

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS



**Adición de ácido glutámico sobre parámetros cinéticos y morfológicos en
semen refrigerado de ovino**

Por:

Fernando Cano Núñez

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México
Febrero 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Adición de ácido glutámico sobre parámetros cinéticos y morfológicos en semen refrigerado de ovino

Por:

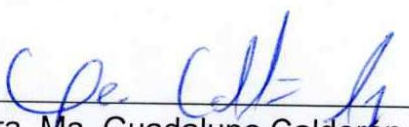
Fernando Cano Núñez

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:


Dra. Ma. Guadalupe Calderon Leyva
Presidente


Dr. Alan Sebastián Alvarado Espino
Vocal


Dr. Oscar Ángel García
Vocal


Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán
Vocal suplente


MC. José Luis Francisco Sandoval Elías
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Febrero 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Adición de ácido glutámico sobre parámetros cinéticos y morfológicos en semen
refrigerado de ovino

Por:

Fernando Cano Núñez

TESIS

Presentado como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dra. Ma. Guadalupe Calderón Leyva
Asesor Principal


Dr. Alan Sebastián Alvarado Espino
Coasesor


Dr. Oscar Ángel García
Coasesor


MC. José Luis Francisco Sandoval Elías
Coordinador de la División Regional de Ciencia Animal



Torreón, Coahuila, México
Febrero 2026

AGRADECIMIENTOS

A mi padre dios por permitirme llegar al termino de mis estudios, por sostener mi mano en todo momento y darme la oportunidad de lograr mi sueño.

A mis padres que sin su amor incondicional y su apoyo no hubiera llegado a este punto, para ellos que son mi guía y fortaleza, faltan las palabras para describir tan grande tesoro que dios me regalo.

A mi hermano mi gran amigo de la vida con el cual he pasado grandes momentos y me motiva a seguir adelante.

A mi familia, en especial a mi tío Eduardo por brindarme un hogar, darme su mano en todo momento y sus valiosos consejos.

A todos mis familiares sin omitir alguno que siempre estuvieron al pendiente de mí, por su cariño, por animarme, por compartir alegrías y tristezas y aun así seguir unidos.

A cada uno de los profesores que pusieron su granito de arena desde que yo era pequeño enseñándome las herramientas para salir adelante.

A mis buenos amigos que hicieron que el camino para llegar al termino de mi carrera fuera menos difícil, por su apoyo incondicional en todo momento.

A mi Alma Terra Mater Universidad Autónoma Agraria Unidad Laguna por formarme y darme las bases para mi desempeño profesional por hacer un lugar para mi dentro de sus instalaciones.

A la Dra. Ma. Guadalupe Calderón Leyva por permitirme realizar el presente trabajo de investigación, por su disposición y entrega de este.

DEDICATORIA

Al niño que soñaba con ser MVZ desde pequeño, el cual siempre tuvo la visión clara de lo que quería lograr, todo el esfuerzo es por ti por ver cumplido lo que anhelabas de la mano de Dios padre.

A mis padres porque no hay motivo de mayor satisfacción para mí que dedicar el esfuerzo realizado con la intención de verlos contentos y orgullosos.

A mi hermano, mi yo, en alguien más, por crecer contigo, siempre serás mi compañero.

A mi Abuelo Martin que en paz descanse por ser uno de mis más grandes ejemplos de vida porque en ti veía el amor hacia la vida del campo, el respeto y cariño que tenías a tus animales, por incentivar que creciera mi amor por ellos.

INDICE

AGRADECIMIENTOS	i
DEDICATORIA	ii
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Hipótesis.....	3
1.2 Objetivo	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Importancia de la ovinocultura	4
2.2. Reproducción en ovinos	5
2.2.1 Anatomía del aparato reproductor del macho.....	8
2.2.2 Espermatogénesis	11
2.2.3 Parámetros espermáticos	13
2.2.4 Aditivos para mejorar las características espermáticas	23
2.2.4.1 Antioxidantes.....	24
2.2.4.2 Aminoácidos en el plasma seminal	25
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
3.1 Lugar de estudio y animales experimentales	26
3.2 Evaluación antes y después de la dilución seminal.....	26
3.3 Evaluación de la motilidad espermática en el sistema CASA	27
3.4 Análisis estadístico.....	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
V. CONCLUSIONES.....	32
VI. LITERATURA CITADA	33

INDICE DE FIGURAS

Ilustración 1 Ciclo estacional de los animales estacionales (Recuperado de Boeta et al., 2018).....	7
Ilustración 2. Aparato reproductor del carnero (Recuperado de Gonzáles et al., 2021).....	11
Ilustración 3 Proceso de la espermatogénesis (Recuperado de Boeta et al., 2023).	12
Ilustración 4 Determinación del volumen del eyaculado (Recuperado de Cadena et al., 2023).	15
Ilustración 5 Clasificación de la movilidad masal por el vigor de los remolinos del semen (Recuperado de Cadena et al., 2023).	16
Ilustración 6. Parámetros cinéticos medidos por el programa CASA (Recuperado de Valverde et al., 2017)	19
Ilustración 7 Conteo en la cámara de Neubauer (Recuperado de Cadena et al., 2023).	21
Ilustración 8 Anormalidades primarias y secundarias (*) de los espermatozoides (Recuperado de Boeta et al., 2023).	22
Cuadro 1. Variables cinemáticas de semen de ovino en pre-congelacion (Adaptado de Singh et al., 2021).	20
Cuadro 2 Variables cinemáticas de semen de ovino en post-descongelacion (Adaptado de Singh et al., 2021).	20
Cuadro 3 Porcentaje de morfología espermática de semen ovino refrigerado adicionado con ácido glutámico	31
Grafica 1 Parámetros cinemáticos evaluados de semen de ovino refrigerado adicionado con (20 µl, AG 20), y sin ácido glutámico. ^{a=} literales iguales indican que no existe diferencia significativa (P>0.05)	30

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la adición de ácido glutámico sobre la cinética y morfología espermática del semen refrigerado de ovino. El estudio se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Torreón Coahuila México. (25.5° LN, 103.3° LO), dentro de las instalaciones de la posta zootécnica caprina y ovina. Se utilizaron dos ejemplares ovinos de la raza Dorper para obtener las muestras de semen, siendo recolectadas dos veces por semana durante tres meses a través de una vagina artificial. Se realizó una evaluación general de la muestra obtenida, para determinar calidad espermática, después de la misma se añadió un diluyente comercial (Optixcell); donde el volumen total diluido fue dividido en dos para obtener un testigo (TESTIGO=0) y otro con la adición de Ácido glutámico (AG=20 µl/ml) para realizar una segunda evaluación. Después de estas evaluaciones refrigeramos ambos grupos por un tiempo de 4 hrs a una temperatura de 5°C, al término del mismo evaluamos la cinética, por medio del sistema CASA Análisis de Semen Asistido por Computadora y la morfología con la adición de eosina nigrosina. Se utilizó un análisis de varianza del modelo lineal general (PROC GLM) apoyándonos de la prueba de Tukey para comparar las medias arrojadas, todo esto se realizó con el paquete estadístico SAS. 9.0. No se encontró diferencia significativa para ambos grupos ($p > 0.05$) mostrando porcentajes similares en cinética y morfología. La adición de 20 µl/ml de ácido glutámico no fue suficiente para mejorar la movilidad y alterar la morfología del semen refrigerado de carnero.

Palabras clave: Ácido glutámico, Carnero, Crio Preservación del semen, Antioxidante

ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the addition of glutamic acid on the kinetics and morphology of refrigerated ram semen. The study was conducted at the Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro, Torreón, Coahuila, Mexico (25.5° LN, 103.3° LO), within the goat and sheep farm. Two Dorper ram were used to obtain semen samples, which were collected twice a week for three months using an artificial vagina. A general evaluation of the sample obtained was performed to determine sperm quality. Afterwards, a commercial diluent (Optixcell) was added, and the total diluted volume was divided into two parts to obtain a Testigo (Testigo=0) and another with the addition of glutamic acid (AG=20 µl/ml) to perform a second evaluation. After these evaluations, we refrigerated both groups for 4 hours at a temperature of 5°C. At the end of this period, we evaluated the kinetics using the CASA Computer-Assisted Semen Analysis system and the morphology with the addition of eosin nigrosine. We used a general linear model analysis of variance (PROC GLM) supported by the Tukey test to compare the means obtained, all of which was performed with the SAS 9.0 statistical package. No significant difference was found for both groups ($p>0.05$), showing similar percentages in kinetics and morphology. The addition of 20 µl/ml glutamic acid was not sufficient to improve motility and alter the morphology of chilled ram semen.

Keywords: Glutamic acid, Ram, Semen cryopreservation, Antioxidant

I. INTRODUCCIÓN

Los ovinos forman parte de las especies de animales que son utilizadas por el ser humano, su producción está concentrada en pequeños y medianos productores, y la importancia económica recae en la comida típica mexicana como lo es la barbacoa (Bobadilla *et al.*, 2021). En México los principales productores de ovinos se concentran en el centro sur del país siendo estado de México el que destaca por proveer de grandes cantidades de ovinos para consumo humano representando un 15% de la oferta nacional (Calderón *et al.*, 2022).

Existen diversos tipos de producción de ovinos para carne en México y cada uno se desarrolla dependiendo de los siguientes factores: clima, capacidad económica de los productores y sobre todo la disponibilidad de recursos naturales (Hernández *et al.*, 2019), de esta manera se pueden identificar sistemas tecnificados donde se encuentra a los animales en completa estabulación con instalaciones diseñadas acorde a las necesidades de la producción (Hernández *et al.*, 2011), en este sistema se provee el alimento diariamente a los animales por medio de una ración alimenticia previamente diseñada para cubrir las necesidades fisiológicas del hato y se lleva un riguroso control de datos para eficientar el proceso (Galaviz *et al.*, 2011), por otro lado tenemos a los sistemas trashumantes y transterminantes lugar donde la producción se lleva a cabo en condiciones más precarias principalmente en pastoreo (Vélez *et al.*, 2016).

Otro aspecto relevante en la producción de los ovinos es la forma en que se presentan los sistemas de cría los cuales se desarrollan de la siguiente manera: 1.- empadre continuo y múltiple durante todo el año, 2.- monta directa y empadres programados 3.- empadres programados y la utilización de las diferentes biotecnologías reproductivas (González *et al.*, 2021).

En la actualidad se ha implementado el uso de las biotecnologías reproductivas entre las que se encuentran la inseminación artificial y transferencia de embriones con la finalidad de aumentar y mejorar el producto final, al desarrollar animales más productivos por la rápida diseminación de genes provenientes de sementales o

hembras donadoras sobresalientes incrementando las características deseadas (Velázquez, 2000).

Dentro de la inseminación artificial existen diferentes técnicas con las cuales se pretende que este procedimiento se realice de una manera eficiente desde la forma en la que se extrae el semen hasta la propia técnica de inseminación y posterior deposito del mismo en las hembras (Hafez y Hafez, 2000). Es por ello por lo que continuamente se realizan investigaciones y estudios para mejorar esta parte de las biotecnologías tal es el caso de la adición de ácido glutámico al semen, debido a que en los informes presentados tiene una capacidad protectora que ayuda a la supervivencia de los espermatozoides trayendo consigo que más células se encuentren viables al momento de la fecundación (Ugur *et al.*, 2020).

1.1 Hipótesis

La adición de ácido glutámico preservara las características cinéticas y morfológicas del semen refrigerado de ovino.

1.2 Objetivo

Evaluar la adición de ácido glutámico sobre la cinética y morfología espermática del semen refrigerado de ovino.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Importancia de la ovinocultura

La ovinocultura forma parte de las actividades ganaderas que se desarrollan a nivel nacional y mundial, la cual en conjunto con la cría y explotación de otras especies y en relación con los datos expresados por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, aportan aproximadamente el 40% de la producción agrícola sosteniendo los medios de vida de casi 1300 millones de personas (Hernández *et al.*, 2017).

Se reconoce en gran medida que la actividad de la ovinocultura representa una buena tasa de rentabilidad económica debido a que año con año se incrementa el inventario nacional de ovinos, esto debido a que aumenta su precio en pie haciendo que los productores oferten en mayor cantidad los animales y productos obtenidos de los mismos (Carrera y Carrera, 2013).

Dentro de los productos obtenidos de la cría de ganado ovino, la carne destinada al consumo humano es la más relevante en muchas partes del mundo siendo considerada una fuente importante de valiosos nutrientes entre los que destacan las vitaminas, proteínas, micronutrientes y micro minerales que son esenciales para un correcto desarrollo y crecimiento de la población (Hernández *et al.*, 2017).

Las personas consumen carne de ovino por cuestiones culturales y/o religiosas dependiendo del lugar donde son originarios, en países árabes la carne de ovino debe de provenir de lugares donde se certifique que su proceso fue realizado conforme a las reglas de Halal, por su parte, en México su consumo se ve mayormente en las regiones del sur donde el principal platillo típico es la barbacoa (Santoyo y Martínez, 2021).

Actualmente se conoce a México como un país en vías de desarrollo situación que enfrenta a la demanda insatisfecha de productos de origen animal que viene dada por el incremento de la tasa poblacional, disminución del poder adquisitivo de la sociedad y por el gran impacto que está teniendo el cambio climático en la forma de producción de animales (Carrera y Carrera, 2013).

Dentro de la producción ovina en particular se cuentan con datos de consumo de carne que van de forma exponencial a lo largo de los diferentes años, el consumo per cápita nacional paso de ser 467 g a 567 g de 1995 a 2019 encontrando que el consumo de carne obtuvo un crecimiento de 0.39% anual durante 50 años (Bobadilla *et al.*, 2021). Finalmente, a lo largo de estos últimos 25 años el consumo de carne de ovino oscila entre 500 y 950 g por persona (Guzmán *et al.*, 2023).

La producción de carne se concentra en tres continentes: Oceanía representando un 5% y 3% en países como Nueva Zelanda y Australia, Asia donde China aporta un 32% e India el 5% en este mismo se encuentra como mayor consumidor mundial de este producto con un 50% del mismo, finalmente el continente Europeo donde la Unión Europea aporta un 4% y Reino Unido un 2%. En Latinoamérica México es uno de los primeros productores con un 20.1% superado únicamente por Brasil con un 29% (Santoyo y Martínez, 2021).

2.2. Reproducción en ovinos

Los ovinos y caprinos son animales considerados por presentar un sistema de reproducción sexual caracterizada por la manifestación de varios ciclos estrales en una estación del año determinada, la cual es asociada a la mayor abundancia de pastos y forrajes disponibles para la supervivencia de las crías (Telesforo y Verano, 2024).

2.2.1 Estacionalidad reproductiva en ovejas

Se reconoce que dentro del reino animal existen especies que únicamente muestran receptividad sexual en un corto periodo de tiempo y por consiguiente solo pueden aparearse en ese lapso, tal es el caso de las ovejas y las cabras. La estacionalidad reproductiva surgió como un proceso de evolución en el cual se esperarí que las crías nacieran en condiciones idóneas para su desarrollo (Boeta *et al.*, 2018).

Para que la oveja sea receptiva al macho y por consiguiente albergar una gestación producto de la unión de ambos gametos, juegan un rol importante estructuras anatómicas, la cual a su vez ejercen su actividad principalmente por hormonas que

actúan como mensajeros químicos liberados de manera intencional para inhibir o incrementar la función de un órgano o célula diana (Telesforo y Verano, 2024).

Es importante conocer el tiempo de gestación de las ovejas el cual es de 5 meses debido a que si se requiere que las crías nazcan en primavera la hembra debe de quedar gestante en el otoño cuando son los días cortos, siendo el momento donde se activan las diversas hormonas encargadas de la reproducción, dando origen a otro concepto conocido como fotoperiodo (Boeta *et al.*, 2018).

2.2.2 Estacionalidad reproductiva en carneros

En los carneros la estacionalidad es muy diferente a la de las ovejas debido que se observan cambios reproductivos meses antes (1.5-2 meses) (Nuñez *et al.*, 2013). Cuando existe el cambio de días largos a cortos se estimula la liberación de gonadotrofinas aumentando las hormonas de FSH y LH (Hafez y Hafez, 2000), se reconoce que cuando existe un pico de LH se incrementa la testosterona y al aumentar esta última realiza una retroacción positiva incrementando nuevamente la LH como resultado a este proceso se da un incremento testicular y epididimario con el consecuente aumento de espermatozoides 2 a 3 semanas posteriores al cambio de horas luz (Nuñez *et al.*, 2013).

Fotoperiodo

Una de las principales hormonas implicadas en el proceso de la reproducción de los ovinos es la melatonina la cual es liberada por medio de un estímulo de percepción de las horas luz/oscuridad captada por el órgano visual que actúa como señalizador a través del nervio óptico hacia la glándula pineal (Galina, 2008). De esta manera a menor horas luz percibidas se incrementa la liberación de melatonina que como actividad principal ejercerá su efecto a nivel de eje reproductivo neuroendocrino activando a las demás hormonas (GnRH) para iniciar un efecto de cascada y a su vez generar la activación del eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal (Telesforo y Verano, 2024).

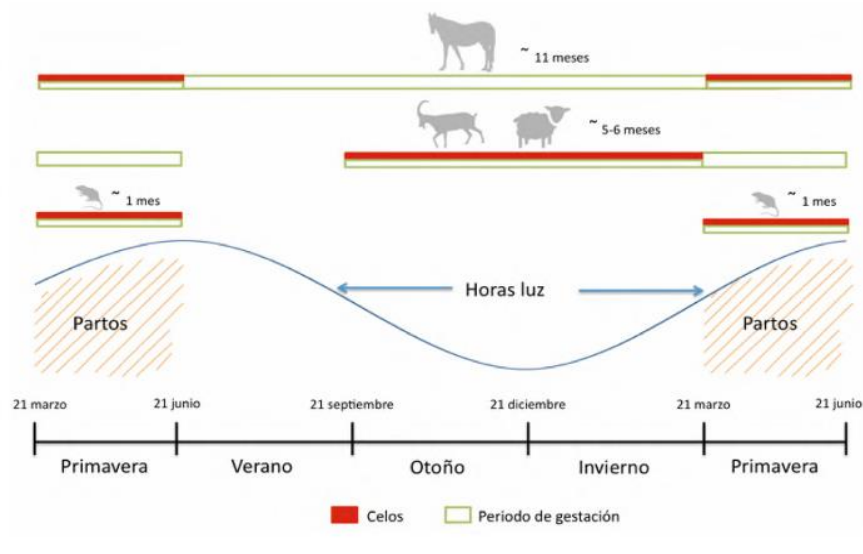


Ilustración 1 Ciclo estacional de los animales estacionales (*Recuperado de Boeta et al., 2018*).

Ciclo estral

Es conveniente definir al ciclo estral como el periodo de tiempo que comprende desde la aparición de un estro hasta el comienzo del siguiente (Boeta *et al.*, 2018). La duración de este ciclo es de 17 días donde las hembras empiezan a ciclar a mediados del verano y se mantendrán ciclando de manera continua hasta mediados de invierno (Nuñez *et al.*, 2013).

Para objeto de estudio se toma que el ciclo estral conformado por varias fases, propiamente conocidas como proestro, estro, metaestro y diestro las cuales tienen un tiempo específico en el que entran en función diversas hormonas tanto estimulantes como inhibitoras (Telesforo y Verano, 2024).

El proestro es la fase antecesora al estro donde principalmente se ve influenciada por la caída abrupta de progesterona producida por el cuerpo lúteo, al iniciar su regresión deja de producirla desbloqueando la actividad de la GnRH a nivel hipotalámico, a nivel ovárico ya existe un crecimiento folicular que está a disposición de las concentraciones de FSH y LH (Boeta *et al.*, 2018).

El estro se considera como la fase de receptividad sexual momento en que la hembra acepta la monta y copula del macho, fase también en la cual se da la ovulación. Estas dos fases en conjunto también son conocidas como la fase folicular del ciclo estral (Telesforo y Verano, 2024).

El metaestro forma parte de la tercera fase del ciclo estral y es donde la hembra ya no acepta la monta o no está receptiva al macho, también incrementan los niveles de FSH por la caída de estradiol y de inhibina iniciando de esta manera la primera onda folicular, finalmente concluye cuando se inicia un proceso de cicatrización en la cavidad del cuerpo hemorrágico esta cicatriz recibe el nombre de cuerpo albicans (Boeta *et al.*, 2018).

Por último, encontramos al diestro donde el cuerpo albicans es transformado a un cuerpo lúteo funcional el cual proveerá de la secreción de progesterona que servirá para inhibir la presentación de otro ciclo estral al existir el reconocimiento fetal y albergar el producto hasta el término de su desarrollo y expulsión terminando con el trabajo de reproducción y perpetuación de la especie (Atuesta y Gonella, 2011).

2.2.1 Anatomía del aparato reproductor del macho

El conocimiento de la anatomía animal nos ayuda a reconocer posibles patologías que se llegaran a presentar, reconociendo la importancia de cada órgano en cuanto a su función reproductiva, y de esta manera actuar de forma oportuna para corregir problemas o elevar la producción animal (González *et al.*, 2021).

Testículos

Las gónadas principales masculinas constan de un par de testículos donde se ejercen funciones exocrinas como la producción de espermatozoides y funciones endocrinas produciendo hormonas esteroides (Hafez y Hafez, 2000). Para su estudio anatómico los podemos dividir en áreas macroscópicas donde encontramos a la túnica albugínea la cual protege ambos testículos en la parte exterior de los mismos y cuenta con proyecciones hacia dentro de estos mismos para dar sostén al parénquima donde emergerán los túbulos seminíferos lugar donde se empiezan a generar los espermatozoides (Galina, 2008).

Continuamente observamos otra capa de tejido conectivo denominada túnica vaginalis o de Dartos; la posición de los testículos es pendulosa en relación con la región inguinal para mantener esta posición los testículos cuentan con dos estructuras el musculo cremáster y el cordón espermático este último forma una compleja red de vasos sanguíneos y algunos nervios (González *et al.*, 2021).

Todas las estructuras antes mencionadas están cubiertas por el escroto el cual además de protegerlos tiene funciones en conjunto con el musculo cremáster y el plexo pampiniforme al subir o descender ambos testículos, en relación con la temperatura ambiental y la del propio cuerpo dicha función evita que no se vea afectada la espermatogénesis, debido a que la producción de espermatozoides se detiene o falla si sube o baja 2°C la temperatura (Galina, 2008).

Las áreas microscópicas de los testículos son los túbulos seminíferos los cuales a su vez cuentan con células de Sertoli, células de Leydig, la rete testis, todas estas estructuras son las que dan lugar a la gran producción de espermatozoides que una vez terminado su proceso van recorriendo las demás estructuras antes mencionadas hasta terminar en el eyaculado del semen (González *et al.*, 2021).

Epidídimo

Estructura adyacente a los testículos de forma tubular, lugar donde se almacenan y maduran los espermatozoides, compuesto por tres fracciones cuerpo, cabeza y cola, contiguamente se localiza el conducto deferente el cual pasa por la red de vasos sanguíneos llamado plexo pampiniforme (Boeta *et al.*, 2018), la porción final del epidídimo se conoce con el nombre de ámpulas o ampollas deferentes (Galina, 2008) se forman por un engrosamiento de la mucosa pero no se conoce sus funciones (Boeta *et al.*, 2018).

Glándulas accesorias

- Vesículas seminales, son estructuras pares localizadas en la zona pélvica poseen una forma multilobular su función consiste en aportar al eyaculado una secreción la cual en el caso de los carneros se sabe que el volumen

proporcionado por estas vesículas es aproximadamente del 7 al 8% (Galina, 2008).

- Próstata, se conocen dos tipos para el caso de la especie en estudio que son los carneros es denominada como diseminada, está ubicada en el cuello de la vejiga y el principio de la uretra (Gonzáles *et al.*, 2021). Su secreción conforma el eyaculado en un 4-6% (Galina, 2008).
- Glándulas bulbouretrales o de Cowper, localizadas en la uretra pélvica glándulas pares (Boeta *et al.*, 2018). Tienen forma compacta en forma de nuez, la secreción de estas glándulas no conforma el eyaculado debido a que su función únicamente es limpiar la uretra y prepararla para el paso de los espermatozoides (Galina, 2008).

Pene

Órgano que cuenta con la función de expulsar la orina y de copula, está compuesto por tres secciones denominadas como base, cuerpo y glande. El cuerpo a su vez está conformado por tres porciones de músculos uno ventralmente conocido como cuerpo esponjoso en el cual se sitúa la uretra peneana y dos dorsalmente los cuerpos cavernosos (Boeta *et al.*, 2018). El pene de los carneros es de tipo fibroelástico presentando una flexura sigmoidea que sirve para darle extensión al momento de la erección, la porción de la uretra se continua más allá del glande formando el proceso suburetral (Gonzáles *et al.*, 2021).

Prepucio

Su función es proteger al pene, consta de dos partes una interna y otra externa conformado por tejido epitelial y mucosa, posee un orificio para la salida de orina y del pene propiamente dicho (Boeta *et al.*, 2018).

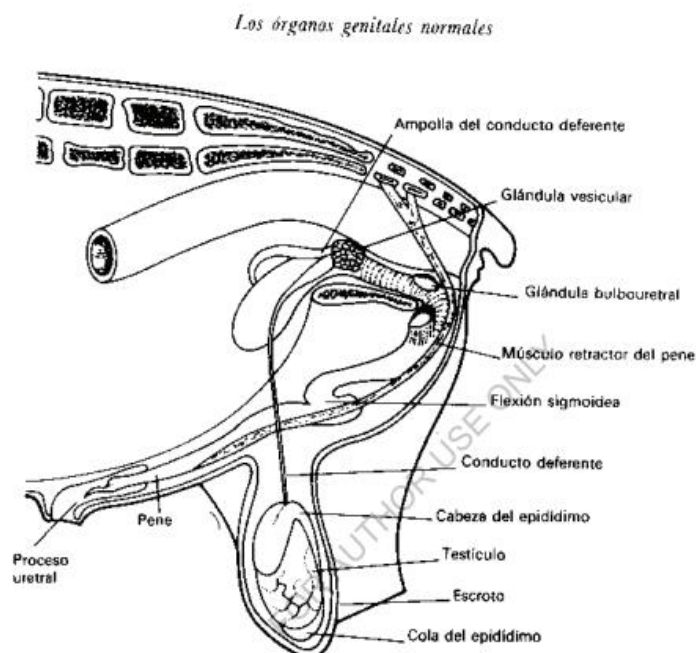


Ilustración 2. Aparato reproductor del carnero (*Recuperado de Gonzáles et al., 2021*).

2.2.2 Espermatogénesis

A el proceso mediante el cual se producen los gametos masculinos denominados también como espermatozoides se le conoce con el nombre de espermatogénesis (Boeta *et al.*, 2023). Para realizar este proceso se cuenta con un complejo conjunto de células ubicadas en el interior de los testículos germinales y las somáticas estas células se organizan en los túbulos seminíferos el cual a su vez está conformado internamente por células de Sertoli y en su exterior por células de Leydig (Hafez y Hafez, 2000). Hay otro tipo de células de gran importancia localizadas entre la membrana basal del túbulo seminífero y las células de Sertoli denominadas como A0 o espermatogonias de reserva (Boeta *et al.*, 2023).

La producción espermática se realiza en los túbulos seminíferos una vez realizado este proceso existe una comunicación con la rete testis, la que a su vez se comunica con el epidídimo para iniciar un proceso de maduración espermática, enviando posteriormente a los espermatozoides a las glándulas accesorias obteniendo una mezcla entre líquido seminal y espermatozoides formando el eyaculado (Gonzáles *et al.*, 2021).

Para dar generación a los espermatozoides presentes en el eyaculado las espermatogonias de reserva periódicamente se van dividiendo de manera mitótica (Hafez y Hafez, 2000). Con la finalidad de formar espermatocitos primarios, para continuar sufren dos divisiones entran en una fase de meiosis donde el número total de cromosomas se reduce y para finalizar se da el cambio de forma o espermiogénesis para encontrarse como espermatozoides propiamente dichos (Boeta *et al.*, 2023).

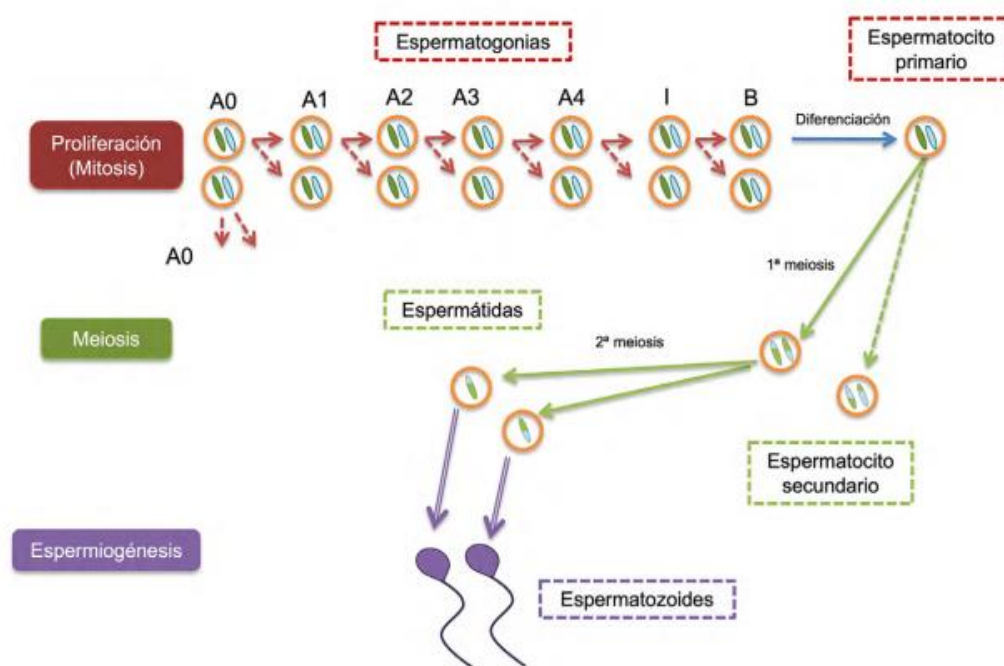


Ilustración 3 Proceso de la espermatogénesis (Recuperado de Boeta *et al.*, 2023).

Alteraciones de la espermatogénesis

Fisiológicamente la espermatogénesis requiere de una cierta temperatura ideal para la creación de nuevas células espermáticas dicha función se ve afectada si los testículos toman la temperatura corporal del animal, para ello el cordón espermático y el musculo cremáster ejercen su función al elevar y descender los testículos ante cambios en la temperatura (Gonzáles *et al.*, 2021).

2.2.3 Parámetros espermáticos

Uno de los factores importantes para obtener éxito en la aplicación de las biotecnologías reproductivas aplicadas a los ovinos específicamente la inseminación artificial, consiste en obtener un semen en el cual los espermatozoides tengan la capacidad de fecundar un ovocito (Cadena *et al.*, 2023).

Existen pruebas como la viabilidad espermática en la cual se puede llegar a utilizar diferentes tinciones como es el caso de eosina-nigrosina cuya finalidad es agregar en conjunto a la muestra obtenida y que al momento de hacer reacción nos evidencie aquellas células que están dañadas, de esta manera obtenemos que las células que se tiñen están dañadas y células que no llegan a teñirse están viables (Boeta *et al.*, 2023).

La finalidad es obtener información relevante del eyaculado la cual nos ayudara en la planificación de dosis por animal y las expectativas de ingresos al poner a la venta el semen obtenido (Cadena *et al.*, 2023).

Volumen: importante conocer la cantidad debido a que de ello depende la dilución que podamos utilizar para el semen de carnero es normal obtener una muestra de 1 ml con rangos de los 0.7 a 3 ml (Cueto *et al.*, 2016).

Concentración: este parámetro varía dependiendo las veces en que se haga eyacular al carnero, así como de la actividad sexual, es importante para determinar la cantidad de millones de espermatozoides que tendrán las pajillas y la cantidad aceptable es de 2.5×10^9 - 6×10^9 (Gil *et al.*, 2002).

Motilidad masal: utilizada en rumiantes por la alta concentración que se presenta en el eyaculado por ser de poco volumen en comparación con las demás especies, este valor esta dado por el movimiento individual y la concentración, se utiliza un a escala del 0 al 5 donde del 3 al 5 se considera un buen eyaculado para su posterior uso en la inseminación artificial (Boeta *et al.*, 2018).

Motilidad individual: Se valora en base a escala previamente definidas con la finalidad de que al momento de descongelamiento del semen o en su contraparte en inseminación con semen fresco exista una alta capacidad de desplazamiento de

los espermatozoides en general se opta por dar uno de los siguientes criterios excelentes más de 80 %, bueno de 60 a 80 %, regular de 60 a 40 % y malo menos de 40 % (Palacios y González, 2012).

Viabilidad espermática: Determinada al momento de obtención de la muestra y tras su posterior descongelación se reconoce que en las técnicas de criopresevacion del semen este mismo sufre daños irreversibles entre un 50 a 60% por los cambios de temperatura impidiendo que el espermatozoide conserve su estructura ideal para los sucesos posteriores que acontecen (Galina, 2008).

2.2.3.1 Evaluación macroscópica del semen

Color: En esta evaluación el semen se inspecciona visualmente, se conoce que el color normal va de blanco a cremoso pálido y la desviación de este a otro color evidencia problemas en cuanto a la toma del eyaculado o a la presencia de afecciones internas en el tracto reproductor (Ramírez, 2022).

Volumen del eyaculado: Su evaluación tiene una relación directa con la capacidad del macho de producir espermatozoides (Cadena *et al*, 2023). El volumen del semen ovino que fue obtenido manualmente por medio de una vagina artificial es de 1 ml por eyaculado (Ramírez, 2022). Para determinar este volumen se utiliza un tubo colector graduado donde después de la monta y el eyaculado se observa de una manera directa el volumen obtenido (Cadena *et al.*, 2023). El volumen tendrá sus variaciones debido a diversos factores como lo son la condición corporal, la edad, capacidad de la monta y estado nutricional (Ramírez, 2022).



Ilustración 4 Determinación del volumen del eyaculado (*Recuperado de Cadena et al., 2023*).

Densidad: Se hace de uso para especular de manera subjetiva la concentración espermática en una muestra de eyaculado obtenida. Se clasifica en acuoso, lechoso, lechoso-cremoso y cremoso, entre más denso sea más es la cantidad de espermatozoides por ml (Ramírez, 2022).

2.2.3.2 Evaluación microscópica del semen

Motilidad masal: Como su nombre lo indica en esta prueba se evalúa la movilidad en conjunto de una muestra obtenida del eyaculado a través del microscopio (Cadena *et al.*, 2023).

Para realizar este proceso se toma una gota aproximadamente de 10 μ l semen y se deposita en una laminilla portaobjetos posteriormente con la ayuda del microscopio a una resolución de 40x procedemos a evaluar (Ramírez, 2022). Para determinar el grado de motilidad nos basaremos en la formación de remolinos que se generan por el movimiento y se asignará una calificación del 0 al 5 donde el inicio 0 indicará la ausencia de los remolinos y el numero 5 corresponderá a la observación de remolinos sumamente sinérgicos (Cadena *et al.*, 2023).

Clasificación	Aspectos de movimiento
0	Inmovilidad total
1	Movimiento individual
2	Movimiento muy lento
3	Movimiento lento, con amplitud en las ondas
4	Ondas con movimiento rápido, no olas
5	Ondas con movimiento rápido, olas presentes

Ilustración 5 Clasificación de la movilidad masal por el vigor de los remolinos del semen (*Recuperado de Cadena et al., 2023*).

Motilidad individual: En esta prueba se observa y se califica la velocidad que tiene la célula espermática de forma individual, pues está relacionado con la facilidad de desplazamiento que tiene para avanzar hacia adelante para llegar al sitio donde ocurrirá la fecundación (Cadena *et al.*, 2023). De igual manera para su realización se toma una gota aproximadamente de 10 μ l semen colocamos en una laminilla portaobjetos la cual estará a una temperatura de 37°C, sobre la gota del semen ponemos un cubreobjetos y procedemos a observar al microscopio a una resolución de 40x (Ramírez, 2022). Como existe una alta cantidad de espermatozoides en la muestra la prueba debe realizarse con semen diluido para facilitar la observación individual, una de las soluciones recomendadas para la dilución es citrato de sodio 98 mM es importante realizar la prueba sin mucho tiempo trascurrida la recolección para evitar que el semen se reseque tanto por el ambiente y el calor del microscopio (Cadena *et al.*, 2023).

Se busca que los espermatozoides muestren un desplazamiento activo, enérgico y de forma rectilínea (Ramírez, 2022). Para calificar esta prueba se obtiene un parámetro que va del 0 al 100%, donde 0 indica un movimiento nulo y el 100 una excelente motilidad individual (Cadena *et al.*, 2023).

Motilidad evaluada con el sistema CASA

La motilidad espermática total y progresiva se considera dos de los predictores de fertilidad más precisos, pero existen muchos otros factores que pueden influir en los resultados generales de las muestras. Para superar estas limitaciones, a mediados de la década de 1980 se desarrolló la tecnología de análisis de semen asistido por computadora (Valverde *et al.*, 2019).

El sistema CASA denominada así por su nombre proveniente del inglés (Computer Assisted Sperm Anaysis) está conformado por diferentes partes interdependientes entre las que destacan un microscopio de contraste de fases que permite observar a los espermatozoides de color blanco (Valverde, 2021) y un monitor con ordenador donde se analiza y se determina el recorrido individual de cada espermatozoide en esa fracción de segundo por medio de fotografías (Muiño, 2008).

El objetivo principal de las mediciones del CASA en reproducción animal es obtener el mayor número de dosis de cada eyaculado y tener un número suficiente de espermatozoides de buena calidad que garantizaran la preñez de la hembra inseminada (Valverde *et al.*, 2019).

Para realizar el cálculo de movilidad espermática del eyaculado este tipo de programas contiene una serie de parámetros (Muiño, 2008) en los cuales, para obtener un resultado, se toman diferentes fotografías de manera sucesiva con la finalidad de identificar la trayectoria del espermatozoide (Barquero *et al.*, 2021).

Parámetros utilizados por el programa CASA para determinar motilidad:

Motilidad progresiva: porcentaje de células espermáticas que muestran un movimiento rectilíneo dentro de la muestra estudiada $\geq 75\%$ (Arbaiza, 2021).

Motilidad total: número total en porcentaje de células espermáticas móviles dentro de la muestra obtenida (Cucho *et al.*, 2021).

Motilidad cinemática: medición de la distancia entre cada punto de la cabeza de un espermatozoide determinado durante el período de evaluación (Valverde *et al.*, 2019).

Velocidad curvilínea (VCL, $\mu\text{m/s}$): es la suma de las distancias encontradas entre centro y centro o de fotograma a fotograma de un espermatozoide dividida entre el tiempo total del análisis (Valverde *et al.*, 2019).

Velocidad rectilínea (VSL, $\mu\text{m/s}$): toma en cuenta la distancia que realiza el espermatozoide entre el primer y último punto de su recorrido por unidad de tiempo (Muiño, 2008).

Velocidad de trayectoria promedio (VAP, $\mu\text{m/s}$): interpolación entre los puntos que corresponde a la velocidad curvilínea con la finalidad de aproximarse aún más al desplazamiento real de la célula espermática (Valverde *et al.*, 2017).

Linealidad (LIN, %): es el porcentaje de linealidad entre la trayectoria curvilínea VSL/VCL (Valverde *et al.*, 2019).

Rectitud media (STR, %): es una medida de la linealidad de la trayectoria promedio VSL/VAP (Valverde *et al.*, 2019).

Oscilación (WOB, %): la oscilación de la trayectoria real respecto a la trayectoria promedio, expresada como la relación VAP/VCL en porcentaje (Valverde *et al.*, 2020).

Distancia curvilínea (DCL, $\mu\text{m/s}$): distancia promedio del espermatozoide a lo largo de su trayectoria curvilínea (Maulana *et al.*, 2022).

Distancia línea recta (DSL, $\mu\text{m/s}$): es la distancia promedio en el tiempo que recorre la cabeza del espermatozoide a lo largo de la línea recta (Maulana *et al.*, 2022).

Distancia promedio más alta (DAP, μm): es la distancia promedio en el tiempo de la cabeza del espermatozoide a lo largo de su recorrido promedio más alto (Maulana *et al.*, 2022).

ALH (μm): Amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza (Maulana *et al.*, 2022).

Motilidad progresiva rápida (%): Calcula el porcentaje de células espermáticas móviles en un mililitro (Amann y Katz, 2004).

Motilidad circular progresiva (%): porcentaje de células espermáticas analizadas que presentan una rotación de $>0.70 \mu\text{m}/\text{sg}$ y un radio $>10.0 \mu\text{m}$, $<80.0 \mu\text{m}$ (Arbaiza, 2021).

Motilidad circular local (%): porcentaje de espermatozoides analizados que presentan un $\text{VCL} <48.0 \mu\text{m}/\text{s}$ y un $\text{VSL} <10.0 \mu\text{m}/\text{s}$ (Arbaiza, 2021).

Espermatozoides inmóviles (%): Calcula el porcentaje de espermatozoides que presentan $\text{ALH} < 1.0 \mu\text{m}/\text{s}$ una velocidad curvilínea (VCL) $< 24.0 \mu\text{m}/\text{s}$ y una velocidad curvilínea (VCL) $< 24.0 \mu\text{m}/\text{s}$ (Arbaiza, 2021).

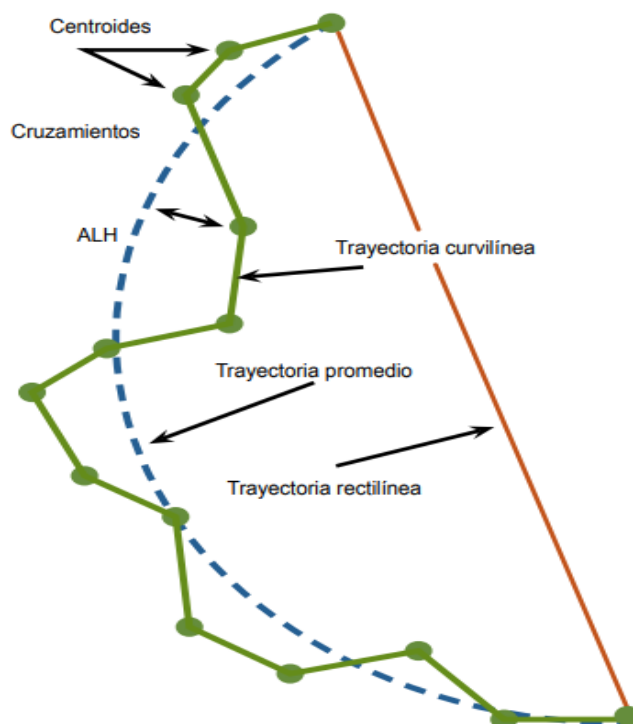


Ilustración 6. Parámetros cinéticos medidos por el programa CASA (*Recuperado de Valverde et al., 2017*)

Cuadro 1. Variables cinemáticas de semen de ovino en pre-congelacion (Adaptado de Singh et al., 2021).

Parámetro	Pre-congelación
TM (%)	77.0± / 1.2
PM (%)	50.1± / 1.2
VAP $\mu\text{m/s}$	104.6± / 2.8
VSL $\mu\text{m/s}$	88.6± / 2.7
VCL $\mu\text{m/s}$	127.3± / 2.1
ALH μm	3.3± / 0.1
BCF (Hz)	8.9± / 0.2
STR (%)	81.0± / 0.7
LIN (%)	67.2± / 1.4

Cuadro 2 Variables cinemáticas de semen de ovino en post-descongelacion (Adaptado de Singh et al., 2021).

Parámetro	Post- descongelación
TM (%)	65.2± / 4.5
PM (%)	39.7± / 3.5
VAP $\mu\text{m/s}$	----
VSL $\mu\text{m/s}$	----
VCL $\mu\text{m/s}$	120.3 ± / 4.0
ALH μm	3.3 ± / 0.1
BCF (Hz)	----
STR (%)	----
LIN (%)	63.5± / 1.6

Concentración espermática

La concentración del semen hace referencia a la cantidad de espermatozoides en un eyaculado la cual nos da un indicativo de la capacidad de fertilización del macho semental; para realizar esta prueba nos apoyaremos de instrumentos de laboratorio Cadena *et al.*, 2023). Entre los instrumentos mayormente utilizados en la determinación de la concentración espermática esta la cámara de Neubauer o fotómetro independiente de cual utilicemos ambos son muy precisos (Ramírez, 2022). Al trabajar con la muestra es indispensable realizar un proceso de dilución con una solución conocida como líquido de Hayem la cual tiene tres funciones diluir,

dispersar y fijar a los espermatozoides (Cadena *et al.*, 2023). Continuando con el proceso se toma un tubo de microcentrífuga en el que colocaremos 3990 µl de agua y 10 µl de la muestra colectada, hacemos uso de la cámara de Neubauer la cual esta está conformada por dos divisiones superior e inferior donde agregamos 10 µl de la dilución del semen y procedemos a hacer el conteo de espermatozoides (Ramírez, 2022).

Para el conteo de los espermatozoides se debe tener precaución aquellos que están en la línea izquierda e inferior no se consideran, pero los que están dentro del cuadro o sobre la línea derecha superior pueden ser considerados y contados Cadena *et al.*, 2023).

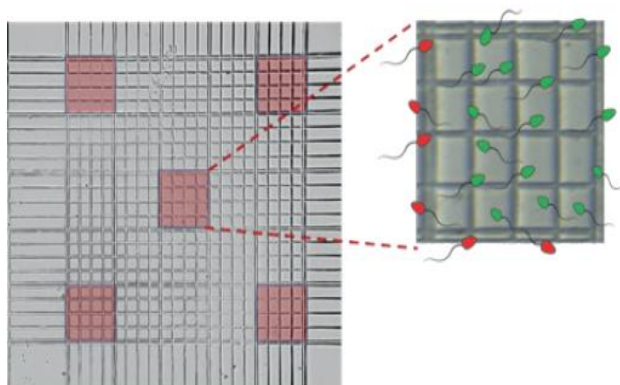


Ilustración 7 Conteo en la cámara de Neubauer (*Recuperado de Cadena et al., 2023*).

Una vez determinado el número de espermatozoides proveniente de los 16 cuadrados que conforma cada uno de los 5 cuadros a analizar, se realiza una sumatoria de los 5 cuadros utilizamos la siguiente formula:

$$spz/mL = \frac{n}{\frac{1}{10} * \frac{5}{25} * \frac{1}{400}} \times 10^3$$

*n= media del conteo de la cámara superior e inferior de la cámara de Neubauer.

De esta manera concluimos y conocemos la concentración espermática de la muestra obtenida de espermatozoides por mililitro (Ramírez, 2022).

Morfología espermática

La tinción de eosina-nigrosina consiste en identificar aquellas células dañadas de las viables, pero en este caso la literatura nos muestra que los espermatozoides pueden presentar dos tipos de anomalías: primarias y secundarias, según el lugar donde llegan a localizarse (Boeta *et al.*, 2018).

Una anomalía primaria es aquella que viene dada por situaciones donde se involucra directamente al proceso de formación interna de los espermatozoides en los testículos y se pueden observar cabezas dobles, colas dobles, colas enrolladas, gota citoplasmática proximal etc., en cambio las anomalías secundarias son aquellas que ocurren desde el paso por el epidídimo como colas rotas, gotas citoplasmáticas mediales entre otras (Balcázar y Porras, 2013).

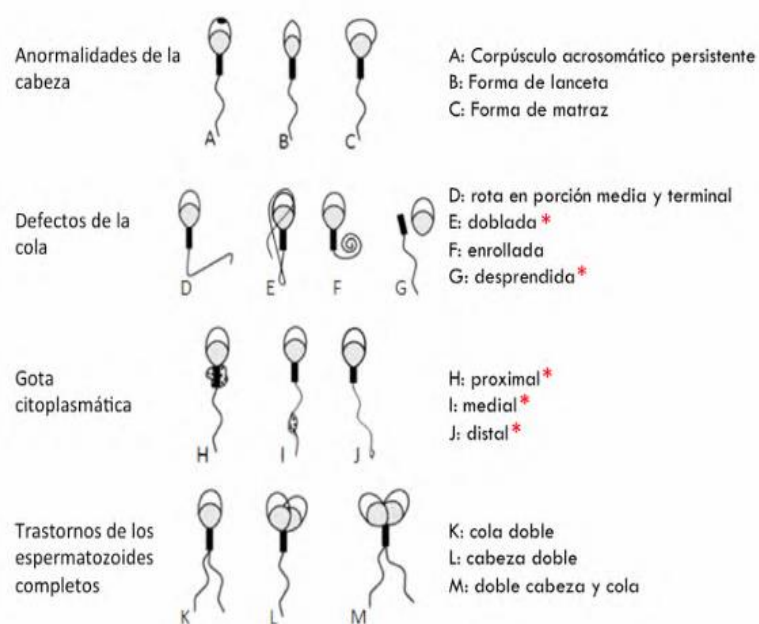


Ilustración 8 Anomalías primarias y secundarias (*) de los espermatozoides (*Recuperado de Boeta et al., 2023*).

2.6 Procesos de conservación del semen

Una manera ideal para la utilización posterior de recursos genéticos obtenidos por el eyaculado de sementales ovinos es la conservación del semen (Córdova *et al.*, 2023). Dentro de las tecnologías disponibles para la conservación del semen ya sea por periodos largos semen congelado o periodos cortos semen refrigerado y enfriado (Naim *et al.*, 2009).

Un semen refrigerado es conocido de esta manera por la temperatura en la que se mantiene para su conservación la cual es de 15°C (Mueller *et al.*, 2010). Uno de los métodos mayormente utilizados en la conservación de semen es la refrigeración implementada cuando se desea conservar en forma líquida por periodos no mayores de 24 horas a una temperatura de 5°C (Trejo *et al.*, 2017). A esta temperatura ocurre un ahorro de energía por parte de los espermatozoides al reducir su metabolismo, acción por la cual se mantienen viables en ese lapso (Palomino *et al.*, 2007).

Existe la posibilidad de congelar el semen permitiendo aumentar el uso de sementales, disminuyendo los costos de producción y obtener machos de alta calidad genética procedente de diversas partes del mundo con la finalidad de obtener crías de excelencia productiva (Cabrera *et al.*, 2011).

Se denomina semen congelado cuando su preservación se encuentra a una temperatura de -196°C en termos especializados de nitrógeno líquido.

De manera independiente el utilizar el semen proveniente de uno de los procesos de conservación mencionados modifica el método empleado en la inseminación artificial a implementar la IA vía cervical o laparoscópica y ajustar la dosis seminal según la vía de inseminación (Mueller *et al.*, 2010).

2.2.4 Aditivos para mejorar las características espermáticas

Se sabe que los procesos de congelación y descongelación del semen utilizados en la mayoría de las especies de mamíferos provocan la muerte de una gran cantidad de células (Rodríguez *et al.*, 2020).

Dentro de las especies animales los ovinos tienen una gran desventaja al hablar de la viabilidad que muestra el semen debido a que este es más sensible a los cambios abruptos de temperatura al pasar de -196° en congelación a 37°C para su aplicación en IA, por consecuencia de este proceso se obtienen porcentajes menores de preñez (Torres *et al.*, 2019).

Esto se debe a que durante el proceso de refrigeración y criopreservación hay un aumento en los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS), que producen efectos biofísicos y cambios bioquímicos en la membrana del espermatozoide e incluso daños en su ADN afectando la viabilidad y su capacidad fertilizante (Rodríguez *et al.*, 2020).

Los espermatozoides en la especie ovina también son muy vulnerables a sufrir peroxidación lipídica, dañando las células, en condiciones normales el plasma seminal provee un conjunto de antioxidantes para ayudar a protegerlos, sin embargo esta capacidad protectora es alterada en el proceso de criopreservación (Torres *et al.*, 2019).

2.2.4.1 Antioxidantes

Como ya es conocido el semen ovino tiene una desventaja al momento de criopreservarlo debido a su conformación de una membrana lipídica muy sensible a las especies reactivas de oxígeno (ROS) con el afán de dar solución a este problema se ha implementado la utilización de antioxidantes entre los cuales podemos destacar a la vitamina E (Torres *et al.*, 2019; Alaamary *et al.*, 2020).

Vitamina E

Entre las características funcionales de la vitamina se reconoce como un potente antioxidante de tipo lipofílico el cual su mecanismo de acción consiste en proteger a los ácidos grasos insaturados en contra de la oxidación producida por los radicales libres eliminando estos mismos y evitando su acción sobre la célula espermática al bloquear la reacción en cadena de lipoperoxidación (Jiménez *et al.*, 2021).

Quercetina

Flavonoide que posee características antioxidantes capaces de eliminar a las especies de radicales libres de oxígeno, mejorando a su vez la calidad del semen después de su descongelación evitando la capacitación prematura antes de la inseminación (Carrera *et al.*, 2022).

2.4.4.2 Aminoácidos en el plasma seminal

Los aminoácidos libres del plasma seminal tienen varias funciones, incluyendo la reducción de radicales libres, la protección de las células contra la desnaturalización y el suministro de sustrato oxidable a los espermatozoides (Ugur *et al.*, 2020).

Sin embargo, las identidades y roles de los aminoácidos del plasma seminal durante la criopreservación no se comprenden completamente. La alanina, glicina, glutamina, histidina y prolina se han utilizado como agentes crioprotectores de semen para varias especies, ya que inhiben la peroxidación lipídica o modulan el mecanismo osmótico (Ugur *et al.*, 2020).

El ácido glutámico o glutamina es un L- α -aminoácido y el más abundante en el organismo, por lo que se considera un aminoácido no esencial, sin embargo, su demanda aumenta debido al elevado recambio de glóbulos rojos tras la hemólisis, lo que la convierte en un aminoácido condicionalmente esencial (Hamed *et al.*, 2022).

La glutamina, se ha utilizado para la criopreservación de semen de carnero, semental, cabra y humano. Aunque el mecanismo crioprotector de los aminoácidos no se conoce bien, se han proporcionado algunas hipótesis con respecto a los posibles mecanismos, como la actividad antioxidante y la protección contra los efectos desnaturalizantes del bajo potencial hídrico durante la congelación (Santiago *et al.*, 2019).

Además, la alanina y la glutamina también afectan la motilidad y viabilidad de los espermatozoides al mejorar en cierta medida los efectos crioprotectores del glicerol (Ugur *et al.*, 2020).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de estudio y animales experimentales

El presente estudio se realizó en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Torreón Coahuila México (25.5° LN, 103.3° LO), dentro de las instalaciones de la posta zootécnica caprina y ovina. Se utilizaron dos ejemplares ovinos de la raza Dorper de los cuales se obtuvieron las muestras de semen de la investigación, la recolección de semen se realizó a través de una vagina artificial dos veces por semana durante tres meses ayudándonos de una hembra ovina en celo, posteriormente la muestra obtenida fue colocada a baño maría a una temperatura de 37°C.

3.2 Evaluación antes y después de la dilución seminal

Primeramente, procedimos a realizar una evaluación general de calidad espermática de la muestra obtenida, al termino de la misma se realizó una dilución del semen utilizando un compuesto comercial denominado Optixcell, dejando a una concentración de 1:1. Después de esta evaluación, verificamos que la muestra estuviera con un pH neutro y una temperatura de 37°C posteriormente el volumen total diluido fue dividido en dos para obtener un testigo (TESTIGO=0) y otro con la adición de ácido glutámico(AG=20 µl/ml) (concentración de 0.08 gramos por mililitro) evaluando por segunda ocasión las muestras tratadas y testigo.

Al término de esta refrigeramos ambos grupos por un tiempo de 4 hrs a una temperatura de 5°C para finalmente volver a evaluar la calidad espermática y obtener los datos de cada uno

En las evaluaciones se consideraron las siguientes variantes:

Volumen: utilizamos un tubo graduado al momento de la recolección el cual nos indicaba el total de ml de semen.

Motilidad masal: tomamos una gota aproximadamente de 10 µl semen por medio de una micropipeta, depositamos en una laminilla portaobjetos, posteriormente con la ayuda del microscopio a una resolución de 40x procedemos a evaluar, el grado de motilidad la obtuvimos por la generación de remolinos y se asignó una

calificación del 0 al 5 donde 0 indicará la ausencia de los remolinos y el numero 5 corresponderá a la observación de remolinos sumamente sinérgicos

Concentración: realizamos una predilucion del semen tomamos con una micropipeta 10 μ l de la dilución del semen y procedemos a hacer el conteo de espermatozoides en la cámara de Neubauer, al obtener el número total por cuadrante determinamos la concentración final del eyaculado por medio de la formula.

Viabilidad espermática: mezclamos una gota de tinción de eosina nigrosina en un portaobjetos en conjunto con una gota de semen, realizamos un frotis, dejamos secar, después evaluamos la viabilidad al microscopio, la tinción penetraba en el interior del citoplasma haciendo evidente la degeneración de la célula, el procedimiento se realizó al contar un total de 100 células y determinar su porcentaje por medio de una regla de tres simple.

Morfología: utilizamos la tinción de eosina nigrosina, tomando una gota de la tinción y una gota del eyaculado tratado, realizamos un frotis en las laminillas, dejamos secar y posteriormente identificamos un total de 200 células en microscopio binocular labomed Lx400, observando las diferentes características morfológicas primarias y secundarias finalmente se contaban, agrupaban en una tabla de datos y obteníamos el porcentaje a través de una regla de tres simple.

3.3 Evaluación de la motilidad espermática en el sistema CASA

Para la evaluación de la motilidad se utilizó el sistema de Software CASA Análisis de Semen Asistido por Computadora; AndroVision®, Minitube, México. Para comenzar con la evaluación tomamos la cantidad de 5 μ l de la muestra de semen previamente analizada y añadido el tratamiento correspondiente, se colocó en un portaobjetos y se examinó al microscopio en una platina con la temperatura de (37°C) a una resolución de 10x en un contraste de fase negativo, los parámetros cinemáticos que el programa nos arrojó fueron los siguientes: motilidad progresiva rápida (%), motilidad progresiva (%), progresiva lenta (%), motilidad total (%), circular lenta (%), circular progresiva (%), y espermatozoides inmóviles (%).

3.4 Análisis estadístico

Se utilizó un análisis de varianza por medio del modelo lineal general (PROC GLM), donde los datos obtenidos fueron analizados para determinar el efecto que causó la adición de ácido glutámico apoyándonos de la prueba de Tukey, todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico SAS. 9.0 al comparar las medias arrojadas.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aumento de la demanda insatisfecha de carne de ovino hace indispensable atender al campo mexicano dedicado a la producción de carne, por ello es importante dar a conocer las alternativas modernas, resaltando las siguientes áreas: manejo, reproducción, sanidad, nutrición, administración y evaluación de la productividad (González *et al.*, 2021).

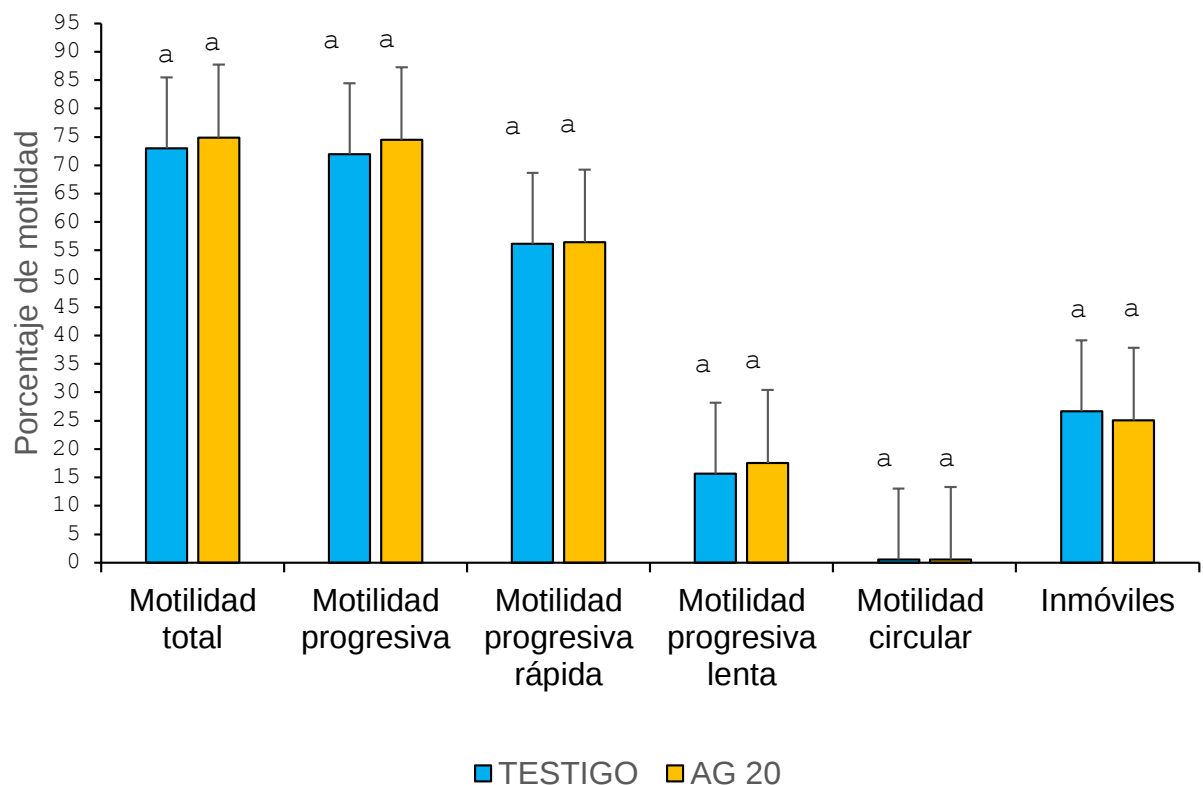
La reproducción es uno de los pilares de la ganadería ovina debido a que de esto depende en gran medida cual es la capacidad de producción que tendrá un productor en determinado hato, al conocer la capacidad fecundante que posee el semental, así como el porcentaje total de pariciones y destetes realizados (Cadena y Cortez, 2012).

Es bien reconocido que la reproducción animal es llevada a cabo internamente por una compleja red de hormonas, las cuales a su vez necesitan de una correcta comunicación para llevar a cabo su función en los órganos diana, aquí entran en acción los neurotransmisores. A nivel del SNC, los compuestos por aminoácidos actúan inhibiendo o excitando dicho sistema, entre los cuales se encuentran el ácido glutámico, taurina, glicina, ácido aminobutírico y ácido aspártico (Pérez *et al.*, 2018).

De estos el que recae en nuestro interés es el ácido glutámico, además de desencadenar la reacción de las hormonas reproductivas, es capaz de proteger a las células del estrés oxidativo fenómeno que se ve implicado en las diversas técnicas de manipulación del semen, como lo son colección, dilución, refrigeración, empajillado y congelación (Albarracín *et al.*, 2016).

Neira *et al.* (2007), nos mencionan que la adición de ácido glutámico únicamente o en conjunto con el etilenglicol pueden mejorar la movilidad y sobrevivencia espermática en comparación con un grupo testigo, sin embargo, los datos obtenidos de la cinética espermática en nuestro estudio no muestran diferencia estadística significativa ($p > 0.05$) al añadir 20 $\mu\text{l/ml}$ de ácido glutámico para la motilidad total se refleja un incremento aproximadamente del 1%, ($p = 0.9670$) a favor del grupo tratado siendo muy similar para la motilidad progresiva ($p = 0.9670$); en la motilidad

progresiva rápida no se observó una diferencia entre los valores porcentuales ($p=0.6886$), la motilidad progresiva lenta mostró una diferencia numérica a favor del grupo tratado, sin embargo no existe diferencia estadística ($p= 0.7239$); la motilidad circular fue similar en ambos grupos ($p= 0.9922$); a diferencia de todos los demás los resultados de inmóviles fueron más altos para el grupo testigo que para el grupo adicionado con ácido glutámico ($p=0.7948$) (Gráfica 1).



Grafica 1 Parámetros cinemáticos evaluados de semen de ovino refrigerado adicionado con (20 μ l, AG 20), y sin ácido glutámico. ^a= literales iguales indican que no existe diferencia significativa ($P>0.05$)

La movilidad de los espermatozoides es adquirida a través del camino que toma por el epidídimo, al interior de este se producen naturalmente aminoácidos que ayudan

al proceso de formación y funcionamiento del espermatozoide por mencionar algunos están lisina, cisteína, treonina, serina, ácido glutámico, prolina, glicina, alanina, cistina, valina, metionina, isoleucina, tirosina, fenilalanina y triptófano. De estos se reconoce al ácido glutámico como fuente generadora de energía para el movimiento espermático así mismo se ha correlación su deficiencia con falta de movilidad (Allende, R., y Arisnabarreta, E., 2021) (Susetyarini *et al.*, 2015).

El proceso de capacitación espermática incluye diferentes etapas las cuales proveen al espermatozoide las cualidades necesarias para lograr la unión entre gametos, un sitio fundamental para este proceso es el epidídimo en este mismo las especies reactivas de oxígeno pueden actuar inhibiendo la capacitación y movilidad comprometiendo la capacidad fertilizante del espermatozoide por la gran cantidad de oxígeno que daña directamente el ADN (Tobón *et al.*, 2019).

Tuncer *et al.* 2011 mencionan que los espermatozoides sufren estrés oxidativo cuando existe un desequilibrio producción-eliminación de especies reactivas de oxígeno pudiendo presentar malformaciones y la generación de ampollas en la membrana citoplasmática, dicho fenómeno se ve potenciado cuando el semen es manipulado para su crio preservación, siendo el ácido glutámico una posible opción para reducir estas alteraciones debido a su efecto protector.

En el presente estudio al evaluar la morfología espermática nos dimos cuenta de que no existe diferencia significativa, evidenciando que el ácido glutámico no altera las condiciones espermáticas debido al porcentaje obtenido para cada grupo (Testigo 79.76% vs 79.62 AG 20) (Cuadro 3).

Cuadro 3 Porcentaje de morfología espermática de semen ovino refrigerado adicionado con ácido glutámico

GRUPO	NORMAL	ANORMALES
TESTIGO	79.76	20.24
AG 20	79.62	20.38
Valor de <i>P</i>	0.962	0.962

V. CONCLUSIONES

En base a los resultados expuestos y comparando diversas investigaciones el ácido glutámico juega un rol importante en los espermatozoides al ser producido internamente sin embargo la adición exógena de 20 $\mu\text{l/ml}$ no mostro mejoría en la cinética y morfología de las muestras seminales sugiriendo repetir el experimento con una mayor concentración.

VI. LITERATURA CITADA

Alamaary MS, Haron AW, Hiew MWH, Ali M. (2020) Effects of cysteine and ascorbic acid in freezing extender on sperm characteristics and level of enzymes in post-thawed stallion semen. *Vet Med Sci.* 6(4):666-672.

Albarracín, Sonia Luz, Baldeón, Manuel E, Sangronis, Elba, Cucufate Petruschina, Alexandra, y Reyes, Felix G. R. (2016). L-Acido glutámico: un aminoácido clave para las funciones sensoriales y metabólicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(2), 101-112

Allende, R., y Arisnabarreta, E. (2021). Fisiología espermática, producción de semen y evaluación de la calidad seminal.

Amann, R. P., & Katz, D. F. (2004). Andrology lab corner*: Reflections on casa after 25 years. *Journal of andrology*, 25(3): 317-325.

Arbaiza Barnechea, M.D. (2021) Efecto de la criopreservación espermática en la fragmentación del ADN, viabilidad, y parámetros cinéticos en toros Brown Swiss. *Revista colombiana de ciencia animal recia*, 13(1), 59-69.

Atuesta, J.E., y Gonella Díaz, A.M. (2011). Control hormonal del ciclo estral en bovinos y ovinos. *Spei Domus*. 7 (14): 15-25

Balcázar Sánchez, J.A., y Porras Almeraya, A. I. (2013). Manual de prácticas en manejo reproductivo de ovinos y caprinos. Universidad Nacional Autónoma de México, facultad de medicina veterinaria y zootecnia. 1era edición. México. 96

Barquero, V., Víquez, L., Calderón, JC y Valverde, A. (2021). Frecuencia de fotogramas óptima para evaluar la cinética espermática de verracos con un sistema CASA-Mot. *Agronomía Mesoamericana*. 32 (1): 1-18.

Bobadilla-Soto, E. E., Ochoa-Ambríz, F., & Perea-Peña, M. (2021). Dinámica de la producción y consumo de carne ovina en México 1970 a 2019. *Agronomía Mesoamericana*, 32(3): 963-982.

Boeta, M., Balcázar S, A., Cerbon, J.L., Hernández Medrano, J. H., Paramo Ramírez, R. M., Porras Almeraya, A.I., Rangel, L., Salgado, B., Valencia, J., Zarco, L. (2018). Fisiología reproductiva de los animales domésticos. Universidad Nacional Autónoma de México. 1era edición. México. 540

Boeta, M., Balcázar S, A., Cerbon, J.L., Hernández Medrano, J. H., Paramo Ramírez, R. M., Porras Almeraya, A.I., Rangel, L., Salgado, B., Valencia, J., Zarco, L. (2023). Fisiología reproductiva de los animales domésticos. Universidad Nacional Autónoma de México. 2da edición. México. 540

Cabrera, P., Ayulo, A., & Pantoja, C. (2011). Efecto del dilutor TRIS y citrato con yema de huevo de codorniz sobre la viabilidad espermática en semen ovino congelado en pajillas. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 22 (2): 105-113.

Cadena-Villegas, S., & Cortez-Romero, C. (2012). Aplicación de biotecnologías reproductivas para el mejoramiento genético de rebaños de ovinos. AGRO Productividad. 5 (1): 105-122.

Cadena Villegas, S., Salinas Ríos, T., Flores Santiago, E.J. (2023). EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD REPRODUCTIVA DEL SEMENTAL OVINO

Calderón-Cabrera, J., Santoyo-Cortés, V. H., Martínez-González, E. G., & Palacio-Muñoz, V. H. (2022). Modelos de negocio para la producción de ovinos en el nororiente y centro del Estado de México. Revista mexicana de ciencias pecuarias. 13 (1): 145-162.

Carrera Chávez, J.M., y Carrera Chávez, B. (2013). La productividad de la ovina cultura en el estado de Zacatecas, México. Universo de la tecnológica. 5 (15): 18-21

Carrera Chávez, J. M., Jiménez-Aguilar, E.E., Quezada-Casasola, A., Alejandro Prieto-Caraveo, M. A., Itzá-Ortiz M.F. (2022). Evaluación de la adición de quercetina y vitamina E al medio de crio preservación de semen ovino sobre la calidad espermática y fertilidad in vivo. Instituto de Ciencias Biomédicas. 186-19

Córdova Izquierdo, A.C., Mancera, A.E.V., Vázquez, A.G., Cedeño, C.B., Pérez, J.O., Aparicio, P.S., Sánchez, R.S. (2023). Efecto del diluyente sobre calidad espermática del semen ovino refrigerado. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal, 31(Suplemento): 5-7

Cucho, H., Gallegos, M., Ccoiso, R., Meza, A., Ampuero, E., Ordóñez, C., & Valverde, A. (2021). Morfometría y subpoblaciones de espermatozoides de llama (*Lama glama*) usando el sistema ISAS® CASA-Morph. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 32(1): 1-13

Cueto, M., Gibbons, A., Bruno-Galagarra, M.M., Fernández, J. (2016). MANUAL DE OBTENCION, PROCESAMIENTO Y CONSERVACION DEL SEMEN OVINO. INTA. 2da edición. Argentina. 22

Galaviz-Rodríguez, J. R., Vargas-López, S., Zaragoza-Ramírez, J. L., Bustamante-González, Á., Ramírez-Bribiesca, E., Guerrero-Rodríguez, J. D. D., & Hernández Zepeda, J. S. (2011). Evaluación territorial de los sistemas de producción ovina en la región nor-poniente de Tlaxcala. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias, 2(1): 53-68.

Galina, C. (2008). Reproducción de animales domésticos. Limusa. 3era edición. México. 575

Gil J. et al., (2002). Influence of centrifugation or low extension rates prefreezing on the fertility of ram semen after cervical insemination. Theriogenology 57: 1781-1792

Gonzales-Reyna, A., Vázquez-Armijo, J.F., Lucero-Magaña, F.A. (2021). Fisiología de la reproducción y productividad en pequeños rumiantes. Académica española. 1era edición. México. 383

Guzmán, F. J. H., Pedroza, S. I. M., & Medina, A. A. (2023). Producción y calidad de la carne de ovino de pastoreo en el Estado de México. *Nacameh*, 17(2), 101-108.

Hafez B., y Hafez E.S.E. (2000). Reproducción e inseminación artificial en animales. Mc Graw Hill. 7ma edición. México. 509

Hamed M.A., Akhigbe T.M., Akhigbe R.E., Aremu A.O., Oyedokun P.A., Gbadamosi J. A., Anifowose P.E., Adewole M.A., Aboyeji O.O., Yisau, H.O., Tajudeen G. O., Titiloye M.M., Ayin N.F. (2022). Glutamine restores testicular glutathione-dependent antioxidant defense and upregulates NO/cGMP signaling in sleep deprivation-induced reproductive dysfunction in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 148(1):1-14

Hernández-Marín, J.A., Valencia-Posadas, M., Ruíz-Nieto, J.E., Mireles-Arriaga, A.I., Cortez-Romero, C., Gallegos-Sánchez, J. (2017). CONTRIBUCIÓN DE LA OVINOCULTURA AL SECTOR PECUARIO EN MÉXICO. *Agro productividad*. 10 (3): 87-93

Hernández, P. P., Arroniz, J. V., Molina, H. C., Martínez, B. C., Rivera, P. D., & Ortiz, S. L. (2011). Análisis descriptivo de los sistemas de producción con ovinos en el estado de Veracruz, México. *Revista científica*, 21(4), 327-334.

Hernández Valenzuela, D., Sánchez Vera, E., Gómez Demetrio, W., & Martínez García, C. G. (2019). Caracterización productiva y socioeconómica del sistema de producción ovina, en un área natural protegida de México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 10(4): 951-965.

Jiménez-Aguilar, E., Quezada-Casasola, A., Prieto-Caraveo, M., Orozco-Lucero, E., Itzá-Ortiz, M., & Carrera-Chávez, J. (2021). Evaluación de la adición de quercetina y vitamina E al medio de crio preservación de semen ovino sobre la fertilidad in vivo. *Abanico veterinario*. 11(1): 1-14

Maulana, T., Agung, P. P., Gunawan, M., & Said, S. (2022). Computer aided semen analysis (CASA) to determine the quality and fertility of frozen thawed sumba ongole sperm supplemented with amino acids. *Livestock and Animal Research*, 20(2), 194-201.

Mueller, J.P., Cueto, M.I., & Robles, C. A. (2010). Actualización en producción ovina. Departamento de Producción Ovina, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Memorias VIII Curso de Actualización en Producción ovina Río Negro, Argentina. 225

Muiño Otero, R. (2008). Evaluación de la motilidad y viabilidad del semen bovino mediante el uso de sistemas CASA y citometría de flujo: identificación de subpoblaciones espermáticas. Universidad Santiago de Compostela. 1edicion. España.105

Naim, P., Cueto, M., y Gibbons, A. (2009). INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO CON SEMEN OVINO REFRIGERAD. Archivos de zootecnia. 58 (223): 435-440

Neira, J. A., Ramírez, G. F., García, S. A. L., y García, D. A. M. (2007). Efecto de la asociación L-Glutamina–Etilenglicol en la criopreservación de semen equino. Revista de Medicina Veterinaria, (14): 93-105.

Núñez Favre, R., Bonaura, M.C., García Mitaceck, M.C., Stornelli, M.C., Stornelli, M.A., De la Sota, R.L. (2013). ESTACIONALIDAD REPRODUCTIVA EN ANIMALES DOMESTICOS. NUEVAS PERSPECTIVAS EN EL GATO (FELIS SILVESTRIS CATUS). Analecta vet. 33 (1): 42-49

Palacios Moreno, N., y González Mendoza, D.F. (2012). CORRELACIÓN ENTRE DIÁMETRO TESTICULAR Y CALIDAD ESPERMÁTICA EN OVINOS CRIOLLOS DEL MUNICIPIO DE SORACÁ, BOYACÁ. Conexión Agropecuaria JDC. 2 (2): 45-55

Palomino, J. M., Cervantes, M., Rodríguez, A., Cisneros, F., & Huanca, W. (2007). Efecto de dos dilutores y tiempos de refrigeración sobre la motilidad individual de semen refrigerado de caprinos. Sitio Argentino de Producción Animal. (1): 1-3

Pérez, P. A., CardonaG, Á., BravoO, B., y VillegasS, C. (2018). ACTIVIDAD FOLICULAR OVÁRICA EN CABRAS BOER SUPLEMENTADAS CON ACIDO GLUTAMICO MONOSÓDICO Y METABOLASE®. Avances de la Investigación Sobre Producción Animal y Seguridad Alimentaria en México.

Ramírez Antolínez, C. (2022). Manual de procedimientos para la evaluación andrológica, calidad seminal y criopreservación de semen ovino-caprino del laboratorio de biotecnología de la reproducción animal del centro académico Guatiguará, UCC. Universidad Cooperativa de Colombia, Facultad de Ciencias de

la Salud, Medicina Veterinaria y Zootecnia, Bucaramanga. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12494/46674>

Rodríguez-Gutiérrez, I., Domínguez-Rebolledo, Á., Loeza-Concha, H., Castellanos-Zacarías, C., Tun-Moo, M., & Ramón-Ugalde, J. (2020). Antioxidant effect of Trolox and Crocina on the cryopreservation of Pelibuey ovine semen. *Abanico veterinario*. 10 (1): 1-9

Santiago-Moreno, J., Bernal, B., Pérez-Cerezales, S., Castaño, C., Toledano-Díaz, A., Estes, M. C., & Blesbois, E. (2019). Seminal plasma amino acid profile in different breeds of chicken: Role of seminal plasma on sperm cryoresistance. *PloS one*, 14 (1): 1-19

Santoyo-Cortez, V.H., y Martínez-Gonzalez, E. G. (2021). Tendencias y modelos de negocio en la ovino cultura mexicana. Congreso internacional de ovino cultura

Singh, A. K., Kumar, A., y Bisla, A. (2021). Computer-assisted sperm analysis (CASA) in veterinary science: A review. *Indian Journal of Animal Sciences*. 91 (6): 419–429

Susetyarini, R. E. (2015). The level of glutamic acid in the semen of male white rat (*Ratus norvegicus*) after being treated with tannin of *Pluchea indica*. *Procedia Chemistry*, 14, 152-156.

Telesforo Soto, A., y Verano Gómez, M. (2024). Reproducción en ovinos y caprinos. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP). 1 era edición. España. 6-21

Tobón, E. R., Pastrana, R. C. F., Márquez, H. G., Matsumura, P. G. D., y Ríos, E. A. (2019) EL PAPEL DEL GLUTATIÓN REDUCIDO (GSH) EN EL PROCESO DE CAPACITACIÓN ESPERMÁTICA. *El espermatozoide*, 1 era edición. México. 288

Torres-Ruda, F., Manjarrez, C. I., Carvajal-Serna, M., & Grajales-Lombana, H. A. (2019). Efecto de la adición de antioxidantes en los diluyentes para la preservación de semen ovino. *Revista de Medicina Veterinaria*. (38): 101-109.

- Trejo, A., Benítez, I. A., Villalvazo, V. M., Estrada, C. A., & Mancera, A. V. (2017). Conservación de semen de borrego a 5° C utilizando medio suplementado con 0.5, 1.0 y 5.0 mM de glutatión reducido. *Archivos Latinoamericanos de Producción Animal*, 25 (1): 91-95
- Tuncer, P. B., Sarıözkan, S., Bucak, M. N., Ulutaş, P. A., Akalın, P. P., Büyükleblebici, S., & Canturk, F. (2011). Effect of glutamine and sugars after bull spermatozoa cryopreservation. *Theriogenology*, 75(8), 1459-1465.
- Ugur MR, Dinh T, Hitit M, Kaya A, Topper E, Didion B and Memili E (2020) Amino Acids of Seminal Plasma Associated With Freezability of Bull Sperm. *Front. Cell Dev. Biol.* 7 (347): 1-14
- Valverde, A. (2021). Importancia de la evaluación de la aptitud reproductiva mediante el análisis de semen por sistemas CASA. *Investigar. TEC.* 1 (40): 8-12
- Valverde, A., Barquero, V., & Soler, C. (2020). The application of computer-assisted semen analysis (CASA) technology to optimise semen evaluation. A review. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 29(3), 189-198.
- Valverde, A., Castro-Morales, O., Madrigal-Valverde, M. & Soler, C. (2019). Sperm kinematics and morphometric subpopulations analysis with CASA systems: a review. *Revista de Biología Tropical*. 67(6): 1473-1487.
- Valverde, A., Soler, C., & Madrigal, M. (2017). Los sistemas CASA como solución en los centros de producción de dosis semifinales porcinas. *Universidad tecnológica nacional*. 80(1): 74-80
- Velázquez, E. E. (2000). Biotecnologías reproductivas aplicadas a la producción ovina y caprina (I). *ARA. Archivos de reproducción animal*. (11): 58-72
- Vélez, A., Espinosa, J. A., De la Cruz, L., Rangel, J., Espinoza, I., & Capote, C. B. (2016). Caracterización de la producción de ovino de carne del estado de Hidalgo, México. *Archivos de zootecnia*. 65 (251): 425-428