieta el embolo de la jeringa y se retira la pipeta. (Evans y Maxwell, 1990).

INSEMINACION CERVICAL

Pérez (1966) aclara que la Inseminación Cervical implica la deposición del semen a una profundidad de hasta 3 cm dentro del cervix. Si el cervix permite el paso de la pipeta, el método se transforma en inseminación intrauterina, no quirúrgica.

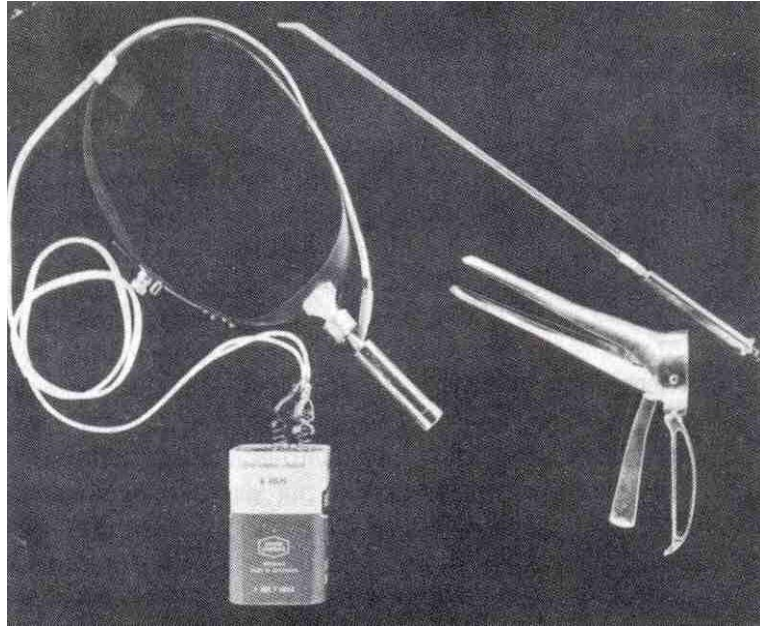
El método mas comúnmente usado en cabras es la inseminación cervical utilizando semen fresco diluido o sin diluir. El equipo necesario es simple y se pueden inseminar gran cantidad de animales en poco tiempo, cuando se practica correctamente el resultado es una alta fertilidad. (Evans y Maxwell, 1990).

EQUIPO

El equipo básico para la inseminación cervical consiste de una lámpara de cabeza, un especulo y una pipeta (figura 8). El especulo tipo pico de pato es preferible al tubular, ya que permite una mejor visibilidad y localización del cervix. Para la inseminación cervical se utilizan varios tipos de pipetas o pistolas de inseminación, pero las mas populares son las pipetas de plástico robusto aunque flexible, tienen 30 cm. de longitud y un diámetro interno de 2.5 mm., mientras que el externo es de 4.5 mm. Para utilizarla en ovejas la punta (1 cm.) esta ligeramente doblada en un ángulo de 30 °, para su uso en cabras no deben estar dobladas para la fácil penetración del cervix. El extremo opuesto se

conecta a una jeringa de 1.0 ml y una vez que se acciona solo puede liberar una dosis. (Evans y Maxwell, 1990).

Figura 8. Equipo para Inseminación Artificial Cervical (Tomado de Evans y Maxwell, 1990).



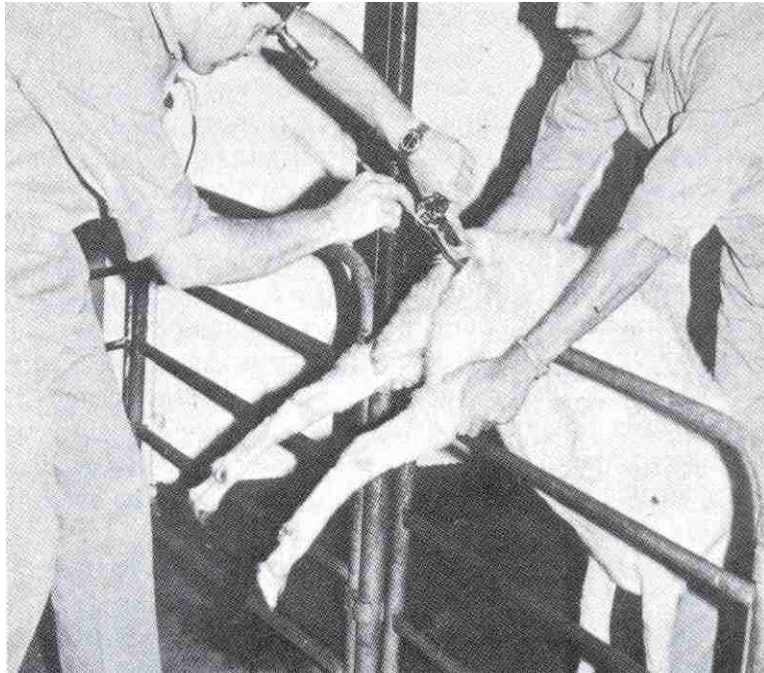
TECNICA

El método que permite una presentación mas conveniente para la inseminación cervical es el denominado “sobre la barra” como se aprecia en la figura 9, si en la vagina se observa cualquier material extraño (hierba por ejemplo) se elimina antes de la inseminación, cuando en la vagina se encuentre acumulado gran cantidad de mocus, o mas bien cuando este cubra la entrada al cervix, la vagina se limpia o se drena.

La pipeta de inseminación es cargada por un ayudante. Para realizar esto se tira el émbolo hasta marcar 2 ml. y luego se introduce la punta de la pipeta en el tubo inmerso en el baño a 30 °C que contiene el semen y se aspira la cantidad necesaria. El inseminador intentara introducir la pipeta lo mas

profundamente posible dentro del cervix, pero sin utilizar la fuerza, si la pipeta penetra el cervix el semen puede depositarse dentro del útero.

Figura 9. Posición correcta para la Inseminación Cervical (Tomado de Evans y Maxwell, 1990).



La posición y la forma de los pliegues de entrada del cervix varia considerablemente de unos animales a otros, en las cabras suele ser necesario introducir la pipeta como si se tratara de la rosca de un tornillo, si no hay resistencia la penetración de la pipeta suele ser muy fácil, pero también habrá que tener cuidado en estos casos, de no introducir demasiado la pipeta ya que podría lesionar la pared del útero (Evans y Maxwell, 1990).

PASOS A SEGUIR PARA LA I. A. VAGINAL Y CERVICAL

- a) Utilizar pipetas limpias, secas y estériles con bordes no cortantes.

- b) Conectar cada pipeta a jeringas de 1.0 ml. y asegurarse que la unión sea perfecta y que el embolo se deslice a la perfección.
- c) Preparar trocitos de algodón o papel para secar las pipetas.
- d) Preparar torundas de algodón para limpiar la vulva y el especulo entre cada inseminación.
- e) Para practicar la inseminación cervical, colocarse la lámpara en la cabeza y conectarla a la pila.
- f) Aspirar con la pipeta, 0.2 ml de aire y a continuación la cantidad requerida de semen, que se mantiene en el baño a 30 °C.
- g) Cuando la hembra se presenta para la inseminación preferiblemente sobre una barra para inseminarla cervicalmente o en posición de pie si se va a hacer por vía vaginal, se debe limpiar la vulva con una torunda de algodón.
- h) Introducir cuidadosamente el especulo dentro de la vagina de la hembra (10-13 cm.) y localizar el cervix.
- i) Observar el tipo y cantidad de mocus en la vagina y drenarlo en caso de necesidad.
- j) Introducir la pipeta lo más profundamente posible en el cerviz. Se puede hacer un movimiento de giro pero nunca se debe emplear la fuerza.
- k) Retirar el especulo ligeramente y presionar el embolo para expeler el semen.
- l) Retirar la pipeta y el espéculo de la vagina.
- m) Para inseminación vaginal introducir la pipeta a través de los labios de la vulva y llevarla hasta la vagina anterior. Empujar el émbolo para expeler el semen y retirar la pipeta.
- n) Limpiar la pipeta con algodón o papel. Asegurarse que este seca al reusarla. No reusar pipetas sucias o contaminadas.
- o) Limpiar el espéculo con algodón empapado en alcohol y secarlo antes de usar en la próxima hembra.

- p) Soltar a las hembras inseminadas en rediles tranquilos, tenerlas ahí unas 2-3 horas, después de inseminadas. Evitar en todo momento manipulaciones violentas y la presencia de perros agresivos (Evans y Maxwell, 1990).

INSEMINACION INTRAUTERINA (LAPAROSCOPIA)

Esta se puede realizar con semen fresco o congelado, este tipo de inseminación se realiza a veces, con el fin de transferir embriones de una hembra operada a otras hembras que han sido sincronizadas, este método de inseminación es el mas complicado puesto que implica una cirugía, en la cual se localiza el útero y se deposita el semen en los dos cuernos por medio de trocars.

EQUIPO

El equipo básico esta formado por un telescopio (preferiblemente de 7 mm), dos equipos de trocar-cánula, pipeta de inseminación (5 mm), fuente de luz, cable de fibra óptica, bomba de gas (dióxido de carbono o aire), un regulador y una línea de conducción de gas.

TECNICA

La técnica para realizar este tipo de inseminación es compleja por que se somete a una cirugía menor, en la cual los cuernos uterinos son localizados y se deposita el semen dentro de estos (Evans y Maxwell, 1990).

RESUMEN DE LOS PASOS PARA LA I. A. INTRAUTERINA POR LAPAROSCOPIA

- I. Asegurarse que las cabras no han comido ni bebido unas 12 horas antes.
- II. Utilizar pipetas de inseminación limpias, secas y estériles. Conectarlas a jeringas de 1.0 ml y asegurarse que los émbolos se deslizan suavemente. Antes de usarlas enjuagar las pipetas con solución salina fisiológica (0.9%) estéril.
- III. Colocar un recipiente con salina estéril en el baño de 30 °C para enjuagar y limpiar las pipetas. Secarlas con papel.
- IV. Conectar el telescopio a una fuente de luz, utilizando el cable de fibra óptica y comprobar que la iluminación es buena.
- V. Conectar el regulador de gas a la cánula de 7 mm, utilizando un tubo de plástico flexible o similar. Comprobar que haya suficiente cantidad de gas en la bomba y que el regulador funcione adecuadamente.
- VI. Colocar la cánula-trocar y el cuerpo del telescopio en una solución esterilizante.
- VII. Preparar a las cabras de la siguiente forma para inseminarlas:
 - Colocar la cabra en el carrillo y sujetar las patas.
 - Esquilar alrededor de la ubre y en la zona de la panza.
 - Limpiar y esterilizar la piel mediante jabón antiséptico y aplicar una solución antiséptica.
 - Inyectar anestésico local por vía subcutánea en cada uno de los dos sitios, 5-7 cm. anteriores a la ubre y 3-4 cm. a cada lado de la línea media.
 - Elevar el carrillo para que la cabeza de la cabra quede más baja, con un ángulo de 40 ° o más de la horizontal.
- VIII. Insertar cada cánula-trocar en la cavidad intraperitoneal a través de los lugares anestesiados, la de 7 mm por el lado izquierdo y la de 5 mm por el lado derecho.
- IX. Quitar el trocar del lado izquierdo (7mm) e introducir el telescopio en la cánula.

- X. Inflar la cavidad peritoneal con una pequeña cantidad de gas (200 psi, de presión). El flujo de gas se puede conectar y desconectar por el regulador de la bomba o por la válvula de la cánula.
- XI. Localizar el útero mediante el telescopio. Asegurarse que este en posición correcta para practicar la inseminación.
- XII. Enjuagar la pipeta de inseminación con salina estéril mantenida en el baño a 30 °C.
- XIII. Aspirar 0.3 ml de aire dentro de la pipeta y después el volumen necesario de semen, que se mantiene en el tubo de ensayo.
- XIV. Quitar el trocar derecho e insertar la pipeta en la cánula.
- XV. Atravesar con la punta de la pipeta la pared uterina y llevarla a la luz del cuerno izquierdo del útero.
- XVI. Presionar el émbolo de la jeringa para expeler el semen a través de la pipeta.
- XVII. Observar el flujo de semen por la pipeta. Reajustar la posición de la punta de la pipeta si el semen no fluye instantáneamente.
- XVIII. Quitar la pipeta de la cánula y repetir los pasos XII-XVII en el cuerno derecho del útero.
- XIX. Retirar todo el instrumental y dejarlo en la solución esterilizante. Antes de quitar la cánula del lado derecho se debe dejar que salga el gas de la cavidad abdominal.
- XX. Aplicar antibióticos en polvo o aerosol en las heridas. Si se prefiere aplicar por vía intramuscular.
- XXI. Soltar las cabras a un lugar donde estén tranquilas, por lo menos 2-3 horas después de inseminadas (Evans y Maxwell, 1990).

CONCLUSIONES

- Para la realización de este trabajo se recurrió a la recopilación de un gran número de publicaciones, periódicas, revistas, libros, etc. Donde prevalece la información adecuada acerca de la investigación sobre el tema.
- Se concluye de acuerdo a la información revisada que en México la Inseminación Artificial en cabras no ha tenido un amplio desarrollo debido a problemas como un rango muy bajo de concepción con el uso de semen congelado a comparación de la utilización de semen fresco.
- La Inseminación Artificial en México casi no se practica en zonas rurales, debido al poco conocimiento de esta por los productores, por lo general solo se realiza en universidades e instituciones que dependen de organismos federales.
- La mayoría de productores de pequeña o mediana producción no tienen acceso a esta tecnología, debido a la falta de personal capacitado para realizar una correcta inseminación por lo que se requiere de mayor participación de instituciones de investigación en zonas rurales.
- El uso de semen procesado nos da la oportunidad de obtener características genéticas de un semental que sería inaccesible a un pequeño productor.

LITERATURA CITADA

- Agraz, G. A. A. 1989. Caprinotecnia 2. Ed. Limusa. México.
- Amoah E. A. and Gelaye, S. Sin fecha. Biotechnological advances in goat reproduction Agricultural Research Station. Fort Valley State University, GA 31030-3298, USA. Journal, animal science.
- Angulo, M. R. B., Ortiz, H. A., Berruecos, V. J. M., Fieldman, S. D. y Valencia, M. J. 1999. Motilidad y Fertilidad del Semen del Macho Cabrio Descongelado a dos Diferentes Ritmos de Temperatura. Revista Veterinaria de México. U. N. A. M. México, D. F.
- Arbiza, A. S. I. 1986. Producción de Caprinos. Ed. A. G. T. Editor, S. A. México, D. F.
- Azawi, O. I., Al-Dahash, S. Y. A. y Juma, F. T. 2003. Effect of Different Diluents on Shami Goat Semen. Small Ruminant Research. Departament of Surgery and Obstetrics. College of Veterinary Medicine. University of Mosul. Mosul, Irak.
- Boeta, M. y Zarco, L. 1999. Utilización de Leche Descremada Ultrapasteurizada como Diluyente de Semen Refrigerado de Burro, Destinado a la Inseminación de Yeguas. Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. www.ejournal.unam.mx/vet_mex/vol31-01/RVM31110.pdf -

- Bonadonna, T. 1989. Reproducción Animal e Inseminación Artificial 2. Ed. Hemisferio Sur S. A. Buenos Aires, Argentina.
- Cantu, B. J. E. 1988. Zootecnia del Ganado Caprino. Copyright C. 1988. Torreón, Coahuila, México.
- Chauhan, M. S. y Anand, S. R. 2003. Effect of Egg Yolk Lipids on the Freezing of Goat Semen. Theriogenology Volume 35, Issue 5. Karnal, India.
- Cruz, D. G. 2004. Características del Semen de Machos Cabrios en Fecundación en los Días de Periodo de Monta. Tesis. U. A. A. A. N. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Cruz, T. A. A. 1990. Evaluación de Machos y Diluyentes para Semen Refrigerado en la Inseminación Artificial de Ovejas de Pelo. Tesis. CIGA-ITA 2. Condal, Yucatán.
- De Alba, J. 1985. Reproducción Animal. Ed. Copilco. México.
- Deka, B. C. y Rao, A. R. 2003. Effect of Glycerol Level in Tris-Basek Extender and Equilibration Period on Quality of Frozen Goat Semen. College of Veterinary Science. Tirupati, Andhra Pradesh, India.
- Derivaux, J. 1961. Fisiopatología de la Reproducción e Inseminación Artificial de los Animales Domésticos. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Evans, G. y Maxwell, W. M. C. 1990. Inseminación Artificial en Ovejas y Cabras. Ed. Acribia. España.

- Ferreira, N. J. y Pérez, F. D. R. 2001. Biotécnicas de la Reproducción Caprina y Ovina 1. Ed. Grafica y Editora. Fortaleza, Ceara, Brasil.
- Gacitua, H. y Arav A. 2005. Successful Pregnancies with Directional Freezing of Large Volume Buck Semen. Agricultural Research Organization. The Volcani Center, P. O. Box 6, Bet Dagan 50-250. Israel.
- Galina, H. C. 1989. Reproducción de Animales Domésticos. Ed. Limusa. México.
- Gall, C. 1987. Goat Production. Publisher by Academia Press Inc. Orlando, Florida.
- Gibbons, A. 2002. Inseminación Artificial con Semen Congelado en Cabras de Raza Angora. Revista Taurus C. T. 413. Año 4, No. 16. U.S.A.
- González, F. R. A. Sin fecha. Efecto de Crió preservación Usando Diferentes Técnicas de Congelación y Crioprotectores Sobre Parámetros Espermáticos e Integridad de Membranas del Espermatozoide Bovino. Tesis de Doctorado. Brasil.
- Guevara, J. E. 1994. Estudio Comparativo de 2 Diluyentes (Tris y Citrato de Sodio) en el Procesamiento de Semen de Carnero y su Efecto en la Temperatura y Tiempo de Descongelación. Tesis. U. A. A. A. N. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.
- Hellemann, C. 1997. Efecto de un Surfactante Sobre la Integridad de Espermatozoides Ovinos Crioconservados. Arch. Med. Vet. Volumen 29. Centro de Inseminación Artificial. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.

- http://crionica.org/modules.php?name=FAQ&myfaq=yes&id_cat=2&categories=T%C9CNICO+por+Alcor
- <http://groups.msn.com/r5arcss5t2fo6hbl3ev63dak44/semn.msnw>
- <http://www.ceniap.gov.ve/publica/divulga/fd17/texto/coleccion.htm>
- <http://www.chillan.udec.cl/boer/boer.html>
- http://www.engormix.com/s_articles_view.asp?AREA=POR&art=113
- http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301732X2002000200002&script=sci_arttext&lng=es
- http://www.uc.cl/sw_educ/prodanim/caracter/fi8.htm
- <http://www.visionveterinaria.com/articulos/119.htm>
- Jiménez, G. R. 1994. Inseminación Artificial en Cabras. Monografía. U. A. A. A. N. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.
- Leach, C. E. 1971. The Goat Owners' Serap Book. Ed. American Supply House. Columbia, Missouri, E. U. A.
- Mellizo, S. E. y Flores, M. E. 2004. Crió preservación de Semen Ovino en Perú. Revista Virtual Visión Veterinaria 4(1). Departamento de Producción Animal. Facultad de Zootecnia. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

- Memoria. 1998. XIII Reunión Nacional Sobre Caprinocultura. Universidad Autónoma de San Luís Potosí. Ed. Universitaria Potosina. San Luís Potosí, México.
- Padilla, G. L. E. 1997. Efecto del Tipo de Diluyente y Temperatura de Descongelamiento Sobre la Calidad del Semen Ovino Procesado. Tesis. U. A. A. N. Buenavista, Saltillo, Coahuila. México.
- Palomino, L., J. Camacho, W. Huanta y N. P. Falcón. 2001. Conservación de Semen Caprino en los Dilutores Citrato-Yema y Leche Descremada-Yema. Revista Veterinaria Volumen 12. Perú.
- Paulenz, H., Soltun, K., Adnoy, T., Andersen Berg, K. y Soderquist, L. 2005. Effect of Different Extender son Sperm Viability of Buck Semen Stored at Room Temperature. Department of Production Animal Clinical Sciences, Norwegian School of Veterinary Science, PO Box 8146, Dep. 0033. Oslo, Norway.
- Pérez, P. F. 1966. Reproducción e Inseminación Artificial Ganadera. Ed. Científico Médica. España.
- Quittet, E. 1978. La Cabra, Guía Practica para el Ganadero. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Rice, U. A. y Newcomb, A. F. 1956. Cría y mejora del Ganado. Ed. Hispano-Americana. México.
- Roca, J., Carrizosa, J. A., Campos, I., Lafuente, A., Vázquez, J. M. y Martínez, E. 1997. Viability and Fertility of Unwashed Murciano-Granadina Goat Spermatozoa Diluted in Tris-Egg Yolk Extender and

Stored At 5 °C. Veterinary Science. University of Murcia E-30071. Murcia, Spain.

- Salisbury, G. W. y Vandemark N. L. 1964. Fisiología de la Reproducción e Inseminación Artificial de los Bóvidos. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Silvestre, M. A., I. Salvador, J. P. Sánchez, y E. A. Gómez. 2004. Effect of Changing Female Stimulus on Intensive Semen Collection in Young Murciano-Granadina Male Goats. Journal Animal Science. 2004 82: 1641-1645. España.
- Sorensen, A. M. 1979. Animal Reproduction. Ed. McGraw-Hill Book Company. Texas, U. S. A.
- Turner, M. 1984. Goat Care a Complete Handbooks. Ed. McFarland & Company, Inc. Publisher. North Carolina. U. S. A.