

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



UTILIZACIÓN DEL ÁCIDO GLUTÁMICO PARA MEJORAR LA MOTILIDAD DEL  
SEMEN REFRIGERADO DE OVINO

Tesis

Que presenta LAURA GABRIELA IBARRA COMPIAN  
como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Torreón, Coahuila

Diciembre, 2024

UTILIZACIÓN DEL ÁCIDO GLUTÁMICO PARA MEJORAR LA MOTILIDAD DEL SEMEN REFRIGERADO DE OVINO

Tesis

Elaborada por LAURA GABRIELA IBARRA COMPIAN como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría

Dra. Ma. Guadalupe Calderón Leyva  
Asesor principal

Dra. Dalia Ivette Carrillo Moreno  
Asesor

Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán  
Asesor

Dra. Dalia Ivette Carrillo Moreno  
Jefe del Departamento de Postgrado

Dr. Antonio Flores Naveda  
Subdirector de Postgrado

Torreón, Coahuila

Diciembre 2024

## INDICE

ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	iii
AGRADECIMIENTOS .....	v
DEDICATORIA .....	vi
RESUMEN.....	viii
ABSTRAC .....	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1. Origen y domesticación de los ovinos .....	3
2.2. Importancia nacional de ovinos .....	4
2.3. Reproducción en ovinos .....	6
2.4. Espermatogénesis .....	7
2.4.1. Fases de la Espermatogénesis .....	8
2.4.2. Endocrinología espermática.....	12
2.4.3. La melatonina en la reproducción del macho .....	15
2.4.4 Parámetros que determinan la calidad seminal en carneros .....	16
2.4.5 Las motilidades espermáticas analizadas a través del CASA .....	17
2.4.6 Aditivos en el semen.....	20
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
3.1. Animales experimentados y obtención de eyaculados .....	22
3.2. Dilución, evaluación inicial de la calidad seminal y tratamientos .....	22
3.3. Evaluación de la motilidad espermática.....	22
3.4. Análisis estadístico.....	23
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
5. CONCLUSIÓN .....	29

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Espermatogénesis (Recuperado de Galina, 2021).....	9
<b>Figura 2.</b> Fases de la espermatogénesis (Recuperado de Galina, 2021). ....	10
<b>Figura 3.</b> Formación y partes del espermatozoide (Recuperado de Galina 2021). ....	11
<b>Figura 4.</b> Parámetros cinemáticos presentados por el sistema CASA. La línea roja muestra la velocidad curvilínea (VCL), la línea azul muestra la velocidad en línea recta (VSL) y la línea verde muestra la velocidad de trayectoria promedio (VAP). STR – rectitud (= $VSL/VAP \times 100$ ); LIN – linealidad (= $VSL/VCL \times 100$ ); WOB – oscilación (= $VAP/VCL \times 100$ ); ALH – amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza; BCF – frecuencia de cruce de pulso (Recuperado de Valverde et al., 2020).....	19
<b>Figura 5</b> Aminoácidos presentes en el semen.....	20

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Variables cinemáticas de los espermatozoides del carnero (Adaptado de Valverde, et al., 2020).....	19
<b>Cuadro 2.</b> Variables morfométricas del espermatozoide de carnero (Adaptado de Valverde et al., 2020).....	20
<b>Cuadro 3.</b> Media ( $\pm$ em) del porcentaje de movimientos rectilíneos de espermatozoides de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y cada hora durante cuatro horas de refrigeración. ....	24
<b>Cuadro 4.</b> Media ( $\pm$ em) del porcentaje de motilidad progresiva de espermatozoides de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y cada hora durante cuatro horas de refrigeración. ....	25
<b>Cuadro 5.</b> Media ( $\pm$ em) del porcentaje de motilidad progresiva rápida de espermatozoides de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y cada hora durante cuatro horas de refrigeración. ....	26
<b>Cuadro 6.</b> Media ( $\pm$ em) del porcentaje de motilidad progresiva lenta de espermatozoides de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y cada hora durante cuatro horas de refrigeración. ....	27
<b>Cuadro 7.</b> Media ( $\pm$ em) del porcentaje de motilidad local de espermatozoides de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y cada hora durante cuatro horas de refrigeración.....	28
<b>Cuadro 8.</b> Media ( $\pm$ em) del porcentaje de espermatozoides inmóviles de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y cada hora durante cuatro horas de refrigeración. ....	29

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>Abreviatura</b>	<b>Definición</b>
ROS	Especies reactivas a oxígeno
AND	Ácido desoxirribonucleico
G	Gramos
T	Toneladas
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropina
FSH	Hormona foliculoestimulante
LH	Hormona luteinizante
Sscs	Células madre espermatogoniales
A0	Células del tronco
A1-A4	Espermatogonias tipo 1-4
B	Espermatogonias tipo B
1N	Espermatidas haploides
ABP	Proteína ligadora de andrógenos
ABP-T	Compleja proteína ligadora de andrógenos y testosterona
IGF-1	Factor de crecimiento de insulina 1
TGF- $\beta$	Factor de crecimiento transformante $\beta$
ADH	Vasopresina
MIF	Hormona testicular antimülleriana
TR	Tiempo de reacción
N-acetil-5-metoxitriptamina	La melatonina
MT1	Receptor metabotrópico 1
MT2	Receptor metabotrópico 2
MI	Mililitro
X	Lente del microscopio
CASA	Computer-assited semen análisis
$\mu\text{m/s}$	Micromol / segundo
VCL	Velocidad curvilínea
VSL	Velocidad en línea recta
VAP	Velocidad de la trayectoria media
LIN	Linealidad medio por el nivel de progresión lineal
STR	Rectitud media por la relación de VSL/VAP
WOB	Oscilación medio por la oscilación de la trayectoria real
ALH	La magnitud del desplazamiento lateral de la cabeza
BCF	La frecuencia con la que la cabeza del espermatozoide cruza la longitud media del camino durante la adquisición
Hz	Hertz

$\mu\text{m}^2$	Micrómetro al cuadrado
HAC	Actividad de la cabeza
DCL	Distancia curvilínea
DSL	Distancia línea recta
ATP	Adenosín Trifosfato
DAP	Distancia promedio más alta
$\mu\text{m}$	Micromo
MPOA	El área preóptica medial
LN	Latitud norte
LO	Latitud Oeste
$^{\circ}\text{C}$	Grados centígrados
$\mu\text{l}/\text{ml}$	Microlitos/ mililitros
Ph	Potencial de Hidrogeno
H	Horas
PROC GLM	Procedimiento del Modelo Lineal General
SAS	Software integral de análisis estadístico

## **AGRADECIMIENTOS**

A el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por mi beca, con la cual pude vivir estos dos años.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro unidad laguna por ser mi casa de estudios donde por segunda ocasión he sido formada y por el presupuesto asignado a mi proyecto de investigación.

A la Facultad de Zootecnia y Ecología en Chihuahua en especial al departamento de posgrado por ser mi segunda casa y abrirme las puertas en mi tan amada estancia.

A la Dra. Guadalupe Calderón por ser mi asesora, empezar esta aventura conmigo, creyendo en mis capacidades y ser la encargada del proyecto estos dos años.

## DEDICATORIA

A mi mamá por ser el pilar más fuerte que existe en mi vida, por el apoyo y comprensión en todos los momentos de mi vida, por ser la luz que me guía en mis momentos más oscuros y difíciles de mi vida te amo mamá, y a mi papá, porque ambos me dieron lo que estuvo a su alcance a manos llenas a pesar de las carencias con las que ellos crecieron, son el mayor ejemplo de fortaleza y lucha como pareja, a mi hermano y hermana gracias por estar en mi vida.

A mi sobrino Caleb por ser la luz y alegría que me ilumina la vida con su inocencia y cariño, te adoro eres lo más maravilloso de este mundo, has llegado a este mundo a mostrarme otra forma de vivir la vida. A Valentina y Leonel que son parte de mi corazón con su amor llegare muy lejos, soy muy afortunada de ser su tía.

A mis compañeras Laura, Magui, Niztia y Nelly por ser mis compañeras en esta aventura sin ustedes este grado no hubiera sido lo mismo, solo nosotras sabemos por lo que a lo largo de estos dos años hemos pasado, gracias por los maravillosos momentos juntas, las lágrimas de alegría y tristeza, su amistad es lo que más atesoro de esta etapa.

A mis adoradas luzaqueñas que siempre están para mí, está es una de tantas aventuras compartidas a su lado y seguimos contando los eventos importantes de nuestras vidas, son cimientos en mi vida.

Para mi Majo, Karla, Liz y Daniela lo mejor que me ha dejado la UAAAN sin ustedes acompañándome en este proceso no hubiera sido lo mismo, son mi mayor tesoro y las llevo conmigo a todas partes.

A Erik Esquivel por ser mi motor y pilar en la vida, por creer en mí y en mis ideales cuando nadie más lo hacía, por siempre estar para mí y dedicar su vida en busca de mi bienestar, gracias por tu incondicional amor y cariño, te amo.

A mis estimados amigos del C.B.R y mi tesista Jair quienes gracias a su incondicional ayuda se puedo terminar este experimento, en ustedes encontré un apoyo y una amistad incondicional.



Por último, a mis estimadas madres de la ciencia, la Dra Viky Burrola y la Dra Bertha quienes me inspiraron a seguir en el camino de la investigación, sus consejos y cariño me dieron las fuerzas necesarias para poder terminar y pensar en seguir, no llegue hasta aquí sola, llegamos todas.

## RESUMEN

Utilización del ácido glutámico para mejorar la motilidad del semen refrigerado de ovino

Laura Gabriela Ibarra Compian

Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dra. Ma. Guadalupe Calderón Leyva  
Asesor principal

El objetivo fue evaluar el efecto de la adición del ácido glutámico sobre la motilidad de semen refrigerado de carnero. El estudio fue realizado en la posta caprina de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Torreón, Coahuila, México (25° LN, 103° LO). Se utilizaron 21 eyaculados, obtenidos de dos carneros de la raza Dorper la extracción seminal, se realizó dos veces por semana. Los eyaculados recolectados por día se analizaron para determinar el volumen, la motilidad masal, la concentración y la viabilidad espermática. Después del análisis se diluyó el semen con un diluyente comercial, se dividió la muestra diluida en cuatro partes iguales y se agregó 10, 20 o 30 µl/ml de ácido glutámico, a la cuarta muestra no se le adicionó nada (0, testigo). Posteriormente de cada muestra, se evaluó el porcentaje de espermatozoides móviles y los parámetros cinemáticos estándar a través del CASA (Análisis de Semen Asistido por Computadora); después se refrigeró el semen y nuevamente se realizó el análisis de motilidad espermática a cada hora durante 4h. Se realizó un análisis de varianza utilizando el procedimiento del Modelo Lineal General (PROC GLM), utilizando el SAS 9.0. Tanto en el semen fresco como en el refrigerado los grupos a los que se les adicionó ácido glutámico en comparación con el testigo mostraron porcentajes similares ( $p>0.05$ ) de espermatozoides móviles. El ácido glutámico no fue suficiente para mejorar la motilidad espermática en semen refrigerado.

**Palabras clave:** aminoácido, semen criopreservado, carnero, antioxidante

## **ABSTRAC**

Used of acid glutamic for the improvement of motility of cooled ram semen.

Laura Gabriela Ibarra Compian

Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dra. Ma. Guadalupe Calderón Leyva  
Asesor principal

The objective was to evaluate the effect of the addition of glutamic acid on the motility of refrigerated ram semen. The study was carried out at the goat farm of the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, in Torreón, Coahuila, Mexico (25° LN, 103° LO). Twenty-one ejaculates were used, obtained from two Dorper rams. Semen extraction was carried out twice a week. The ejaculates collected per day were analyzed to determine volume, mass motility, concentration and sperm viability. After analysis, the semen was diluted with a commercial extender, the diluted sample was divided into four equal parts and 10, 20 or 30 µl/ml of glutamic acid was added; nothing was added to the fourth sample (0, control). After each sample, the percentage of motile spermatozoa and standard kinematic parameters were evaluated using CASA (Computer Assisted Semen Analysis); then the semen was cooled, and sperm motility analysis was performed again every hour for 4h. An analysis of variance was performed using the General Linear Model (PROC GLM) procedure, using SAS 9.0. In both fresh and cooled semen, the groups to which glutamic acid was added compared to the control showed similar percentages ( $p>0.05$ ) of motile spermatozoa. Glutamic acid was not sufficient to improve sperm motility in refrigerated semen.

**Key words:** amino acid, cryopreserved semen, ram, antioxidant

## I. INTRODUCCIÓN

En México la producción rural de ovinos es una alternativa económica para enfrentar la pobreza, debido a la cantidad de ingresos generados y al aumento del número de productores que se han ido involucrando en esta actividad (Martínez *et al.*, 2011). Actualmente las explotaciones ovinas que antes subsistían considerando a estos animales como una fuente de ahorro o emergencia, se han transformado e incluso tecnificado, formando actualmente una actividad agropecuaria beneficiosa orientada a la producción de utilidades (Macedo y Castellanos, 2004; Macedo *et al.*, 2011).

Dentro del territorio nacional las razas de pelo están siendo cada vez más utilizadas para producción cárnica ya que se han adaptado a las diversas condiciones climáticas del país, aumentando con ello el número de cabezas en todo el territorio nacional independientemente del tipo de clima ya sea cálido, templado o seco, siendo apreciados por los productores debido a sus características, productivas y reproductivas, lo cual les permite mejorar la selección de los genotipos con mayor vigor híbrido (González *et al.*, 2010).

Los genotipos seleccionados son aquellos que muestran tener mayor adaptabilidad y productividad, considerándose parámetros como la conversión alimenticia, ganancia diaria de peso vivo y por último el rendimiento de la canal, por ello se analizan y realizan cruzamientos selectivos con razas importadas especializadas (Romualdo *et al.*, 2004; Vilaboa *et al.*, 2010) en muchos casos aplicándose biotecnologías tales como la inseminación artificial, enfrentando con ello algunas restricciones como la preservación y criopreservación del semen.

La criopreservación de semen a pesar de ser muy utilizada en cualquier especie implica la pérdida de la calidad seminal (Watson, 2000; Yoshida, 2000). Uno de los organelos más importante en el espermatozoide es la mitocondria, por su relación con la energía del espermatozoide y motilidad (Mazur *et al.*, 2000).

La motilidad espermática es de alta importancia debido a la distancia que tiene que recorrer el espermatozoide del sitio de eyaculación o inseminación, hasta el

sitio de fertilización en el útero ovino (Bilodeau *et al.*, 2002; Turner, 2003). Para la fertilización del ovocito también son esenciales una membrana plasmática y acrosoma intactos, cuando hay un daño en alguna de esas estructuras se reduce la fertilidad (Mazur *et al.*, 2000). El daño en el ADN de los espermatozoides refrigerados o criopreservados, es causado al momento de la preservación del semen (Aitken y Baker, 2004).

En el proceso de preservación se ha demostrado, que resulta en un daño en la membrana estructural del espermatozoide, lo que origina la generación de estrés tanto químico como físico. Existe evidencia en que el daño causado por la preservación del semen de carnero es causado por la peroxidación de las membranas lipídicas, lo que resulta en un aumento en las especies reactivas a oxígeno (ROS) (Güngör *et al.*, 2024), causando estrés oxidativo, lo que a su vez provoca daños en la membrana y ruptura de la cadena del ADN en el núcleo de los espermatozoides (Aitken *et al.*, 2009; Guthrie y Welch, 2006).

Los resultados de diferentes investigaciones han mostrado que la adición de aminoácidos como la glutamina en semen criopreservado actúa como un agente crioprotector aumentando la motilidad posterior a la descongelación (Santiago *et al.*, 2019). Ugur (2020), demostró que el ácido glutámico protege la membrana plasmática de cualquier daño oxidativo actuando, así como un antioxidante.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Origen y domesticación de los ovinos

Cuando el ser humano comenzó su vida sedentaria aproximadamente hace unos 12,000 años a.C, iniciando con el cultivo de plantas y la impronta de animales. consecuente a esto varias poblaciones humanas aprendieron a domar y controlar la conducta de ciertas especies que cazaban, iniciando con ello el proceso de domesticación. Siendo bastante probable que dentro de las primeras especies domesticadas fueran las ovejas, hace aproximadamente 10,000 años a finales del periodo mesolítico (Ryder, 1984; Simm, 1998).

Se cree que el amansamiento de los ovinos inició en Asia, de donde la especie migro ya domesticada con rumbo a países africanos y europeos. Siendo fundamentalmente tres razas los ancestros principales, *Ovis arkal* el cual es probablemente la más antigua descrita en la historia, *Ovis musimon* que dio origen a las razas europeas y el *Ovis ammotragus* que originó las razas africanas. La cruce de estas tres líneas ovinas dio origen al antecesor principal de las razas ovinas que conocemos en la actualidad el *Ovis aries palustris* llamado carnero de las estepas de Asia (Mariante y Calcavante, 2000).

El adiestramiento y doma en conjunto con las modificaciones en el medio ambiente originó diversas transformaciones que permitieron a la especie desarrollarse y sobrevivir en un entorno donde la selección natural era reducida (Ryder, 1984). En base a lo antes descrito se crearon variados y pequeños grupos los cuales enfocaban sus conocimientos empíricos a la elección de estos animales cuyas características eran deseables para el humano (Ryder, 1984; Mariante y Calcavante.,2000). El conocimiento adquirido durante la domesticación mostro al ser humano las cualidades idóneas de selección para aplicar cruzamientos selectivos que dieran origen a razas cuyo potencial genético fuera el adecuado para adaptarse al medio en que se desarrolle y a su vez estos sean capaz de satisfacer sus requerimientos básicos (Mariante y Calcavante, 2000).

En la actualidad la explotación de ovinos es representativa del gran potencial económico y social de diversos países, esta se da en mayor medida en el continente europeo, en comparación a países tropicales. (Paiva *et al.*, 2005).

Gracias al aprendizaje del hombre a lo largo de los años el abastecimiento de productos cárnicos, lácteos, lana, piel, huevo y fertilizantes naturales, garantizan con ello la manutención del entorno familiar (FAO, 2007). la manufacturación de los productos de origen animal dentro del ámbito industrial no es capaz de abastecer las necesidades de materia prima de la población sin alterar el medio ambiente (Arredondo Ruiz, 2013).

La raza Dorper fue creada en 1930 en la región semi árida de Karoo sur África (Cloete *et al.*, 2000; Milne, 2000; Zishiri *et al.*, 2013), para que pudiera resistir al medio ambiente árido de la zona, siendo capaz simultáneamente de poder producir una carne de buena calidad (Ramsay *et al.*, 2000). Es así como la cruce de la raza Dorset horn conocida por su calidad de producción de carne y la raza Persian que tiene una buena adaptación al clima árido, crearon la característica oveja cabeza negra y cuerpo blanco (raza Dorper). La raza Dorper es un conjunto de adaptaciones a varias condiciones climáticas, tiene una fertilidad alta y un alto crecimiento bajo las condiciones extensivas de las regiones africanas, produce una carne de calidad con un buen marmoleo convirtiendo la raza en una buena elección para producción de carne (Cloete *et al.*, 2000; Milne, 2000; Schoeman, 2000; Wanjala *et al.*, 2023; Ojango, 2023).

## **2.2. Importancia nacional de ovinos**

Para el 2016, 118 mil toneladas de ganado ovino en pie fueron producidas en la nación, de estas aproximadamente 60, 300 se destinaron al sacrificio y distribución en canal. El 95 % de la producción cárnica ovina es consumida como el típico platillo denominado barbacoa. Siendo México el principal estado productor de carne a nivel nacional el cual produce el 30 por ciento del total nacional, en segundo lugar, se encuentra Hidalgo con un 25 por ciento, ultimando con Veracruz el cual cuenta con el 15 por ciento de la producción total.

Actualmente el inventario nacional de ovinos es 8,805,206, del año 2012 al 2022 aumentó 307,859 cabezas de animales (SIAP, 2022). La región lagunera cuenta con un inventario de 12,879 ovinos de los cuales se producen 688 toneladas de carne ovina en la región de Coahuila (SIAP, 2022). Es así la ovinocultura se ha considerado en primera instancia como una opción productiva para su desarrollo en climas áridos o semiáridos, debido a la gran capacidad de adaptación incluso en condiciones adversas (SIAP, 2022; Martínez *et al.*, 2010; SADER, 2017).

A pesar del alto consumo en barbacoa, el resto de los cortes cárnicos de carne ovina no tiene el mismo auge en cuanto a consumo siendo que en los últimos 25 años el consumo nacional presenta una fluctuación de entre 500 y 950 g/año/per cápita (Partida *et al.*, 2017). El consumo per cápita de borrego ha venido decreciendo en las recientes décadas mundialmente, esto obligando a la industria de producción de carne de borrego a ser más competitiva para el mercado (FAO, 2022).

El módico aporte de carne ovina entre los artículos básicos de consumo alimenticio de México es revelado por diversos aspectos:

- 1.- El precio es eminente con relación a otras carnes (pollo y cerdo).
- 2.- El 90 % del consumo de carne ovina consiste en el consumo de barbacoa, la cual es un platillo ocasional
- 3.- Su mercado es constante durante todo el año (elevándose su consumo y demanda durante el último trimestre), cuya importación (en pie o canal) está directamente relacionada con el precio del dólar.

En base a lo establecido, se calcula que para mantener un inventario de 750 g/persona en el año 2016, era necesaria la producción nacional de 60,000 t de carne ovina, para lo cual es necesaria la importación de más 30,000 ton de carne en canal, para lo cual es necesaria una inversión aproximada de 3,000 millones de pesos (Partida *et al.*, 2017). Por lo anterior, se requiere que la cría ovina sea competitiva (Martínez *et al.*, 2010).



Con base en la demanda alimenticia de carne ovina, gran parte de los productores han establecido diversas técnicas y programas de mejoramiento genético con cruzamientos selectivos, con líneas seleccionadas estratégicamente a fin de aprovechar su alto valor genético, cuya progenie expresa su vigor híbrido al mostrar grandes características reproductivas y productivas incluso en condiciones climáticas adversas desde climas áridos hasta templados (Ermias y Rege, 2003; Zaitoun *et al.*, 2005).

### **2.3. Reproducción en ovinos**

#### **Estacionalidad reproductiva de los carneros**

Las especies que presentan un ciclo reproductivo estacional desarrollan alternativas fisiológicas que les permiten mostrar los periodos aptos para la reproducción en los periodos del año que permita que el nacimiento de sus crías sea en épocas con mejor disponibilidad de alimento y temperatura (Goldman, 2001; Smith, 2012). Este fenómeno ocurre principalmente, a causa del fotoperiodo y alteraciones de duración del día, y llega a ser regulado por diversos factores, los cuales serían; temperatura ambiental, nutrición, relaciones y acercamiento con el sexo opuesto, tiempo de duración del parto y lactancia (Rosa y Bryant, 2003).

La principal hormona que regula la estacionalidad en la reproducción de los mamíferos es la melatonina (Malpoux *et al.*, 2001; Clarke *et al.*, 2009). La regulación reproductiva de la melatonina en los animales depende de la concentración sanguínea y varía entre las especies estacionales. Las especies consideradas de días cortos, como los pequeños rumiantes y búfalos, presentan su estación reproductiva al final del verano, otoño e invierno, cuando el periodo oscuro durante el día es mayor que el periodo de luz y así ocurre una mayor síntesis de melatonina (Abecia *et al.*, 2012).

Durante la estación reproductiva la melatonina puede realizar sus acciones regulatorias de la reproducción, principalmente de dos formas.

- La vía principal es por la inducción de una mayor liberación de hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) gracias a el hipotálamo.
- Consecuentemente a través de las hormonas folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH) por la adenohipófisis.

Tanto como la FSH como la LH son responsables del desenvolvimiento, activación y estimulación de las gónadas, que producen las hormonas sexuales y el desarrollo de los gametos (Malpaux *et al.*, 2001; Clarke *et al.*, 2009). Por lo tanto, la melatonina puede actuar directamente sobre los testículos (Li, *et al.*, 1998), los espermatozoides (Casao *et al.*, 2012) y el plasma seminal (Casao *et al.*, 2010), haciendo uso de los receptores de membrana para ayudar a una mejor conservación y calidad espermática.

#### **2.4. Espermatogénesis**

La espermatogénesis es un proceso de diferenciación y renovación celular regulada que consiste en una renovación propia y diferenciación de células madre espermatogoniales (SSCs), la meiosis espermatocítica y espermatogénesis; cada uno de estos procesos es esencial para la producción exitosa continua de gametos masculinos (Senger, 1997; Nishimura y L'Hernault 2017).

Desde el nacimiento del macho, en el semental existen unas células, llamadas germinativas, llamados gonocitos, así mismo tienen los túbulos seminíferos, los túbulos son diminutos y faltantes de lumen al nacimiento por lo que no inicia la liberación celular (Johnson *et al.*, 2000). Los túbulos seminíferos están rodeados por tejido intersticial compuesto principalmente por células mesenquimales precursoras de las células de Leydig, existen poblaciones de células compuestas por los gonocitos y células de soporte que posteriormente generaran las células de Sertoli que son originadas del mesodermo (Zomboni y Upadhyay, 1982; Galina, 2021).

Previo la pubertad en el macho se empieza a manifestar la diferenciación celular, en primer lugar por la presencia de espermatoцитos primarios, estos generalmente

son degenerados en la fase de paquitermo ya que no tiene un estímulo hormonal, cuando la pubertad empieza a aparecer, las espermatogonias empiezan a dividirse de una manera muy acelerada mediante mitosis, al mismo tiempo en el espacio intersticial las células mesenquimales empiezan su proceso de diferenciación, dando origen a las células de Leydig (Galina, 2021).

La cantidad de población de las células de Sertoli está determinada desde la última fase de la gestación y después del nacimiento, dependiendo de la producción de FSH. Esta relación crea un patrón de multiplicación dando como resultado una población determinada después de la pubertad y fija en cantidad al curso de toda la vida del macho, a su vez existe una relación directa entre la cantidad de células de Sertoli con la producción de espermatozoides en la vida adulta del semental (Galina, 2021).

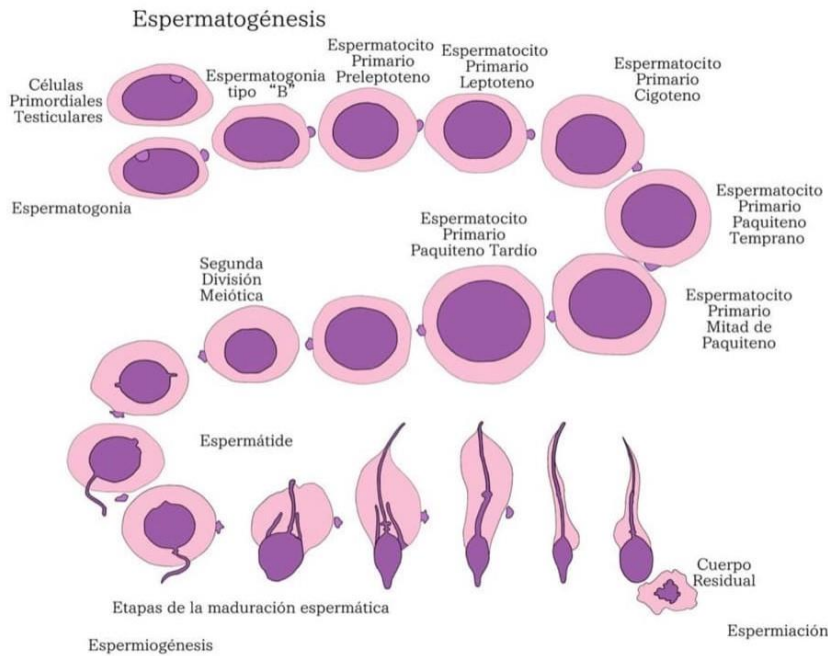
#### **2.4.1. Fases de la Espermatogénesis**

El proceso de la espermatogénesis puede ser dividido en tres fases.

**Fase de proliferación:** Es la primera fase, ocurre luego de la pubertad y a lo largo de la vida reproductiva del macho, consiste en todas las divisiones de la espermatogonia. Muchas generaciones de la espermatogonia son sometidas en divisiones mitóticas de manera muy rápida y después de eso se dividen sucesivamente por mitosis, pasan por las siguientes fases: las A0(células del tronco) después las A1-A4, sucesivamente las intermedias y las del tipo B (Senger, 1997; Galina, 2021).

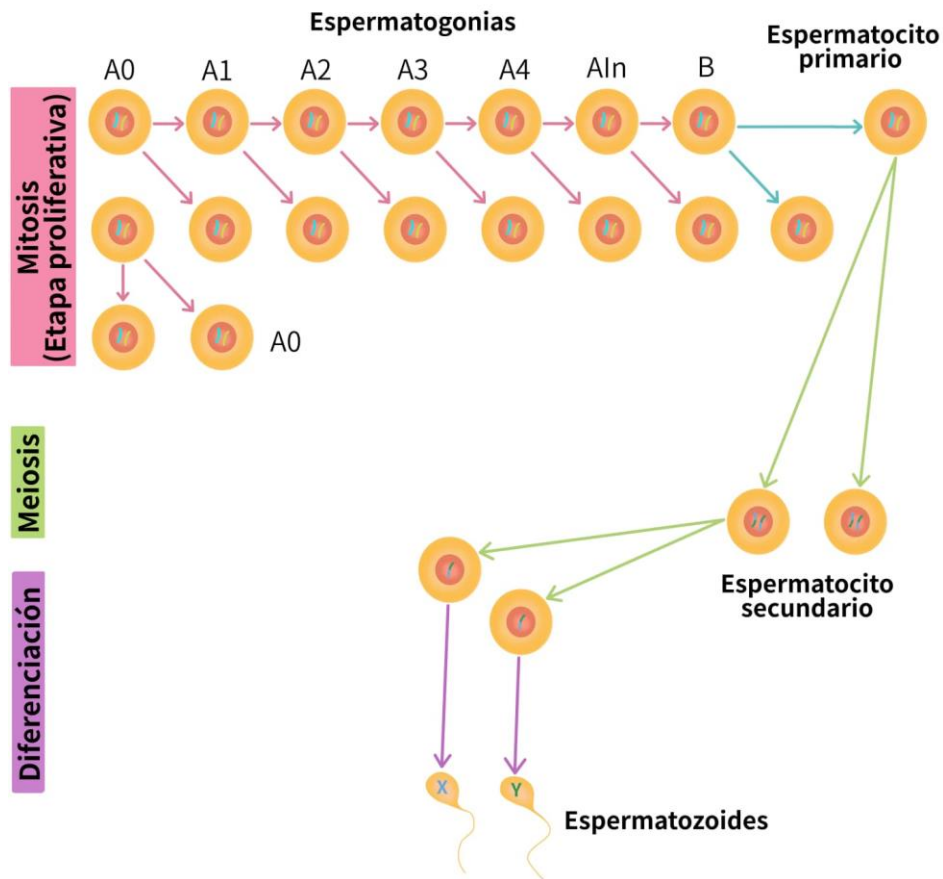
**Fase meiótica:** La segunda fase de la espermatogénesis involucra los espermatozoides primarios y secundarios, en esta fase el material genético se recombina, el espermatocito primario hace la división meiótica inicial que va a crear a los espermatocitos secundarios, después de los espermatocitos secundarios ocurre la fase prolongada en la cual ocurren los cambios de material genético entre los pares de cromosomas, en ese estadio se producen células haploides o sea que existe reducción en el número de cromosomas somáticos, así como pasa la separación de los cromosomas sexuales, de manera que un

espermatozoides secundarios recibe un cromosoma X y otro cromosoma recibe uno Y, en esta fase concluye la fase meiótica de cada espermatozoides (segunda división meiótica) produciendo espermátidas haploides (1N) (Senger, 1997; Galina, 2021).



**Figura 1.** Espermatogénesis (Recuperado de Galina, 2021).

**Fase de diferenciación o fase espermiogénica:** La tercera y parte final de la espermatogénesis, aquí no ocurre ninguna división celular. En esta fase la espermátida esférica indiferenciada se convierte en un espermatozoides completamente con sus partes desarrolladas y estructuralmente equipado para fertilizar al ovulo. Los cambios son llevados a cabo cuando las espermátidas tienen contacto con el citoplasma de las células de Sertoli, gracias a estos cambios se comienzan a diferenciar las partes por las cuales está compuesto un espermatozoides, primeramente, la cabeza está hecha prácticamente solo por el núcleo, el acrosoma u capuchón cefálico, después el cuello y por último la cola (Senger, 1997; Galina, 2021). Los espermatozoides son liberados antes de que la nueva generación de espermatozoides primarios se comience a generar (Hochereau *et al.*, 1987).



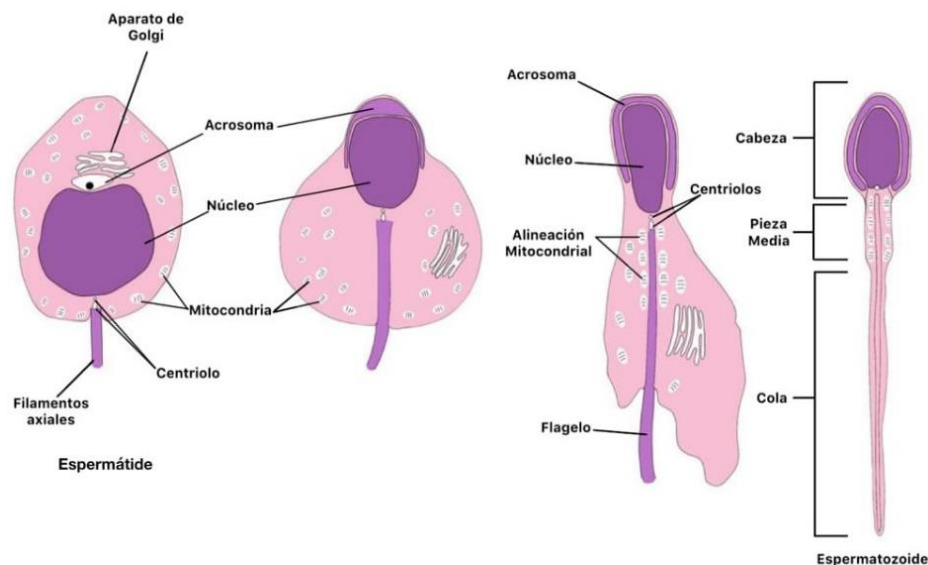
**Figura 2.** Fases de la espermatogénesis (*Recuperado de Galina, 2021*).

Las células de Sertoli al ser las únicas células somáticas presentes en el epitelio seminífero funcionan de sustento, nutrición y control endocrino de las células germinales, así como actúan en el proceso de liberación de los espermatozoides a la luz tubular. De la misma manera, las mismas células de Sertoli realizan acciones de fagocitosis a los cuerpos residuales, significa que una parte del citoplasma del espermatozoide también fagocita las células germinales que se degeneran durante la espermatogénesis. De igual forma las células de Sertoli sintetizan gran cantidad de proteínas una de ellas las proteínas de unión al andrógeno (ABP) encargada de transportar andrógenos al aparato reproductivo, así como transferinas encargadas de transportar hierro necesario para el proceso de respiración celular en las células germinativas y de igual manera las inhibinas

que son responsables de regular la liberación de FSH por la hipófisis, como parte del sistema de retroalimentación negativa (Galina, 2021).

Las células peritubulares o también conocidas como mioides están ubicadas envueltas del túbulo seminífero, ya que se piensa que las células peritubulares promueven la contracción y mantienen la estructural del túbulo integra. Las células peritubulares se empiezan a diferenciar en la pubertad por el efecto de los andrógenos (Galina, 2021). La relación e interacción entre las células Mioides/peritubulares y las células de Sertoli son vitales en el mantenimiento funcional del testículo (Galina, 2021).

Durante la espermatogénesis, espermátidas haploides se someten a cambios extensivos, celular, molecular y morfológicos, incluyendo la biogénesis acrosomal, desarrollo del flagelo, reorganización citoplasmática y condensación cromática. Estos cambios resultan en una espermatozoa madura con una cubierta acrosómica, cabeza y cola motil (Robinson., 2016).



**Figura 3.** Formación y partes del espermatozoide (*Recuperado de Galina 2021*).

La duración de un ciclo de espermatogénesis en los Carneros es de 10.57 días, es el tiempo que tarda desde la primera mitosis de la espermatogonia hasta su estadio de espermatozoide, después de esto los espermatozoides son

transportados a la cola del epidídimo en un periodo de 11 a 15 días (Dolník *et al.*, 2023).

#### **2.4.2. Endocrinología espermática**

La testosterona, es una hormona esteroidea producida por las células de Leydig, es de suma importancia en el mantenimiento y restauración de la espermatogénesis, de la misma manera que es necesaria para desarrollar y mantener las características secundarias del macho. A diferencia de la testosterona la FSH está más enfocada en el macho en la fase de gestación, prepuberal y puberal, donde la espermatogénesis se empieza a desarrollar, en sementales adultos la cantidad de FSH es suficientes para mantener una espermatogénesis normal. Pero la FSH tiene una estrecha relación con los receptores de las células de Sertoli incitando la producción de ABP, así como de inhibina de igual manera la división de células germinales (Galina, 2021).

La FSH estimula la producción de ABP, que forma un complejo con la testosterona. Ese complejo ABP-T es transportado con los espermatozoides hacia adentro del epidídimo, debido a que las células epiteliales del epidídimo requieren concentraciones relativamente altas de testosterona para una buena actividad de maduración espermática (Gardner y Hafez, 2004).

La función de la inhibina consiste en bloquear la liberación de FSH y estimular la secreción de LH, esta secreción en el testículo actúa como secretora de andrógenos por las células de Leydig y como consecuencia estimula la proliferación del epitelio seminífero, debido a que en las células germinales existen receptores específicos para esteroides. Los andrógenos se transportan del espacio intersticial hacia el epitelio seminífero y de ahí son transportados para todo el aparato reproductor del macho, gracias a las proteínas de transporte ABP (Galina, 2021).

La espermatogénesis es controlada por la función del eje hipotálamo-hipófisis-testicular. A pesar de que la FSH aumenta la viabilidad del epitelio seminífero, además de aumentar la multiplicación de las espermatogonias, así como de

andrógenos, los cuales son vitales para la diferenciación del aparato reproductor masculino, ambos necesitan de una elaboración de factores locales y de las interacciones de las células que regulan el crecimiento y diferenciación del tejido. Estos factores locales tienen interacción entre las células de Sertoli, de Leydig y germinativas.

En carneros los macrófagos y varios subtipos de linfocitos son el segundo lugar celular más numeroso en el testículo seguidos de las células de Leydig, los macrófagos al estar íntimamente relacionados con células de Leydig actúan en conjunto en la regulación de la esteroidegénesis (Galina, 2021).

### Variación de volumen testicular y estacionalidad

Los cambios estacionales de las dimensiones testiculares son procedentes por la disminución de LH y el aumento de la secreción de FSH (Avdi *et al.*, 2004; Kafi *et al.*, 2004; Dickson y Sanford, 2005; Barkawi *et al.*, 2006). La principal razón por la cual ocurre el aumento del volumen testicular en la estación reproductiva es por la proliferación de células de Sertoli, las cuales son esenciales para fortalecer el soporte estructural, nutricional y funcional en la diferenciación y proliferación de las células germinativas (Sharpe *et al.*, 2003).

El aumento anterior a la estación reproductiva de FSH puede ser una acción fisiológica del organismo para acrecentar el volumen testicular y aumentar la producción espermática. A lo largo de la estación reproductiva el aumento de LH puede ser debido a la influencia de melatonina activando un perfil predominante de pulsos de alta frecuencia de GnRH que induce la secreción de LH y no de FSH (Dias *et al.*, 2020). Los aumentos de dimensiones testiculares en carnes son sustancialmente influenciados por la estación reproductiva. Por consecuencia el aumento de perímetro escrotal puede tener una moderada correlación negativa establecida con las anomalías de las células espermáticas. Por lo tanto, es posible que a mayor espacio/ volumen testicular en la fase reproductiva permita un menor número de apoptosis celular, además de elevar el aumento de células de Sertoli que aumentan el aporte nutricional y estructural de las células germinativas (Sarlós *et al.*, 2013).



### Tiempo de reacción y la estacionalidad

El tiempo de reacción reproductivo (TR) es el periodo transcurrido desde visualizaciones y contacto con la hembra hasta la primera eyaculación (Chenoweth, 1981). Es un parámetro muy utilizado para analizar el comportamiento sexual del macho reproductor. Este aumento de libido puede ser debido a la mayor concentración de testosterona circulante, ya que esta hormona además de ser responsable de la eficiencia de espermatogénesis también tiene influencia en las manifestaciones de características sexuales secundarias, como las feromonas. Además de eso la testosterona está a niveles más elevados durante la estación de monta y acompaña una tendencia estacional anual de síntesis y secreción (Santiago-Moreno *et al.*, 2005; Todini *et al.*, 2007).

### Síntesis de testosterona y estacionalidad

La hormona de la testosterona es casi exclusivamente producida por las células de (tejido intersticial), pudiendo ser también secretado por la región cortical suprarrenal (Siegel *et al.*, 1992). Dentro de sus funciones reproductivas, se destaca la regulación de las células de Sertoli estimulando los estadios finales de espermatogénesis, prolongando la vida útil de los espermatozoides en el epidídimo, estimulando a los órganos reproductivos secundario a su, y el mantenimiento de las características sexuales secundarias y la de la libido del macho (Gardner y Hafez, 2004). El desarrollo de las espermátidas alargadas a partir de las redondas depende en gran medida de testosterona (Odonnell *et al.*, 1994). La testosterona está directamente involucrada en varios procesos reproductivos y representa fluctuaciones en sus concentraciones plasmáticas entre estaciones reproductivas (Santiago-Moreno *et al.*, 2019; Todini *et al.*, 2007).

Estudios realizados mostraron que la estacionalidad del fotoperiodo esta influenciada fuertemente por la síntesis de testosterona, es decir, que la producción de testosterona es mayor en la estación reproductiva (Santiago-Moreno *et al.*, 2005; Todini *et al.*, 2007).

Durante la estación reproductiva ocurre un aumento de volumen y masa testicular que influyen positivamente en la síntesis de testosterona, para permitir una

perfecta producción de células espermáticas, además de desenvolvimiento de características sexuales secundarias y comportamientos necesarios en la fase reproductiva ya que existe una relación positiva entre la concentración de testosterona plasmática y el perímetro escrotal (Zamiri *et al.*, 2010; Sarlós *et al.*, 2013). Además, también se ha documentado que existe una correlación negativa entre la testosterona y las anomalías espermáticas, mostrando la importancia de esta hormona para una correcta producción de células espermáticas principalmente en las fases finales. El aumento de volumen testicular en la estación reproductiva lleva a una mayor secreción de testosterona para permitir una perfecta producción de células espermáticas, además de desenvolvimiento de características sexuales secundarias y comportamientos necesarios en la fase reproductiva (Odonnell *et al.*, 1994).

#### **2.4.3. La melatonina en la reproducción del macho**

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es sintetizada a partir del triptófano y su principal secretor es la glándula pineal de mamíferos, sin embargo, existen varias estructuras reproductivas periféricas que se producen probablemente para su propio uso (Itoh *et al.*, 1999; Tosini y Fukuhara, 2002). Se ha sugerido que las mitocondrias de las células eucariotas producen melatonina.

Esta hormona sintetizada casi exclusivamente durante la ausencia de luz es uno de los componentes esenciales para la regulación reproductiva de los animales estacionales, ya que todo el eje reproductivo es positiva o negativamente respectivamente influenciado por la melatonina (Reiter *et al.*, 2013).

La aplicación de melatonina exógena a los carneros ha demostrado un aumento en la frecuencia de liberación pulsátil de GnRH y por consecuencia también de LH, FSH y la testosterona (Webster *et al.*, 1991; Rosa *et al.*, 2000). Así una mejoría en la calidad de semen puede ser derivada por las acciones directas de la melatonina sobre los espermatozoides, puede ser como un antioxidante o de manera indirecta con acciones mediadas por LH, FSH y especialmente por testosterona. La presencia de melatonina en el líquido seminal de los ovinos se encuentra en concentraciones más altas que en el suero sanguíneo (Casao *et*

*al.*, 2009), lo que aumenta la posibilidad de que la melatonina tenga acciones directas sobre el esperma (Reiter *et al.*, 2013).

Los receptores específicos de membrana para melatonina, MT1 y MT2 fueron identificados en carneros por inmunohistoquímica agrupados en casi todas las áreas de los espermatozoides, en la cabeza (región ecuatorial y post acrosomal) cuello o pieza de conexión y regiones de la cola (Casao *et al.*, 2012). Estos receptores también fueron identificados en las células del epitelio epididimario, con una densidad regulada por la testosterona e hidrocortisona a (Li *et al.*, 1998). En las ratas la melatonina tiene la función de modular la proliferación del linaje de células epididimarias (Li *et al.*, 1999), o que ayuda a los músculos lisos al movimiento de los espermatozoides en los conductos epididimarios (Reiter *et al.*, 2013).

#### **2.4.4 Parámetros que determinan la calidad seminal en carneros**

##### Volumen

El volumen promedio de los eyaculados de los carneros es de 0.5 a 2 mL como lo menciona Smith (1971) y Balcázar y colaboradores (2009).

##### Concentración

La concentración espermática por mililitro de eyaculado varía de acuerdo con la actividad sexual del carnero, así como la frecuencia de eyaculados, el rango aceptable es de  $2.5 \times 10^9$  a  $6 \times 10^9$  (Gil *et al.*, 2000).

##### Motilidad masal

La motilidad masal o movimiento en remolino se mide en una escala de 0 a 5 (0= inmóvil, 5= movimiento vigoroso), se coloca una gota de semen en un portaobjetos atemperado y se observa en el microscopio bajo el aumento de 40 x (Aller *et al.*, 2024).

##### Motilidad individual

La motilidad individual se determina en porcentaje del 0 al 100 (0%= inmóviles, 100%= movimiento muy vigoroso), se coloca una gota de semen en un

portaobjetos caliente y se observa en el microscopio bajo el aumento de 40 x, se hace un barrido en zig zag contando 10 campos, cada campo con 100 células, para al final determinar el porcentaje de motilidad (Bester *et al.*, 2004).

#### Viabilidad

La viabilidad es expresada en porcentaje y se determina utilizando la tinción eosina/nigrosina, la cual entra en la parte de la cabeza de los espermatozoides no viables, coloreándolos de rojo, y los espermatozoides viables no se tiñen de ningún color, se observa el portaobjetos con un microscopio y se cuentan 200 espermatozoides (Bester *et al.*, 2004; Nascimento y Silva., 2020; Aller *et al.*, 2024).

#### **2.4.5 Las motilidades espermáticas analizadas a través del CASA**

Computer-assisted semen analysis, CASA por sus siglas en inglés, es una tecnología que permite la automaticidad de los parámetros individuales de los espermatozoides en el eyaculado (Amann y Waberski, 2014).

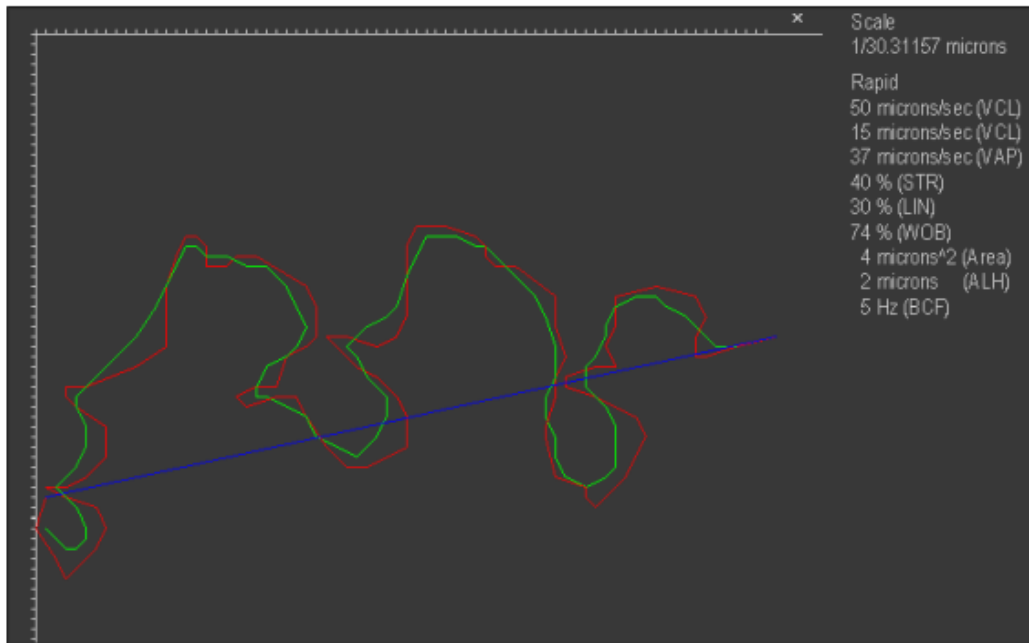
Los Parámetro funcionales y estructurales como motilidad, cinemáticas, viabilidad, integridad acrosómica y del ADN, función mitocondrial, morfología y morfometría son los asociados con el proceso de fertilidad evaluados en el CASA (Gosálvez *et al.*, 2016).

Los parámetros motiles mostrados en el sistema CASA son:

- ✓ **Motilidad progresiva:** Se define como el porcentaje de espermatozoides que muestran un movimiento rectilíneo (Madrugal *et al.*, 2020).
- ✓ **Motilidad total (%):** Relación entre los espermatozoides con motilidad respecto al número total (Rodríguez., 2016).
- ✓ **Motilidad cinemática:** Es la medición de la distancia entre cada punto de la cabeza de un espermatozoide determinado durante el período de evaluación (Soler *et al.*, 2018; Gallagher *et al.*, 2019).
- ✓ **Velocidad curvilínea (VCL,  $\mu\text{m/s}$ ):** Se mide sumando la distancia entre las posiciones del centroide de la cabeza del espermatozoide cuadro por cuadro, dividido por el tiempo transcurrido (Soler *et al.*, 2017).

- ✓ **Velocidad en línea recta (VSL,  $\mu\text{m/s}$ ):** Es la distancia entre el primer y el último punto de la trayectoria del espermatozoide, dividida por el tiempo transcurrido (Soler *et al.*, 2018).
- ✓ **Velocidad de la trayectoria (VAP,  $\mu\text{m/s}$ ):** Velocidad de la cabeza de un espermatozoide a lo largo de su trayectoria media, dividida por el tiempo transcurrido (Soler *et al.*, 2017).
- ✓ **Linealidad (LIN, %):** Es el nivel de progresión lineal calculado como la relación VSL/VCL en porcentaje (Soler *et al.*, 2017; Maulana *et al.*, 2022).
- ✓ **Rectitud media (STR, %):** Es la relación de VSL/VAP para obtener la media (Soler *et al.*, 2017; Maulana *et al.*, 2022).
- ✓ **Oscilación (WOB, %):** Es la oscilación de la trayectoria real respecto de la trayectoria promedio expresada como la relación de VAP/VCL (Soler *et al.*, 2005; Maulana *et al.*, 2022).
- ✓ **Distancia curvilínea (DCL,  $\mu\text{m/s}$ ):** Distancia curvilínea (Palacín *et al.*, 2013; Maulana *et al.*, 2022).
- ✓ **Distancia línea recta (DSL,  $\mu\text{m/s}$ ):** Distancia línea recta (Martí *et al.*, 2011; Maulana *et al.*, 2022).
- ✓ **Distancia promedio más alta (DAP,  $\mu\text{m}$ ):** Se define como la distancia promedio más alta (Maulana *et al.*, 2022).
- ✓ **ALH ( $\mu\text{m}$ ):** Es la magnitud del desplazamiento lateral de la cabeza media por la amplitud de la oscilación sinusoidal aproximada de la cabeza del espermatozoide alrededor del campo (puede considerarse como el valor máximo o el valor medio a lo largo del campo) ( Amann y Katz ., 2004, Soler *et al.*, 2017)
- ✓ **BCF (Hz):** (Kay and Robertson, 1998; Amann y Katz ., 2004; Soler *et al.*, 2017).
- ✓ **Motilidad progresiva rápida (%):** Espermatozoides móviles por mililitro (Amann y Katz, 2004; Valverde *et al.*, 2019).
- ✓ **Motilidad circular progresiva (%):** Los espermatozoides analizados presentan un radio  $>10.0 \mu\text{m}$  y  $0.70 \mu\text{m/sg}$  (Amann y Katz, 2004; Valverde *et al.*, 2019).

- ✓ **Motilidad circular local (%):** de los espermatozoides analizados VSL <10.0  $\mu\text{m/s}$  y VCL (Amann y Katz, 2004; Valverde *et al.*, 2019)
- ✓ **Espermatozoides inmóviles (%):** analiza el porcentaje de espermatozoides que presentan una velocidad curvilínea (VCL) < 24.0  $\mu\text{m/s}$  y ALH < 1.0  $\mu\text{m/s}$  (Amann y Katz, 2004; Valverde *et al.*, 2019).



**Figura 4.** Parámetros cinemáticos presentados por el sistema CASA. La línea roja muestra la velocidad curvilínea (VCL), la línea azul muestra la velocidad en línea recta (VSL) y la línea verde muestra la velocidad de trayectoria promedio (VAP). STR – rectitud ( $= \text{VSL} / \text{VAP} \times 100$ ); LIN – linealidad ( $= \text{VSL} / \text{VCL} \times 100$ ); WOB – oscilación ( $= \text{VAP} / \text{VCL} \times 100$ ); ALH – amplitud del desplazamiento lateral de la cabeza; BCF – frecuencia de cruce de pulso (*Recuperado de Valverde et al., 2020*).

**Cuadro 1.** Variables cinemáticas de los espermatozoides del carnero (Adaptado de Valverde, et al., 2020).

Especie	VCL, $\mu\text{m/s}$	VSL, $\mu\text{m/s}$	VAP, $\mu\text{m/s}$	LIN, %	STR, %	WOB, %	ALH, $\mu\text{m}$	BCF, Hz
Borrego	101.3 $\pm$ 2.1	72.6 $\pm$ 2.5	82.1 $\pm$ 2.6	67.0 $\pm$ 1.4	82.5 $\pm$ 0.8	78.4 $\pm$ 1.2	2.8 $\pm$ 0.1	8.5 $\pm$ 0.2

**Cuadro 2.** Variables morfométricas del espermatozoide de carnero (Adaptado de Valverde et al., 2020).

Especie	Area, $\mu\text{m}^2$	Perimetro, $\mu\text{m}$	Largo, $\mu\text{m}$	Ancho, $\mu\text{m}$	Elipticidad	Elongación
Borrego	27.3 $\pm$ 1.69	21.7 $\pm$ 2.11	8.1 $\pm$ 0.25	4.2 $\pm$ 0.17	1.9 $\pm$ 0.10	0.3 $\pm$ 0.07

#### 2.4.6 Aditivos en el semen

Diferentes tipos de proteínas están presentes en el epidídimo compuestas de diferentes aminoácidos los cuales son descritos en la figura 5:

Aminoácido	Fórmula Química
Lisina	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
Histidina	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>
Arginina	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
Cisteína	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> S
Treonina	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>
Serina	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>
Ácido glutámico	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>
Prolina	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>2</sub>
Glicina	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>
Alanina	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>
Cistina	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub> S
Valina	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>
Metionina	C <sub>5</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub> S
Isoleucina	C <sub>6</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>2</sub>
Tirosina	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>
Fenilalanina	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>
Triptófano	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>

**Figura 5** Aminoácidos presentes en el semen

En particular el ácido glutámico o glutamato tiene un rol significativo en el metabolismo que se lleva a cabo para producir ATP como moneda energética para la motilidad espermática. El espermatozoide debe de ser acompañado y/o complementado con un líquido plasmático o espermático de calidad porque por que se reflejará en la fertilidad (Susetyarini *et al.*, 2015).

El ácido glutámico es necesario en el metabolismo del espermatozoide, los bajos niveles de ácido glutámico resulta en una reducción en la motilidad espermática. El ácido glutámico protege la membrana plasmática de cualquier daño causado por la peroxidación lipídica, este mecanismo representa mecanismos de antioxidantes para prevenir los radicales libres (Ugur *et al.*, 2020).

El óxido nítrico neutraliza el superóxido producido normalmente por el espermatozoide durante el proceso de consumo de oxígeno, ya que el espermatozoide al ser eyaculado empieza a consumir oxígeno. Cuando existe una cantidad excesiva de superóxido afecta el peróxido de la membrana de fosfolípidos de los espermatozoides lo que termina causando una falla en la función normal de la célula. La producción de peróxido lipídico en la membrana espermática se puede prevenir al aumentar la producción de óxido nítrico a través del ácido glutámico. El ácido glutámico actúa como bloqueador y previene todos los agentes que inhiben el proceso de fracción de azúcar del espermatozoide. Este factor aumenta la actividad metabólica y aumenta la disponibilidad de energía (Susetyarini *et al.*, 2015).

En los diferentes mamíferos ha sido investigado que la adición de glutamina al semen como un agente crioprotector aumenta la motilidad seminal descongelado (Santiago *et al.*, 2019).

Ugur *et al.* (2020) reportaron que la abundancia del ácido glutámico puede llegar a tener efectos protectores en el semen durante la refrigeración y criopreservación.

El glutamato también participa en aspectos reproductivos de los machos, es considerado el principal neurotransmisor en el sistema nervioso central estimulando la expresión del comportamiento sexual por su acción en las neuronas GnRH. Además, es probable que el glutamato, por influencia de la kisspeptina, la dopamina, las catecolaminas y la liberación de óxido nítrico, regule la producción de andrógenos a través de interacciones con las células GnRH en el MPOA, que, a su vez, afectan la liberación de LH en la hipófisis anterior (Calderón *et al.*, 2019).



### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Animales experimentales y obtención de eyaculados**

Se utilizaron un total de 21 eyaculados, obtenidos de dos carneros de la raza Dorper (10 meses de edad y 3.5 unidades de condición corporal (escala de 1 a 5)), en la posta caprina dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (25.5° LN, 103.3° LO). Se realizó la extracción seminal, dos veces por semana a través de una vagina artificial y en presencia de una oveja en celo. Los eyaculados recolectados por día fueron llevados al laboratorio donde, se pusieron a baño María (37° C) y se analizaron para determinar el volumen, la motilidad masal, la concentración y la viabilidad espermática.

#### **3.2. Dilución, evaluación inicial de la calidad seminal y tratamientos**

Después del análisis se diluyó el semen en relación 1:1, utilizando un diluyente comercial (Optixcell) preparado de acuerdo con las especificaciones del producto. Posteriormente se dividió el volumen total de la muestra diluida en cuatro partes iguales, para agregar 10, 20 o 30 µl/ml de ácido glutámico (concentración de 0.08 gramos por mililitro) y a la cuarta muestra no se le adicionó ácido glutámico (0) para considerarla como testigo; previo a la adición de los tratamientos se verificó que se mantuviera una temperatura de 37° C y pH neutro.

#### **3.3. Evaluación de la motilidad espermática**

Una vez que se aplicaron los tratamientos a las muestras de semen, se realizó el análisis de motilidad espermática utilizando el software CASA (Análisis de Semen Asistido por Computadora; AndroVision®, Minitube, México). Se colocó 5 µl de muestra en un portaobjetos y se examinaron a ×10 (contraste de fase negativo) en un microscopio con una platina calentada (37°C). De cada muestra, el software representó el porcentaje de espermatozoides móviles y los parámetros cinemáticos estándar de CASA: motilidad total (%), motilidad progresiva (%), motilidad progresiva rápida (%), progresiva lenta (%), circular progresiva (%), circular lenta (%), local (%) y de los espermatozoides inmóviles (%). Posteriormente se procedió a refrigerar el semen utilizando la técnica de

enfriamiento de acuerdo con lo descrito por Saha et al., 2022 y a cada hora hasta las 4 h nuevamente se realizó el análisis de motilidad espermática considerando todos los parámetros anteriormente descritos.

### **3.4. Análisis estadístico**

Los datos fueron analizados en análisis de varianza utilizando el procedimiento del Modelo Lineal General (PROC GLM). Para determinar el efecto del tratamiento, se evaluó mediante la comparación de medias mediante la prueba de Duncan, utilizando el paquete estadístico SAS 9.0 (Inst. Cary, NC, Estados Unidos de América).

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Diferentes autores han publicado sobre el contenido de aminoácidos y uso de antioxidantes, aditivos o reactivos en el semen, buscando una alternativa para la prevención de baja de motilidad en el semen refrigerado y congelado. Al respecto, recientemente Güngör *et al.* (2024) han demostrado que la L-carnosina tiene un efecto de protección en la membrana, lo que ayuda a prevenir el daño acrosomal. Así mismo, Dolník *et al.* (2023) reportaron que el Selenio y la vitamina E al tener una mayor disponibilidad en el animal, producen una mejor maduración espermática, así como una mejora en las propiedades morfológicas del semen. También se ha reportado que la Glutamina que acompañada de un azúcar produce una ligera mejora en la viabilidad espermática (Tuncer *et al.*, 2011).

En el cuadro 3 se representa la media del porcentaje de los movimientos rectilíneos de los espermatozoides de ovinos Dorper, en semen fresco a los grupos que se les adicionó glutamato (10, 20 y 30) mostraron un porcentaje similar de movimientos rectilíneos en comparación con el grupo testigo ( $75.2 \pm 2.87$  vs  $73.2 \pm 3.1$ ,  $p > 0.05$ ). De igual manera después de las cuatro horas de refrigeración del semen a los grupos que se les adicionó ácido glutámico mostraron un porcentaje similar de movimientos rectilíneos en comparación con el grupo testigo ( $74.7 \pm 3$  vs  $71.9 \pm 3.5$ ,  $p > 0.05$ ).

**Cuadro 3.** Media ( $\pm$ em) del porcentaje de movimientos rectilíneos de espermatozoides de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y cada hora durante cuatro horas de refrigeración.

		Concentración de glutamato ( $\mu$ l)			
		0	10	20	30
Fresco		73.19 $\pm$ 3.16	76.93 $\pm$ 2.95	75.73 $\pm$ 2.32	73.22 $\pm$ 3.35
Refrigerado	1	73.59 $\pm$ 3.17	75.76 $\pm$ 0.53	72.50 $\pm$ 3.48	73.88 $\pm$ 2.86
	2	73.69 $\pm$ 2.88	73.83 $\pm$ 3.41	74.54 $\pm$ 3.41	74.63 $\pm$ 3.13
	3	71.12 $\pm$ 4.85	75.23 $\pm$ 2.65	75.71 $\pm$ 2.65	76.20 $\pm$ 3.69
	4	69.01 $\pm$ 5.6	73.87 $\pm$ 3.48	76.39 $\pm$ 3.88	73.71 $\pm$ 3.52

El ácido glutámico naturalmente es considerado como el principal neurotransmisor en el sistema nervioso central, participando en aspectos reproductivos, por la acción que tiene en las neuronas de GnRH (Meza-Herrera., 2012). Este aminoácido aumenta la actividad neuronal que facilita la erección del pene, la pubertad y el comportamiento reproductivo en mamíferos (Calderón *et al.*, 2019). De igual manera la testosterona, es vital para el mantenimiento y restauración de la espermatogénesis, además de que son necesarias concentraciones relativamente altas de testosterona para la maduración espermática, obteniendo así una célula sana, capaz de tener una motilidad necesaria para la fertilización (Gardner y Hafez, 2004).

En la presente investigación el porcentaje de motilidad progresiva de los espermatozoides de ovino Dorper (Cuadro 4), en semen fresco a los grupos que se les adicionó ácido glutámico mostraron un porcentaje similar de motilidad progresiva en comparación con el grupo testigo (74.9 $\pm$ 1.95 vs 72.8 $\pm$ 3.24,  $p > 0.05$ ). De la misma manera, después de las cuatro horas de refrigeración del semen los grupos a los que se les adicionó ácido glutámico mostraron un porcentaje de motilidad progresiva similar que el grupo testigo (73.8 $\pm$ 3.19 vs 72.8 $\pm$ 4.05,  $p > 0.05$ ).

**Cuadro 4.** Media ( $\pm$ em) del porcentaje de motilidad progresiva de espermatozoides de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y *cada hora durante cuatro horas de refrigeración*.

		Concentración de glutamato ( $\mu$ l)			
		0	10	20	30
Fresco		72.82 $\pm$ 3.24	76.45 $\pm$ 3.06	75.60 $\pm$ 2.34	72.57 $\pm$ 3.47
Refrigerado	1	70.22 $\pm$ 4.47	75.25 $\pm$ 2.51	71.89 $\pm$ 3.56	73.04 $\pm$ 2.88
	2	73.17 $\pm$ 2.95	73.10 $\pm$ 3.46	74.03 $\pm$ 3.02	74.26 $\pm$ 3.15
	3	70.34 $\pm$ 4.89	70.70 $\pm$ 4.24	75.31 $\pm$ 2.37	75.78 $\pm$ 3.81
	4	73.55 $\pm$ 4.14	73.21 $\pm$ 4.01	75.80 $\pm$ 2.24	73.24 $\pm$ 3.58

Basado en esta información formulamos la hipótesis del presente estudio que el ácido glutámico podría mejorar o mantener la motilidad espermática en semen refrigerado. Al respecto, Aitken-Vernet (1998), reportó que el ácido glutámico actúa como un antioxidante en el proceso de estrés celular, previniendo el daño celular y el estrés oxidativo, de esta manera ayuda a mantener la actividad de las mitocondrias y a disminuir el daño en el ADN, lo que resulta en una mayor fertilidad.

En el cuadro 5 se representa la media del porcentaje de motilidad progresiva rápida de los espermatozoides de ovinos Dorper. En semen fresco a los grupos que se les adicionó ácido glutámico mostraron un porcentaje similar de movimientos rectilíneos en comparación con el grupo testigo (74.9 $\pm$ 2.95 vs 72.8 $\pm$ 3.24,  $p > 0.05$ ). De la misma manera, después de las cuatro horas de refrigeración del semen a los grupos que se les adicionó ácido glutámico mostraron un porcentaje similar de motilidad progresiva rápida en comparación con el grupo testigo (73.7 $\pm$ 3.19 vs 71.8 $\pm$ 4.05,  $p > 0.05$ ).

**Cuadro 5.** Media ( $\pm$ em) del porcentaje de motilidad progresiva rápida de espermatozoides de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y cada hora durante cuatro horas de refrigeración.

		Concentración de glutamato ( $\mu$ l)			
		0	10	20	30
Fresco		72.82 $\pm$ 3.24	76.45 $\pm$ 3.06	75.60 $\pm$ 2.34	72.57 $\pm$ 3.47
Refrigerado	1	70.22 $\pm$ 4.47	75.25 $\pm$ 2.51	71.89 $\pm$ 3.56	73.04 $\pm$ 2.88
	2	73.17 $\pm$ 2.95	73.10 $\pm$ 3.46	74.03 $\pm$ 3.02	74.26 $\pm$ 3.15
	3	70.34 $\pm$ 4.89	70.70 $\pm$ 4.24	75.31 $\pm$ 2.37	75.78 $\pm$ 3.81
	4	73.55 $\pm$ 4.14	73.21 $\pm$ 4.01	75.80 $\pm$ 2.24	73.24 $\pm$ 3.58

Susetyarini *et al.* (2015), demostraron que el ácido glutámico tiene un rol significativo en el metabolismo como fuente de energía para la motilidad espermática, sus bajos niveles son relacionados con una reducción en la motilidad espermática. Sin embargo, en los resultados de la presente investigación sobre los movimientos rectilíneos, motilidad progresiva y motilidad progresiva rápida (Cuadros 3, 4 y 5) en donde los grupos a los que se les adicionó ácido glutámico, aunque numéricamente superan al grupo testigo no se lograron observar diferencias significativas ( $p > 0.05$ ). Diversas funciones del Glutamato en la reproducción han sido señaladas una de ellas es la influencia que ejerce en la kisspeptina, dopamina, catecolaminas y la liberación de óxido nítrico (Calderón *et al.*, 2017).

En el cuadro 6 se representa la media del porcentaje de motilidad progresiva lenta de los espermatozoides de ovino Dorper, en semen fresco a los grupos que se les adicionó ácido glutámico mostraron un porcentaje similar de motilidad progresiva lenta en comparación con el grupo testigo (18.8 $\pm$ 2.43 vs 17.32 $\pm$ 1.96,  $p > 0.05$ ). De la misma manera, después de las cuatro horas de refrigeración del semen a los grupos que se les adicionó ácido glutámico mostraron un porcentaje similar de motilidad progresiva lenta en comparación con el grupo testigo (16.8 $\pm$ 2.83 vs 15.1 $\pm$ 2.67,  $p > 0.05$ ).

**Cuadro 6.** Media ( $\pm$ em) del porcentaje de motilidad progresiva lenta de espermatozoides de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y cada hora durante cuatro horas de refrigeración.

		<b>Concentración de glutamato (<math>\mu</math>l)</b>			
		0	10	20	30
Fresco		17.32 $\pm$ 1.96	17.57 $\pm$ 2.21	18.35 $\pm$ 2.39	20.41 $\pm$ 2.70
Refrigerado	1	17.55 $\pm$ 3.28	18.61 $\pm$ 3.48	17.56 $\pm$ 3.07	19.94 $\pm$ 3.75
	2	15.31 $\pm$ 2.57	17.20 $\pm$ 2.66	17.14 $\pm$ 2.59	18.16 $\pm$ 3.35
	3	13.94 $\pm$ 2.60	15.78 $\pm$ 2.66	17.03 $\pm$ 3.03	14.44 $\pm$ 2.09
	4	13.70 $\pm$ 2.40	14.04 $\pm$ 1.99	17.40 $\pm$ 3.11	14.51 $\pm$ 2.92

Diversas funciones del ácido glutámico en la reproducción han sido señaladas una de ellas es la influencia que ejerce en la kisspeptina, dopamina, catecolaminas y la liberación de óxido nítrico (Calderón *et al.*, 2017). Al respecto, se ha reportado que el óxido nítrico es el mismo que neutraliza el superóxido producido normalmente por el espermatozoide durante el proceso respiración celular. Cuando por el estrés se produce una cantidad excesiva de superóxido afecta la membrana de fosfolípidos de los espermatozoides causando así daños irreparables en la célula hasta producir su muerte. Al tener un antioxidante como el glutamato la célula no muere, debido a que el glutamato incrementa la actividad metabólica y aumenta la energía disponible del espermatozoide permitiendo así su movimiento y actividad normal (Susetyarini *et al.*, 2015). Con anterior podemos considerar que la concentración utilizada de ácido glutámico (0.08 gramos por mililitro) no fue suficiente para hacer que se mostrara una diferencia significativa ( $p > 0.05$ ) en la motilidad espermática, es decir, no se logró reflejar la propiedad antioxidante de ácido glutámico que protegiera a la célula.

Numéricamente es evidenciado en los resultados que se muestran en el cuadro 8 en donde el porcentaje de espermatozoides inmóviles es mayor en el grupo testigo en comparación en los grupos adicionados con glutamato, puesto que el proceso de muerte celular es inevitable.

En el cuadro 7 se muestra la media del porcentaje de motilidad local de los espermatozoides de ovinos Dorper, en el semen fresco a los grupos que se les adicionó ácido glutámico mostraron un porcentaje similar de motilidad local en comparación con el grupo testigo ( $0.51\pm 0.11$  vs  $0.50\pm 0.09$ ,  $p>0.05$ ). De la misma manera, después de las cuatro horas de refrigeración del semen a los grupos que se les adicionó ácido glutámico mostraron un porcentaje similar de motilidad local en comparación con el grupo testigo ( $0.55\pm 0.18$  vs  $0.53\pm 0.55$ ,  $p>0.05$ ).

**Cuadro 7.** Media ( $\pm$ tem) del porcentaje de motilidad local de espermatozoides de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y cada hora durante cuatro horas de refrigeración.

		Concentración de glutamato ( $\mu$ l)			
		0	10	20	30
Fresco		$0.50\pm 0.09$	$0.50\pm 0.12$	$0.40\pm 0.08$	$0.64\pm 0.14$
Refrigerado	1	$0.77\pm 0.19$	$0.51\pm 0.10$	$0.60\pm 0.55$	$0.56\pm 0.09$
	2	$0.47\pm 0.11$	$0.53\pm 0.14$	$0.57\pm 0.10$	$0.59\pm 0.14$
	3	$0.54\pm 0.14$	$0.63\pm 0.17$	$0.46\pm 0.09$	$0.42\pm 0.15$
	4	$0.35\pm 0.07$	$0.66\pm 0.15$	$0.61\pm 0.49$	$0.47\pm 0.10$

La media del porcentaje de espermatozoides inmóviles de ovinos Dorper, se pueden observar en el cuadro 8. En semen fresco a los grupos que se les adicionó ácido glutámico mostraron un porcentaje similar de espermatozoides inmóviles en comparación con el grupo testigo ( $24.7\pm 2.84$  vs  $26.5\pm 3.20$ ,  $p>0.05$ ). Así mismo, después de las cuatro horas de refrigeración del semen a los grupos que se les adicionó ácido glutámico mostraron un porcentaje similar de espermatozoides inmóviles en comparación con el grupo control ( $25.2\pm 2.99$  vs  $26.7\pm 3.7$ ,  $p>0.05$ ).

**Cuadro 8.** Media ( $\pm$ eeem) del porcentaje de espermatozoides inmóviles de ovinos Dorper, con diferentes concentraciones de ácido glutámico, evaluado en fresco y cada hora durante cuatro horas de refrigeración.

		<b>Concentración de glutamato (<math>\mu</math>l)</b>			
		0	10	20	30
Fresco		26.48 $\pm$ 3.20	23.08 $\pm$ 2.94	24.09 $\pm$ 2.24	26.78 $\pm$ 3.35
Refrigerado	1	26.19 $\pm$ 3.16	24.25 $\pm$ 2.44	27.76 $\pm$ 2.44	26.39 $\pm$ 2.80
	2	25.76 $\pm$ 2.84	25.23 $\pm$ 3.60	25.47 $\pm$ 3.60	24.98 $\pm$ 3.12
	3	28.36 $\pm$ 4.95	25.08 $\pm$ 2.6	24.24 $\pm$ 2.29	23.80 $\pm$ 3.69
	4	26.37 $\pm$ 4.03	26.08 $\pm$ 4.03	22.94 $\pm$ 2.18	26.29 $\pm$ 3.52

## 5. CONCLUSIÓN

El presente estudio evaluó el efecto del ácido glutámico en semen refrigerado de ovinos Dorper. A pesar de que el ácido glutámico es el antioxidante más abundante dentro de los túbulos seminíferos y el neurotransmisor involucrado en la parte de reproducción de los machos, su efecto antioxidante no fue suficiente para mejorar la motilidad espermática en semen refrigerado a una concentración de 0.08 gramos por mililitro.



## 6. REFERENCIAS

- Abecia, J. A., Forcada, F., & González-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal reproduction science*, 130(3-4), 173-179.
- Aitken R.J. & Clarkson J.S. 1987. "Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa". *J. Reprod. Ferti.* 81(2):459-469.
- Aitken, R. J., & Baker, M. A. (2004). Oxidative stress and male reproductive biology. *Reproduction, Fertility and development*, 16(5), 581-588.
- Aller, J. F., Aguilar, D., Vera, T., Almeida, G. P., & R. Alberio. (2024). Seasonal variation in sexual behavior, plasma testosterone and semen characteristics of Argentine Pampinta and Corriedale rams. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 10(2), 345–352. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3930674.pdf>
- Amann, R. P., & Katz, D. F. (2004). Andrology lab corner\*: Reflections on casa after 25 years. *Journal of andrology*, 25(3), 317-325.
- Amann, R. P., & Waberski, D. (2014). Computer-assisted sperm analysis (CASA): Capabilities and potential developments. *Theriogenology*, 81(1), 5–17.e3. doi:10.1016/j.theriogenology.2013
- Arredondo Ruiz, V. (2013). Caracterización morfológica del ovino pelibuey en Colima, México. *REPOSITORIO NACIONAL CONACYT*.
- Avdi, M., Banos, G., Stefos, K., Chemineau, P. (2004). Seasonal variation in testicular volume and sexual behavior of Chios and Serres rams. *Theriogenology*, 62, 275–282.
- Balcázar, J. A. S. & Porras, A. I. A. (2009). Manual de Prácticas en Manejo Reproductivo de Ovinos y Caprinos. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Departamento de reproducción. Págs. 53-58. [https://fmvz.unam.mx/fmvz/licenciatura/coepa/archivos/manuales\\_2013/Manual%20de%20Practicas%20de%20Profundizacion%20en%20Reproduccion%20Animal%20Ovinos%20y%20Caprinos.pdf](https://fmvz.unam.mx/fmvz/licenciatura/coepa/archivos/manuales_2013/Manual%20de%20Practicas%20de%20Profundizacion%20en%20Reproduccion%20Animal%20Ovinos%20y%20Caprinos.pdf)

- Barkawi, A. H., Elsayed, E. H., Ashour, G.; Shehata, E. (2006). Seasonal changes in semen characteristics, hormonal profiles and testicular activity in Zaraibi goats. *Small Ruminant Research*, 66, 209–213.
- Bester, N., Schwalbach, L. M. J., Van der Merwe, H. J., Greyling, J. P. C., & Fair, M. D. (2004). The influence of dietary energy concentrations on scrotal, testicular and semen characteristics of young Dorper rams. *South African Journal of Animal Science*, 34(6).
- Bilodeau, J. F., Blanchette, S., Cormier, N., & Sirard, M. A. (2002). Reactive oxygen species-mediated loss of bovine sperm motility in egg yolk Tris extender: protection by pyruvate, metal chelators and bovine liver or oviductal fluid catalase. *Theriogenology*, 57(3), 1105-1122.
- Calderón-Leyva G, Meza-Herrera CA, Martínez-Rodríguez R, Ángel-García O, Rivas-Muñoz R, Delgado-Bermejo JV, Véliz-Deras FG, Influence of sexual behavior of dorper rams treated with glutamate and/or testosterone on reproductive performance of anovulatory ewes, *Theriogenology* (2017), doi: 10.1016/j.theriogenology.2017.10.016.
- Calderón-Leyva, G., Meza-Herrera, C. A., Rodríguez-Martínez, R., Ángel-García, O., Rivas-Muñoz, R., Delgado-Bermejo, J. V., & Véliz-Deras, F. G. (2019). Effect of glutamate and/or testosterone administration on appetitive and consummatory sexual behaviors in pubertal rams and their influence on the reproductive performance of nulliparous anovulatory ewes. *Journal of Veterinary Behavior*, 30, 96-102.
- Carlos Galina., *Reproducción de los animales domésticos*. (2021). Unam.mx. <https://reproduccionanimalesdomesticos.fmvz.unam.mx/index.html>
- Casao, A., Gallego, M., Abecia, J. A., Forcada, F., Pérez-Pé, R., Muiño-Blanco, T.; Cebrián Pérez, J. A. (2012). Identification and immunolocalisation of melatonin MT(1) and MT(2) receptors in Rasa aragonesa ram spermatozoa. *Reproduction, Fertility and Development*, 24, 953–961.

- Casao, A., Veja, S., Palacín, I., Pérez-Pé, R., Laviña, A., Quintín, F. J., Sevilla, E., Abecia, J. A.; Cebrián-Pérez, J. A., Forcada, F., Muiño-Blanco, T. (2010). Effects of melatonin implants during non-breeding season on sperm motility and reproductive parameters in Rasa Aragonesa rams. *Reproduction in Domestic Animals*, 45, 425–432.
- Chenoweth, P. J. (1981). Libido and mating behavior in bulls, boars and rams. A review. *Theriogenology*, 16, 155-177.
- Clarke, I. J., Smith, J. T., Caraty, A., Goodman, R. L., Lehman, M. N. (2009). Kisspetin and seasonality in sheep. *Peptides*, 30, 154-163.
- Cloete, S.W.P., Snyman, M.A. and Herselman, M.J. (2000) Productive performance of Dorper sheep. *Small Ruminant Research* 36(2), 119–135. DOI: 10.1016/S0921-4488(99)00156-X
- Dias, J. C. O., & Veloso, C. M. (2020). A influencia do fotoperíodo na reprodução do macho caprino e ovino. *Research, Society and Development*, 9(10), e4359108243-e4359108243.
- Dickson, K. A., Sanford, L. M. (2005). Breed diversity in FSH, LH and testosterone regulation of testicular function and in libido of young adult rams on the south eastern Canadian prairies. *Small Ruminant Research*, 56, 189–203.
- Dolník, M., Mudroňová, D., Lazar, G., Kadaši, M., Horňáková, L., & Mudroň, P. (2023). The effect of a single dose of selenium with vitamin E on oxidative stress and fertilization indicators of ram sperm over the course of spermatogenesis. *Acta Veterinaria Brno*, 92(3), 259-265.
- Ermias, E. and J. Rege. 2003. Characteristics of live animal allometric measurements associated with body fat in fat tailed sheep. *Livestock Production Science*. 81: 271-281.
- FAO. 2007. Domestic animal diversity. Disponible en: <http://dad.fao.org>

- Gallagher, M. T., Cupples, G., Ooi, E. H., Kirkman-Brown, J. C., & Smith, D. J. (2019). Rapid sperm capture: high-throughput flagellar waveform analysis. *Human Reproduction*, 34(7), 1173-1185.
- Gardner, D. L.; Hafez, E. S. E. (2004). Espermatozoide e plasma seminal. In: Hafez, E. S. E. & Hafez, B. (Ed.) *Reprodução Animal*. 7.ed. São Paulo: Manole, 97-110.
- 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.
- Goldman, B. D. (2001). Mammalian photoperiodic system: formal properties and neuroendocrine mechanisms of photoperiodic time measurement. *Journal of Biological Rhythms*, 16, 283-301.
- González-Garduño, Roberto, Torres-Hernández, Glafiro, & Arece-García, Javier. (2010). Comportamiento productivo y reproductivo de ovinos Pelibuey en un sistema de pariciones aceleradas con tres épocas de empadre al año. *Zootecnia Tropical*, 28(1), 51-56. Recuperado en 27 de mayo de 2023, de [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-72692010000100007&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-72692010000100007&lng=es&tlng=es).
- Gosálvez J., López-Fernández C., Johnston S., 2016. Whole extracharged DNA spermatozoa in the saltwater crocodile (*Crocodylus porosus*) ejaculate. *Herpetol. J.* 26, 313–316.
- Güngör, İ. H., Gür, S., & Ekmen, E. G. (2024). Effect of L-carnosine on frozen ram-semen quality evaluated by CASA and flow-cytometry. *Animal Production Science*, 64(11).
- Guthrie, H. D., & Welch, G. R. (2006). Determination of intracellular reactive oxygen species and high mitochondrial membrane potential in Percoll-treated viable boar sperm using fluorescence-activated flow cytometry. *Journal of animal science*, 84(8), 2089-2100.

- Hochereau-de Reviere, M. T., Monet-Kuntz, C., & Courot, M. (1987). Spermatogenesis and Sertoli cell numbers and function in rams and bulls. *J Reprod Fertil Suppl*, 34(10), 1-114.
- Itoh, M. T.; Ishizuka, B.; Kuribayashi, Y.; Amemiya, A.; Sumi, Y. (1999). Melatonin, its precursors, and synthesizing enzyme activities in the human ovary. *Molecular Human Reproduction*, 5, 402–408.
- Johnson, L., Varner, D. D., Roberts, M. E., Smith, T. L., Keillor, G. E., & Scrutchfield, W. L. (2000). Efficiency of spermatogenesis: a comparative approach. *Animal Reproduction Science*, 60, 471-480.
- Kafi, M.; Safdarian, M.; Hashemi, M. (2004). Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. *Small Ruminant Research*, 53, 133-139.
- Li, L.; Xu, J. N.; Wong, Y. H.; Wong, J. T. Y.; Pang, S. F.; Shiu, S. Y. W. (1998). Molecular and cellular analyses of melatonin receptor-mediated cAMP signaling in rat corpus epididymis. *Journal of Pineal Research*, 25, 219–228.
- Macedo, B.R.J., V. Arredondo y C.A. Cruz. 2011. Caracterización de los ovinocultores asociados del estado de Colima. I. Estudio descriptivo. En: Memorias del XXXV Congreso Nacional de Buiatría. León, Guanajuato, México. pp.1-7.
- Macedo, R. y Y. Castellanos. 2004. Rentabilidad de un sistema intensivo de producción ovino en el trópico. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 8: 39–50.
- Madrigal-Valverde, M., Bittencourt, R. F., Brito, L. S., Lents, M. P., Santos, E. S., & Valverde-Abarca, A. (2020). Analysis of testicular variables, semen motility and kinematics-derived indexes in boar using a CASA-Mot system. *Reproduction in Domestic Animals*, 55(3), 309-317.
- Malpoux, B.; Migaud, M.; Tricoire, H.; Chemineau, P. (2001). Biology of mammalian photoperiodism and critical role of pineal gland and melatonin. *Journal of Biological Rhythms*, 16, 336-347.

- Mariante, A.S. y N. Cavalnante. 2000. De selvagens a domesticos. En: Animais do Descobrimento, Raças Domésticas da História do Brasil. Brasilia, Brasil. pp. 14-27
- Martí J.I., Aparicio I.M., García-Herreros M., 2011. Head morphometric changes in cryopreserved ram spermatozoa are related to sexual maturity. *Theriogenology* 75, 473–481, <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.09.015>
- Martínez G, Muñoz R, García M, Santoyo C, Altamirano C, Romero M. El fomento de la ovinocultura familiar en México mediante subsidios en activos: lecciones aprendidas. *Agron Mesoam* 2011;22(2):367-377.
- Martinez Gonzalez, S. E. R. G. I. O., Aguirre Ortega, J. O. R. G. E., Gomez Danes, A. A., Ruiz Felix, M. I. G. U. E. L., Lemus Flores, C. L. E. M. E. N. T. E., Macias Coronel, H. U. M. B. E. R. T. O., ... & Ramirez Lozano, M. H. (2010). Tecnologías para mejorar la producción ovina en México. CONACYT.
- 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.
- Mazur, P., Katkov, I. I., Katkova, N., & Critser, J. K. (2000). The enhancement of the ability of mouse sperm to survive freezing and thawing by the use of high concentrations of glycerol and the presence of an Escherichia coli membrane preparation (Oxyrase) to lower the oxygen concentration. *Cryobiology*, 40(3), 187-209.
- Meza-Herrera, C.A., 2012. Puberty, kisspeptin and glutamate: a ceaseless golden braid. In: Berhardt, L.V. (Ed.), 2012. *Advances in Medicine and Biology*, Vol. 52. Nova Science Publishers Inc, Hauppauge, NY, USA, pp. 97e124 Chapter 3.
- Milne, C. (2000) The history of the Dorper sheep. *Small Ruminant Research* 36(2), 99–102. DOI: 10.1016/S0921-4488(99)00154-6.

- Nascimento, J. M., & Silva, J. R. (2020). Semen characteristics and reproductive performance in sheep: A review. *Small Ruminant Research*, 189, 106171. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2020.106171>
- Nishimura, H., & L'Hernault, S. W. (2017). Spermatogenesis. *Current Biology*, 27(18), R988-R994.
- Odonnell, L.; Mclachlan, R. I.; Wreford, N. G.; Robertson, D. M. (1994). Testosterone promotes the conversion of round spermatis between stages VII and VIII of the rat spermatogenic cycle. *Endocrinology*, 135, 2608-2614.
- Ojango, J. M., Okpeku, M., Osei-Amponsah, R., Kugonza, D. R., Mwai, O., Changunda, M. G., & Olori, V. E. (2023). Dorper sheep in Africa: A review of their use and performance in different environments. *CABI Reviews*, (2023).
- Paiva, S.R., D.A. Faria, V.C. Silvério, C. McManus, A.A. Egito, J.A. Dergam, S.E.F. Guimarães, S.R. Castro, M.S.M. Albuquerque and A.S. Mariante. 2005. Phylogenetic relationships among brazilian sheep breeds. In: *The role of biotechnology*. Villa Gualino, Turin, Italy. pp. 197-198.
- Palacín I., Vicente-Fiel S., Santolaria P., Yániz J., 2013. Standardization of CASA sperm motility assessment in the ram. *Small Rumin. Res.* 112, 128–135, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.12.014>
- Partida de la Peña, J. A., Ríos Rincón, F. G., Cruz Colín, L. D. L., Domínguez Vara, I. A., & Buendía Rodríguez, G. (2017). Caracterización de las canales ovinas producidas en México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 8(3), 269-277.
- Ramsay, K., Swart, D., Olivier, B. and Hallowell, G. (2000) An evaluation of the breeding strategies used in the development of the Dorper sheep and the improved Boer goat of South Africa. *ICAR Technical Series* 3(3), 339–346.
- Reiter, R. J.; Rosales-Corral, S. A.; Manchester, L. C.; Tan, D. X. (2013). Peripheral reproductive organ health and melatonin: ready for prime time. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 7231-7272.

- Robinson, G. (2016). *Spermatogenesis: Molecular Mechanisms, Regulation and Biological Perspectives*. Nova Science Publishers, Inc.
- Rodríguez Montaña, D. F. (2016). Diseño e implementación de una herramienta computacional para el análisis asistido de motilidad espermática en bovinos mediante técnicas de visión artificial (Doctoral dissertation).
- Romualdo, J. G., A.C. Sierra, J.R. Ortiz y J.S. Hernández. 2004. Caracterización morfométrica del ovino Pelibuey local en Yucatán, México. Archivos Latinoamericanos de Producción Animal. 12 (Supl. 1): 26–31.
- Rosa, H. J. D.; Juniper, D. T.; Bryant, M. J. (2000). Effects of recent sexual experience and melatonin treatment of rams on plasma testosterone concentrations, sexual behavior and ability to induce ovulation in seasonally anestrous ewes. *Journal of Reproduction and Fertility*, 120, 169–176.
- Ryder, M.L. 1984. Sheep. In: *Evolutions of domesticated animals*. New York, USA. pp. 63-85.
- SAGARPA, Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP).gov.mx (2022). [www.gob.mx. https://www.gob.mx/siap](https://www.gob.mx/siap)
- Santiago-Moreno, J., Bernal, B., Pérez-Cerezales, S., Castaño, C., Toledano-Díaz, A., Esteso, M. C., et al. (2019). Seminal plasma amino acid profile in different breeds of chicken: role of seminal plasma on sperm cryoresistance. *PLoS One* 14:e0209910. doi: 10.1371/journal.pone.0209910
- Santiago-Moreno, J., Gómez-Brunet, A., González-Bulnes, A., Toledano-Díaz, A., Malpoux, B.; López-Sebastián, A. (2005). Differences in reproductive pattern between wild and domestic rams are not associated with inter-specific annual variations in plasma prolactin and melatonin concentrations. *Domestic Animal Endocrinology*, 28, 416–429.
- Sarlós, P., Egerszegi, I., Balogh, O., Molnar, A.; Cseh, S.; Ratky, J. (2013). Seasonal changes of scrotal circumference, blood plasma testosterone concentration and semen characteristics in Racka rams. *Small Ruminant Research*, 111, 90–95.



- Schoeman, S.J. (2000) A comparative assessment of Dorper sheep in different production environments and systems. *Small Ruminant Research* 36(2), 137–146. DOI: 10.1016/S0921-4488(99)00157-1.
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, (2017). *Población ganadera*. Gob.mx. <https://www.gob.mx/siap/documentos/poblacion-ganadera-136762>
- Senger, P. L. (1997). *Pathways to pregnancy and parturition* (pp. xiii+-272).
- Sharpe, R. M., Mckinnell, C., Kivlin, C., Fisher, J. S. (2003). Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction*, 125, 769-784.
- Siegel, S. F., Finegold, D. N., Urban, M. D., Mcvie, R.; Lee, P. A. (1992). Premature pubarche: etiological heterogeneity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 74, 239-247.
- Simm, G. 1998. Genetic improvement of cattle and sheep. Farming Press. Ipswich, UK. 433 p.
- Smith, J. F. (1971). The effect of temperature on characteristics of semen of rams. *Australian Journal of Agricultural Research*, 22(3), 481-490. <https://scihub.se/https://doi.org/10.1071/AR9710481>.  
<https://www.publish.csiro.au/cp/AR9710481>
- Smith, J. T. (2012). The role of kisspeptina and gonadotropin inhibitory hormone in the seasonal regulation of reproduction in sheep. *Domestic Animal Endocrinology*, 43, 75-84.
- Soler C., Gadea B., Soler A. et al., 2005. Comparison of three different staining methods for the assessment of epididymal red deer sperm morphometry by computerized analysis with ISAS®. *Theriogenology* 64, 1236–1243, <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.02.018>

- Soler C., Picazo-Bueno J., Micó V. et al., 2018. Effect of counting chamber depth on the accuracy of lensless microscopy for the assessment of boar sperm motility. *Reprod. Fertil. Dev.* 30, 924–934, <https://doi.org/10.1071/RD17467>
- Soler C., Valverde A., Bompard D. et al., 2017. New methods of semen analysis by casa. *Sel'skokhozyaistvennaya Biol. Agricultural Biol.* 52, 232–241, <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.2.232eng>
- 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.
- Todini, L.; Malfatti, A.; Terzano, G. M.; Borghese, A.; Pizzillo, M.; Debenedetti, A. (2007). Seasonality of plasma testosterone in males of four Mediterranean goat breeds and in three different climatic conditions. *Theriogenology*, 67, 627–631.
- Tosini, G., Fukuhara, C. (2002). The mammalian retina as a clock. *Cell and Tissue Research*, 309, 119-126.
- Tuncer, P. B., Sariözkan, 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.
- Turner, R. M. (2003). Tales from the tail: what do we really know about sperm motility?. *Journal of andrology*, 24(6), 790-803.
- Ugur, M. R., Dinh, T., Hitit, M., Kaya, A., Topper, E., Didion, B., & Memili, E. (2020). Amino acids of seminal plasma associated with freezability of bull sperm. *Frontiers in cell and developmental biology*, 7, 347.
- Valverde, A., & Madrigal-Valverde, M. (2018). Sistemas de análisis computadorizado de semen en la reproducción animal. *Agronomía Mesoamericana*, 29(2), 469-484.
- 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.
- Vilaboa, A.J., R. Bozzi, R.P. Díaz y L. Bazzi. 2010. Conformación corporal de las razas ovinas Pelibuey, Dorper y Kathadin en el estado de Veracruz, México. *Zootecnia Tropical*. 28: 321–328.
- Wanjala, G., Astuti, P.K., Bagi, Z., Kichamu, N., Strausz, P. and Kusza, S. (2023) Assessing the Genomics Structure of Dorper and White Dorper Variants, and Dorper Populations in South Africa and Hungary. *Biology* 12(3), 386. DOI: 10.3390/biology12030386.
- Watson PF, 1995: Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod Fertil Dev* 7, 871–891.
- Webster, J. R., Suttie, J. M., Veenvliet, B. A., Manley, T. R., Littlejohn, R. P. (1991). Effect of melatonin implants in secretion of luteinizing hormone in intact and castrated rams. *Journal of Reproduction and Fertility*, 92, 21–31.
- YOSHIDA, M. Conservation of sperms: current status and new trends. *Anim. Reprod. Sci.*, v.60- 61, p.349-355, 2000.
- Zaitoun, I., M. Tabbaa and S. Bdour. 2005. Differentiation of native goat breeds of Jordan on the basis of morphostructural characteristics. *Small Ruminant Research*: 56: 173–182.
- Zamboni, L. & Upadhsay, S. (1982) The contribution of the mesonephros to the development of the sheep fetal testis. *Am. J. Anat.* 165, 339 356.
- Zamiri, M. J., Khalili, B., Jafaroghli, M., Farshad, A. (2010). Seasonal variation in seminal parameters, testicular size, and plasma testosterone concentration in Iranian Moghani rams. *Small Ruminant Research*, 94, 132–136.

Zishiri, O.T., Cloete, S.W.P., Olivier, J.J. and Dzama, K. (2013) Genetic parameters for growth, reproduction and fitness traits in the South African Dorper sheep breed. *Small Ruminant Research* 112(1), 39–48.