



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACIÓN EN TRES EXPENDIOS DE SEMEN CONGELADO
COMERCIAL EN OVINOS**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

**PRESENTA:
VIRGINIA CANDIA ZA VALETA**

**DIRECTORES DE TESIS:
DR. JORGE E. HERNANDEZ HERNANDEZ
DR. JOSÉ DEL CARMEN RODRÍGUEZ CASTILLO**

**ASESORES:
DR. JULIO CESAR CAMACHO RONQUILLO
DR. MARTÍN CARMONA VICTORIA**

El Salado, Tecamachalco, Puebla.

Fecha: 5 de Noviembre del 2020

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis a mi padre Tomas Candia, que me enseñó que en esta vida no hay personas perfectas, y todos cometemos errores, pero también me enseñó a que la felicidad siempre esta con uno mismo. A mi madre Martha Zavaleta eres una única e indescriptible, siempre serás un gran ejemplo a seguir, a ellos que a pesar de que nuestras personalidades no son tan compatibles y las peleas fueron innumerables e igual que los regaños, pero al final sé que contare con ustedes y el tiempo me ha permitido comprender que tengo unos excelentes padres.

A mi hermano, hermanas, que a pesar de tener diferentes pensamientos, temperamentos me han apoyado incondicional mente a lo largo de mi vida.

A mis tías que han apoyado a mi familia y a mí en innumerables momentos.
A mis abuelos (papá Félix, mamá Martina que en paz descanse, mamá Carmen), paternos y maternos que me han regalo grandes tardes e historias fantásticas y me han sacado risas y lágrimas.

A mis amigos y amigas, que han compartido momentos de su vida a mi lado y que han estado en todas mis locuras, así como en mis tristezas, que cada uno de ellos son especiales para mí, nombraría a cada uno, pero ellos saben quiénes son.

A Dios, que sin el yo no estaría aquí, él me ha demostrados que a pesar de todo el siempre estará para mí, me ha enseñado que todo se puede con devoción.

AGRADECIMIENTO

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla FVZ-BUAP.,

A mis directores de tesis: DR. JORGE E. HERNANDEZ HERNANDEZ, DR. JOSÉ DEL CARMEN RODRÍGUEZ CASTILLO, por su guía y consejos durante el tiempo de la tesis.

A mis asesores: DR. JULIO CESAR CAMACHO RONQUILLO, DR. MARTÍN CARMONA VICTORIA

A mi madre por levantarse temprano y preparar mi desayuno Y por despertarme temprano para que no se me hiciera tarde.

A mi padre por el apoyo e cómico que me brindo.

A mis amigos de la universidad (Diana, Andrea, Benito, Teresita Diana Laura, Julio, Mariano, Freddy, Elizabeth, Alejandro Misael no tengo palabras como agradecerte todo lo que has hecho por mi) gracias por el apoyo moral, brindándome sus conocimientos, siempre dándome una mano amiga.

ABREVIATURAS

FMVZ = Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

BUAP = Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

BAT = Barrio San Antonio

BPT = Barrio La Purísima

ECA= El Centro de Acatzingo

°C = Grados centígrados

CSS = Servicio de certificación de semen

DE = Desviación Estándar

IA= Inseminación Artificial

Km= Kilometro

ML = Mililitro

MMMi= Motilidad Masal Microscópica

MLP = Movimiento progresivo lineal

Ph= Potencial de hidrogeno

µl = Microlitro

V=viscosidad

VCL = velocidad curvilínea

VMP = velocidad media progresiva

% = Porcentaje

Et al = colaboradores

a.C =antes de cristo

FAO = Organización de las Naciones unidas para la Agricultura y la Alimentación

SAGARPA = Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación

(CASA) = Computer Assisted Sperm Analysis

G (Gauges) = Diámetro interior de una aguja hipodérmica

x = objetivos

H = separador o nivel de apartado en conteo espermático (cámara de Neubauer)

$E_{zp} = \frac{E_x}{250,000}$

CD

E = número de espermatozoides contados

E_x = suma de espermatozoides con exponenciales

C = número de cuadros contados

D = factor de dilución (1/10)

GPS = sistema de posicionamiento global

Dec = Digital Equipment Corporation

SPSS = *Statistical Package for the Social Sciences*

(+, ++, +++) = disminuida, normal o aumentada.

$K (\Sigma_i) = \frac{V+C+M+W}{4} \times 100$

K = porcentaje de células anormales

Σ_i = suma total

V = viscosidad

C = color

M = motilidad masal

W = vigor

" = segundos

VCL (ondas) = velocidad curvilínea

VMP (velocidad media progresiva) = móviles no progresivos y progresivos

r = coeficiente de correlación

P (NS) = no significativa

P(S) = significativa

ÍNDICE

AGRADECIMIENTO	ii
ABREVIATURAS	ii
ÍNDICE DE CUADROS	ii
ÍNDICE DE GRAFICAS	ii
ÍNDICE DE IMÁGENES	ii
INDICE DE FIGURAS	ii
RESUMEN	1
I INTRODUCCIÓN	2
II REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 El origen del ovino y su estado actual en el mundo	4
2.1.1 Generalidades	4
2.1.2 Presencia del ovino en América y México	5
2.2 Conceptos generales de la reproducción animal	6
2.2.1 Importancia de la reproducción animal	6
2.3 Cualidades reproductivas y de mejoramiento en el macho ovino	7
2.4 Generalidades anatómicas y fisiológicas del macho ovino	8
2.5 El semen ovino y sus componentes	8
2.6 Evaluación de la Calidad del Semen	10
2.6.1 Aspectos generales de la evaluación y calidad del semen	10
2.6.2.2 Evaluación microscópica	13
III HIPOTESIS	18
IV OBJETIVOS	19
Objetivo General	19
Objetivos específicos	19
V MATERIALES Y MÉTODOS	20
5.1 Localización del área de estudio	20

5.2 Metodología del estudio	21
5.2.1 Procedimiento en la evaluación del semen ovino congelado.....	23
VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
Imagen 4. Pajilla de semen ovino congelado analizado	27
Imagen 5. Espermatozoides de semen ovino con remolinos masales y ondas vertiginosas encontrados en el expendio de venta BAT	29
Imagen 6. Espermatozoides encontrados con movilidad no progresiva	33
Imagen 7. Espermatozoides encontrados con bajo MPL sin presencia de ondas u oscilaciones vibratorias del semen evaluado del expendio ECA.....	36
Imagen 8. Anormalidades espermáticas de orden primario (doble cabeza) encontradas en el semen ovino de los expendios BAT, BPT y ECA.....	37
VII CONCLUSIONES.....	40
VIII BIBLIOGRAFÍA.....	42

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Países con mayor población ovina en América.....	5
Cuadro 2. Nombre de los expendios de venta correspondientes a su municipio con respecto al perfil evaluado durante 2018 y 2019	25
Cuadro 3. Resultados de evaluación en semen congelado comercial (BAT)	28
Cuadro 4. Resultados del semen ovino congelado en la evaluación de BPT.....	31
Cuadro 5. Resultados de la evaluación del semen ovino del expendio ECA	34
Cuadro 6. Desviaciones estándar y Varianzas de sus características promedio en la evaluación subjetiva de semen ovino congelado comercial de BAT, BPT y ECA.....	38
Cuadro 7. Correlaciones de las variables de 15 pajillas de semen ovino congelado de los expendios BAT, BPT y ECA.	39

ÍNDICE DE GRAFICAS

Grafica 1. Tiempos y porcentajes de descongelamiento de pajillas comerciales con semen ovino	26
Grafica 2. MMMi y su promedio vinculado al Vigor espermático de las pajillas de semen ovino congelado comercial del BAT.....	29
Grafica 3. MMMi del nivel espermático con respecto a su movimiento progresivo de las pajillas de semen ovino congelado del BPT	32
Grafica 4. Baja MMMi con respecto a la movilidad espermática progresiva del semen ovino congelado del expendio ECA.	35
Grafica 5. Asociación alta y confiable del porcentaje de células anormales y vigor del semen ovino evaluado.....	39

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. Semental ovino falto de peso por factor desnutricional y parasitario	18
Imagen 2. Microscopio electrónico utilizado en la evaluación de semen ovino	22
Imagen 3. Material empleado en laboratorio para la evaluación del semen ovino	22
Imagen 4. Pajilla de semen ovino congelado analizado	27
Imagen 5. Espermatozoides de semen ovino con remolinos masales y ondas vertiginosas encontrados en el expendio de venta BAT	29
Imagen 6. Espermatozoides encontrados con movilidad no progresiva	33
Imagen 7. Espermatozoides encontrados con bajo MPL sin presencia de ondas u oscilaciones vibratorias del semen evaluado del expendio ECA.....	36
Imagen 8. Anormalidades espermáticas de orden primario (doble cabeza) encontradas en el semen ovino de los expendios BAT, BPT y ECA.....	37

INDICE DE FIGURAS

Figura 1, células anormales más comunes en el semen ovino (tomada de Hafez, 200).....	16
Figura 2. Ubicación de la Posta zootécnica El Salado FMVZ-BUAP en Municipio de Tecamachalco, Puebla.	20

RESUMEN

El presente estudio asumió como principal objetivo evaluar (pH, viscosidad, color, MMMi y células anormales.) en tres establecimientos autorizados para la venta de semen congelado en ovinos. El estudio, se realizó en el laboratorio multidisciplinario de la posta zootécnica “El Salado” perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, (FMVZ-BUAP), Tecamachalco, Puebla. Para la presente investigación se adquirieron 15 pajillas de semen congelado comercial (0,5ml), procedentes de 3 establecimientos (tiendas, locales etc.) de productos veterinarios localizados en Barrio San Antonio Tecamachalco (BAT), Barrio La Purísima Tecamachalco (BPT) y El Centro Acatzingo (ECA). Para realizar el experimento se hizo el descongelamiento de las pajillas, y se efectuó un corte a $\frac{1}{4}$ debajo del sello corrugado en un ángulo de 90° , se colocó una gota de semen en el portaobjeto.

Con respecto a MMMi (motilidad masal microscópica), se instaló una gota del semen descongelado en un portaobjeto; colocándose sobre la platina térmica del microscopio a un objetivo de 40x, para observar la onda omega a una escala del 1 a 5 (ausencia de ondas hasta ondas rápidas con la formación de remolinos.

.El resultado promedio de las evaluaciones del semen ovino congelado comercial fue: para BAT(Barrio San Antonio) viscosidad=2.4, color=2.8, pH= 6.8, MMMi=3.6, vigor=3.6 y células anormales=3.0%; BPT (Barrio La Purísima)viscosidad=3, color=2.4, pH=7, MMMi=3.6, vigor=3 y células anormales=3.0%) y ECA viscosidad=2, color=2.2, pH=6.6, MMMi=3, vigor=2 y células anormales=2.25%. Se muestra una relación y asociación alta estadísticamente entre el vigor y porcentaje de células anormales de 0.9285** muy significativa ($P \leq 0.01$), con respecto a las variables viscosidad, color, pH y MMMi de acuerdo a la prueba de correlación de Pearson aplicada al semen ovino evaluado. La evaluación microscópica y macroscópica del semen, es una importante herramienta que sustenta la viabilidad reproductiva del macho en el hato.

I INTRODUCCIÓN

La reproducción aplicada incluye diferentes tópicos enfocados hacia la evaluación de diferentes individuos para ser seleccionados como sementales en las diferentes especies de animales domésticos. Entre los procedimientos más importantes durante la selección de reproductores se incluye la evaluación de semen, *se recomienda o no su empleo para que se apliquen las diferentes técnicas de reproducción asistida*. Por lo anterior, se incluye en las prácticas de laboratorio la evaluación de la calidad espermática, a través del uso de técnicas sencillas, adaptables a la infraestructura y equipo disponible en el laboratorio.

Actualmente, el análisis seminal clásico ha mejorado mediante la introducción de nuevas técnicas analíticas procedentes de otros campos de la investigación científica. Así, el estudio de la motilidad espermática, la concentración espermática y las anomalías morfológicas que anteriormente se hacían de manera subjetiva, pueden realizarse hoy en día mediante el uso de métodos computarizados de análisis. La incorporación de estos métodos informáticos atenúa en gran parte el factor subjetivo del análisis seminal y garantiza una mejor correlación con la capacidad fecundante del espermatozoide (Agüero, 2012).

La evaluación del semen mediante técnicas *in vitro*, si ha de tener algún valor predictivo de su capacidad fecundante *in vivo*, debería incluir el estudio de tantas características espermáticas como sea posible, especialmente cuando se trata de dosis de semen congelado o cuando se están evaluando nuevos métodos de criopreservación (Brogliatti *et al.*, 2005).

De acuerdo con pruebas de laboratorio, (pH, viscosidad, color, MMMi y células anormales.).Las evaluaciones son fundamentales en la reproducción en rumiantes (bovinos, ovinos y caprinos), ya que este perfil a nivel de laboratorio sería más confiable para los productores con la finalidad reproductiva en sus unidades de producción.

Aun siendo de carácter subjetivo o personal por parte del evaluador con experiencia. Por esta razón, la evaluación general de las características generales del semen en rumiantes, como es en el caso de los ovinos a través de técnicas macroscópicas y microscópicas de laboratorio; es una alternativa tecnológica y de certeza para conocer la tasa de reproducción de estos pequeños rumiantes a nivel regional, estatal y nacional. Ya que el principal problema es la fertilidad durante las épocas de empadre en la mayoría de los hatos o rebaños ovinos del país, los machos ovinos manifiestan bajos índices de fertilidad; al no ser evaluados con alguna prueba de fertilidad, al menos dos o tres semanas antes de su actividad reproductiva, ya sea a través de la monta natural o de la extracción de semen para su conservación durante algún tiempo antes de su utilización. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad del semen comercial en tres diferentes puntos de venta localizados en el Barrio San Antonio Tecamachalco (BAT), Barrio La Purísima Tecamachalco (BPT) y El Centro Acatzingo (ECA).

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 El origen del ovino y su estado actual en el mundo

2.1.1 Generalidades

A pesar de existir varias especies del género *Ovis*, diferentes autores coinciden acerca de sus ancestros salvajes en los ovinos domésticos, donde el Muflón (*Ovis mussimom*), se piensa que contribuyó en la formación de las razas europeas; se le encuentra en estado salvaje en las islas mediterráneas de Córcega y Cerdeña, así como en el Asia Menor. El Urial (*Ovis iaristanica* y *Ovis orientalis*, junto con estos se incluye también al *Ovis vignei*) del sudoeste asiático es de los ovinos que fueron domesticados y el que pudo tener mayor influencia sobre el ovino actual. El Argali (*Ovis ammon*), de Asia Menor y con gran influencia sobre los ovinos asiáticos (De Lucas y Arbiza, 2017).

Otro ovino, importante para América, por ser el único de este género en el continente, es el *Ovis canadensis*, animal nunca domesticado y que aún se le encuentra en estado salvaje en la cadena montañosa que corre de Alaska al norte de México, también se le conoce como *Bighorn* en Estados Unidos, o borrego cimarrón en México; sin embargo, las ovejas domésticas (*Ovis aries*) descienden del muflón asiático y fueron domesticadas en el cercano oriente (Aguilar-Martínez *et al.*, 2017).

En el Asia Menor se ha encontrado las evidencias más antiguas de sistemas organizados de personal que trabaja la lana y rebaños de hace 4 o 5 mil años a.C. (De Lucas y Arbiza, 2017). La población ovina del mundo tiene un bajo crecimiento con tendencias diferentes entre continentes o regiones; de un inventario de 1, 080, 444,334 de ovinos en 2004 pasó a 1, 209, 908,142 en 2016, equivalente al 11.98% de crecimiento en el periodo (SAGARPA, 2016).

2.1.2 Presencia del ovino en América y México

Los ovinos fueron introducidos en México por los españoles durante la colonia a partir de los años 1525 a 1526, aproximadamente. Se piensa que las razas introducidas fueron principalmente la Manchega, Lacha y Churra; sin embargo, existe la posibilidad de que otras razas ovinas fueron traídas como son la Merino española, Castellana y Rasa Aragonesa (Montaño, 2019). Para el caso de América, México se encuentra en la quinta posición en cuanto a la población. El país que contiene el mayor número de ovejas es Brasil, seguido de Argentina y Perú (ver cuadro 1).

Cuadro 1. Países con mayor población ovina en América

Países	Cabezas
Brasil	17,614,454
Argentina	14,700,000
Perú	12,415,395
Bolivia (Estado Plurinacional)	9,499,147
México	8,575,908
Uruguay	8,200,000
Estados Unidos de América	5,245,000
Chile	3,300,000
Cuba	2,173,400
Canadá	874,70

Tomado de FAO y SAGARPA (2016).

Con respecto a México los estados con mayor porcentaje de cabezas en son: Estado de México con el 30%, Hidalgo 25%, Veracruz 15%, Oaxaca 11%, Puebla 10% y el 9% San Luis Potosí (Arteaga, 2014; FAO; SAGARPA, 2016), estas seis entidades concentran el 53% del inventario nacional. Actualmente el SIAP (2017), reporta 8,902, 451 cabezas de ganado ovino representando un aumento en tres años de 326,543 cabezas de ganado ovino (3.6%). Puebla ocupa el quinto lugar, cuya actividad se da principalmente en el

corredor Tecamachalco-Tehuacán, en la zona de Chignahuapan, en Atlixco y en todo el Valle de Serdán (Suarez, 2015).

El estado de Puebla produce 636,379 ovinos en 2,515 unidades productivas (INEGI, 2007), correspondientes a los distritos de Zacatlán, Chignahuapan, Teziutlán, Libres y Tehuacán donde se produce 72 % de las 4,125 t de carne de cordero (Suarez, 2015).

Sin embargo, el consumo de carne es de apenas un kilo por habitante al año, por lo que se trabaja en la diversificación de platillos, para generar alternativas de uso y romper la tradición de que la carne de este tipo sólo se consume en barbacoa (blanca o mixiote); ya que existen otros platillos gastronómicos como: Huaxmole, borrego al ataúd, chuletas asadas, cordero a las brasas (Hernández, 2014).

2.2 Conceptos generales de la reproducción animal

2.2.1 Importancia de la reproducción animal

La reproducción es necesaria para los seres vivos, ya que les permite crear descendencia y continuar su población. A través de la reproducción se transmiten su información genética a la siguiente generación (Audersik, 1988).

En las mayorías de los animales se reproducen de forma sexual, cada nuevo individuo se reproduce cuando se fecunda un óvulo con un espermatozoide los animales, pueden reproducirse por fecundación interna, se produce cuando el macho introduce su espermatozoide dentro del óvulo de la hembra (Cleveland *et al.*, 2013).

Gran parte de la diversidad en los sistemas reproductivos de los animales está asociada a los mecanismos que permiten que los espermatozoides y los ovocitos se pongan en contacto, es decir, los mecanismos de apareamiento. Así mismo, el tiempo y la energía de los animales usualmente se invierten en el proceso de apareamiento (Audersik, 1988).

En general, las actividades reproductivas del macho y la hembra están sincronizadas, ya que los gametos liberados tienen un tiempo de vida determinado. Para ello, los animales que desovan deben coordinar sus comportamientos reproductivos, tanto temporalmente

(en la misma estación) como espacialmente (en el mismo lugar). La sincronización puede lograrse mediante señales visuales, acústicas o químicas, comportamientos de cortejo, indicios ambientales o alguna combinación de estos factores (Cleveland *et al.*, 2013).

2.3 Cualidades reproductivas y de mejoramiento en el macho ovino

Se sugiere elegir un carnero en el momento del destete (en el mismo rebaño o hato), su condición y peso deben ser superiores a los de sus contemporáneos, debe contar con sus estructuras anatómicas bien definidas como son: sus dos testículos, estar libre de defectos como por ejemplo, pezuñas soldadas, orejas muy cortas, colores no deseables (si se crían ovinos blancos o un fenotipo deseado), y mandíbula inferior más larga que la superior o viceversa (prognatismo), de tal forma; que el próximo semental al seleccionarse deberá ser observado por un año de vida, para que mantenga las características deseables (<http://www.fao.org/3/V5290S/v5290s51.htm>).

Sin embargo no es todo, deberá contar con un historial ancestral (pedigrí, registro productivo y antecedentes sanitarios) para perfilar una mejor decisión al quedarse o comprarse como reproductor del rebaño (Aisen, 2004). Finalmente, la elección de los carneros a utilizar es la decisión genética más importante, ya que invariablemente la mitad de los genes de cada camada de corderos lleva el nivel genético de los carneros utilizados en el servicio que le dio origen; el mérito genético de esos carneros determina el nivel genético de la manada (Orihuela, 2014).

Entre menos ovinos se utilicen en la inseminación, más fácil será su selección para la comparación y la valoración de su déficit reproductivo y con lo cual será más fácil rechazar a sementales inferiores (Mueller, 1998).

El diseño de un programa de mejoramiento genético requiere considerar secuencialmente al menos los siguientes aspectos: el tipo de animal a criar y el objetivo de su mejora, la información a utilizar y los criterios de selección a aplicar; así como el apareamiento de los animales seleccionados (Mueller, 2019).

2.4 Generalidades anatómicas y fisiológicas del macho ovino

Las gónadas masculinas (del macho) o testículos, están situadas fuera del abdomen, en el escroto, que es una estructura sacular derivada de la piel y la aponeurosis de la pared abdominal. *Cada testículo descansa dentro del proceso vaginal*, una extensión separada del peritoneo que pasa a través de la pared abdominal en el conducto inguinal, atravesando los anillos inguinales profundo y superficial (Hafez *et al*, 2002). Los vasos sanguíneos y los nervios llegan al testículo junto con el cordón espermático, donde los espermatozoides salen del testículo por los conductos excretorios, que llevan al conducto contorneado del epidídimo el cual se transforma enseguida en el conducto deferente recto (Anel *et al*, 2016).

En el exterior se encuentran los genitales externos (testículos y pene), donde su principal función es la elaboración de esperma, para posteriormente depositarlo en el aparato reproductor de la hembra y la elaboración de andrógenos que regularan los caracteres sexuales del macho y la propia producción de espermatozoides (Redondo y Fernández, 2002).

El estudio del aparato reproductor, ha permitido además de entender la participación de cada estructura en el proceso reproductivo, obtener la ventaja que representa el eficientizar dicho proceso, a través de la aplicación de algunas tecnologías (Hafez y Hafez, 2002).

2.5 El semen ovino y sus componentes

El impulso de nuevas tecnologías reproductivas ha fomentado el incremento de estudios e investigaciones relacionadas con el semen y sus componentes, en diferentes especies, con el fin de hacerlas cada día más eficientes (Jerez, 2019).

La obtención y fraccionamiento del semen de un carnero genéticamente superior para su utilización en fresco permite acelerar el mejoramiento de las características productivas de las manadas, al aumentar el número de crías logradas con respecto a las que se obtendrían en servicio natural. Las técnicas de congelamiento de semen posibilitan aún

más la multiplicación y difusión de genes, al mismo tiempo que su conservación por períodos más prolongados de tiempo (Cueto *et al.*, 2016).

El semen está conformado por los espermatozoides y el plasma seminal; estos dos componentes tienen características definidas, que afectan directamente la calidad del semen (Jerez, 2019). La formación del semen comienza en la pubertad cuando empieza la formación de espermatozoides en los túbulos seminíferos esto mediado por señales endocrinas (Hafez, 2002). El volumen de eyaculado varía en cada especie, siendo el caso del bovino es de 5-8 ml, ovinos 0.8-1.2 ml y en los machos caprinos es de 0.1-1.5ml (Hafez, 2000).

El espermatozoide es considerado la célula más especializada de todas, ha evolucionado hasta llegar a ser diferente de los demás tipos celulares, la particularidad de tener una cabeza la cual contiene la información genómica, una pieza media con mitocondrias que da movilidad al flagelo, son características que dan una diversidad morfológica entre las especies (Avalos *et al.*, 2018).

En el caso del plasma seminal contiene una cantidad de secreciones, aportadas principalmente por la vesícula seminal, constituyendo el 90% del eyaculado total (Jerez, 2019). La fructosa, el inositol, ácido cítrico, los aminoácidos libres, glicerylfosforycolina, la ácida fosfatasa la prostaglandina, el potasio, y el zinc componen el plasma seminal (Calvete y Sanz, 2007).

El uso de semen congelado ovino produjo un gran impacto en el mejoramiento genético mundial, al permitir acelerar considerablemente el flujo de material genético superior, hacia sectores poblacionales de inferiores características productivas, así como al facilitar el transporte de semen a nivel internacional. Su utilización permite asimismo la absorción genética de una raza local por una introducida, a través de cruzamientos absorbentes en varias generaciones; se evita también, el costoso traslado de los reproductores y se disminuye el riesgo sanitario (Cueto *et al.*, 2016).

2.6 Evaluación de la Calidad del Semen

2.6.1 Aspectos generales de la evaluación y calidad del semen

El fin de cualquier análisis de semen es predecir, con cierto grado de confiabilidad, el nivel de fertilidad de la muestra. Sin embargo, esta pregunta es de carácter complejo y tiene posibles respuestas, ya que la fertilidad es multifactorial. Algunas características como el número de parto o el peso medido con posterioridad a la lactancia (Mellagi *et al.*, 2013), influyen en el desempeño reproductivo de la hembra. No obstante, el material genético del macho, tiene un impacto económico en la granja (peso de la camada, tasa de crecimiento, eficiencia alimenticia, entre otros) como lo establece Link (2011), además, se debe considerar que una muestra espermática está compuesta por una población de millones de células, lo que requiere de un análisis poblacional por medio de técnicas multivariantes (Babamoradi, *et al.*, 2015). Por ello, se pueden producir sinergias o competencias que hagan que muestras aparentemente iguales tengan un comportamiento final muy distinto.

En este contexto se presentan limitaciones técnicas importantes, porque el análisis seminal tradicional carece de estándares universales, lo que ocasiona la introducción de un alto grado de variación *intra* e interindividual por parte de los técnicos que realizan las valoraciones (Rodríguez-Martínez, 2000). Además, por lo general, se tiende a valorar el semen como un todo, aportando valores porcentuales o medios de las características que se evalúan en cada caso.

La calidad y la cantidad del semen son características que pueden variar por factores como la edad, la temporada de reproducción, la temperatura ambiental, la condición corporal, el tamaño de los testículos o la raza. Para conocer la calidad seminal, las muestras deberán de ser obtenidas de forma cuidadosa y manejadas correctamente, evitando principalmente los choques térmicos, ya que en condiciones inadecuadas de manejo las características del semen pueden variar con facilidad (Avalos *et al.*, 2018).

Teniendo en cuenta estas consideraciones, la temperatura ambiental, la humedad, la radiación solar, los milímetros de lluvia, entre otros, pueden ser “estresores ambientales” que afectan las características de calidad del eyaculado y de esta manera pueden afectar el desempeño productivo, en variables como el crecimiento, la producción de leche y, de interés particular para esta investigación, la reproducción (Seo *et al.*, 2010; Arrébola *et al.*, 2016).

Diversas metodologías han sido propuestas para la evaluación de la capacidad reproductiva de los machos ovinos (carneros) las cuales incluyen la inspección físico-sanitaria del animal y la evaluación seminal; esta última, es una herramienta utilizada principalmente para determinar la capacidad de fertilización del espermatozoide, y por ende predecir el potencial fértil de un reproductor (Carrillo y Hernández, 2016). Además, permite la selección de eyaculados para procesos de refrigeración o de congelación y la clasificación de los machos para la utilización en programas de monta directa o para la inseminación artificial (Beltrán y Gabiña, 2004).

La evaluación del semen es requerida en la IA (Inseminación artificial) por dos razones; primero proporciona información de la calidad del semen y segundo, proporciona una idea de la concentración espermática en eyaculados posteriores (Avalos. *et al.*, 2018), objetivamente la evaluación prevé la capacidad fertilizante de los espermatozoides, avalado con el análisis de la viabilidad, morfología y actividad metabólica (Donoghue y Wishart, 2000). Así, la maduración espermática en el aparato reproductor del macho se han identificado al menos 270 proteínas involucradas (Rueda, 2011).

Actualmente, el análisis seminal clásico ha mejorado mediante la introducción de nuevas técnicas analíticas procedentes de otros campos de la investigación científica; así, el estudio de la motilidad espermática, la concentración espermática y las anomalías morfológicas que anteriormente se hacían de manera subjetiva, pueden realizarse hoy en día mediante el uso de métodos computarizados de análisis (CASA) como lo establece (Avalos. *et al.*, 2018).

La incorporación de estos métodos informáticos atenúa en gran parte el factor subjetivo del análisis seminal y garantiza una mejor correlación con la capacidad fecundante del espermatozoide; pero sin embargo, cuando no se cuenta con toda la infraestructura de estas técnicas no se debe pasar por alto la evaluación subjetiva al animal reproductor en la unidad de producción (Agüero, 2012).

La evaluación seminal estándar, incluye varios parámetros que se han agrupado en características macroscópicas y microscópicas. En las primeras se cuentan el aspecto, el color, el pH y el volumen; en la segunda la concentración, la movilidad, la vitalidad, la morfología, pruebas de integridad de las membranas plasmática y acrosomal, y las determinaciones de trayectorias y velocidades de movimiento (Ebel, 2012). Se ha asumido que estas medidas proveen información de la cantidad del eyaculado, de la calidad de la espermatogénesis y de la capacidad fertilizante del espermatozoide (Bedoya *et al.*, 2003; Oliveira *et al.*, 2010; Bedoya y Pantoja, 2012).

2.6.2 La evaluación macroscópica y microscópica

2.6.2.1 Evaluación macroscópica

Se determinan los indicadores apreciables a la vista del evaluador siguiendo los criterios para cada indicador, tal y como lo determina Avalos *et al.* (2018).

a) Volumen: es posible observar el volumen del eyaculado o pajillado, importante evitar la formación de espuma o burbujas que puedan dificultar la lectura del volumen real (0,8-1,2 ml) eyaculado y (0,1-0,5 ml) pajillado.

b) Viscosidad: en algunas especies como la alpaca (pequeño rumiante), se puede medir el grado de viscosidad, pasando el eyaculado por una jeringa con aguja de 18 G. pudiendo determinar viscosidad normal, disminuida o aumentada, indicando las cruces (+, ++, +++) el número de veces que se pasó el eyaculado o el semen descongelado por la aguja antes de obtener una viscosidad normal, la cual es considerada como aquella que presenta un eyaculado o descongelado de pajilla de consistencia espesa, que gotea de manera constante sin formas (hilos) que evidencia la viscosidad.

c) Color: una vez obtenido el eyaculado o descongelado del semen, se observa y se puede apreciar el aspecto o coloración que esté presente, siendo los colores más comunes los siguientes: • Amarillento. • Crema. • Grisáceo. • Blanco. • Presencia de hematíes (células sanguíneas).

d) pH: se coloca una gota del eyaculado o del pajillado descongelado en una tira reactiva (Bili-Latetix Bayer) permitiendo que se impregne y vire de color, enseguida se hace la comparación de la tira con el estándar incluido en el empaque de las tiras para realizar la lectura y determinar el valor del pH del eyaculado (el valor adecuado del semen se encuentra en 7 en la mayoría de mamíferos).

2.6.2.2 Evaluación microscópica

Los indicadores a determinar son: movilidad, morfología, concentración y viabilidad, (Hafez, 2002).

a) El recuento de espermatozoides se realiza con un hemocitómetro de Neubauer; donde una pipeta de Thomas para glóbulos blancos la cual es llenada hasta la marca de 0.5 con la muestra espermática y después con solución salina al 0.9% hasta la marca de 1.1. Después de una agitación vigorosa, se llenaron ambos lados de la cámara de Neubauer con 10 µl de la solución para hacer el recuento bajo un objetivo del microscopio óptico de 20-40X. Contando en el cuadrante central los espermatozoides cuyas cabezas estén dentro de la cuadrícula central en cinco cuadrados (H1, H2, H3, H4 y H5) de ambas cámaras para obtener el promedio de ambas.

b) Ya que se obtuvo el total de células se aplica la siguiente fórmula: Donde:

E=número de espermatozoides contados

C=número de cuadros contados

D=actor de dilución (1/10) Y se obtiene el recuento de espermatozoides por ml.

$$Ez_p = \frac{Ex\ 250,000}{CD}$$

c) MMMi (Motilidad en Masa Microscópica): se coloca una gota del semen puro sobre un portaobjetos atemperado a 36-37°C, sobre una platina térmica de microscopio, y se lo observa a 40 aumentos (lupa), evaluando la presencia de ondas omega. Se debe evaluar cerca del borde de la gota, donde la profundidad de la misma es menor y es más fácil de observar. La escala que se toma es de 1 a 5, evaluando como 1 al semen que no presenta ondas y 5 cuando las ondas se mueven rápidamente formando remolinos. Dentro de esos parámetros se consideran los puntos intermedios. Se considera como valor mínimo de aceptación 3 de MMMi.

d) Vigor: se evalúa el vigor, al mismo tiempo que la MMMi, teniendo en cuenta la velocidad con la que estos espermatozoides atraviesan el campo. La escala que se utiliza es de 0 a 4, evaluando como 0 los espermatozoides inmóviles y como 4 los que avanzan rápidamente por el campo y son difíciles de seguir visualmente. Dentro de estos parámetros se consideran los puntos intermedios. Se considera como valor mínimo aceptable un vigor de 3.

e) Morfología: la morfología está estrechamente relacionada con la motilidad espermática en forma más directa, y se mide en porcentaje de espermatozoides con defectos de morfología. Se necesita, al menos, un buen porcentaje de espermatozoides móviles y de ellos se espera que entre 70 a 80% posea morfología normal. Esto quiere decir, que como máximo se acepta 20 a 30% de atipias.

Palacios (2005), señala que la morfología espermática es un factor determinante en la capacidad de fertilización del semen, ya que existe una correlación entre defectos espermáticos e infertilidad (Figura 1).

Los espermatozoides son traslucidos y virtualmente invisibles al microscopio de luz directa, por lo que se requiere del uso de colorantes que provean de un fondo oscuro para visualizarlos. La coloración vital, con eosina, azul de anilina, o 11 eosina-nigrosina, es la más comúnmente usada para la evaluación morfológica de semen

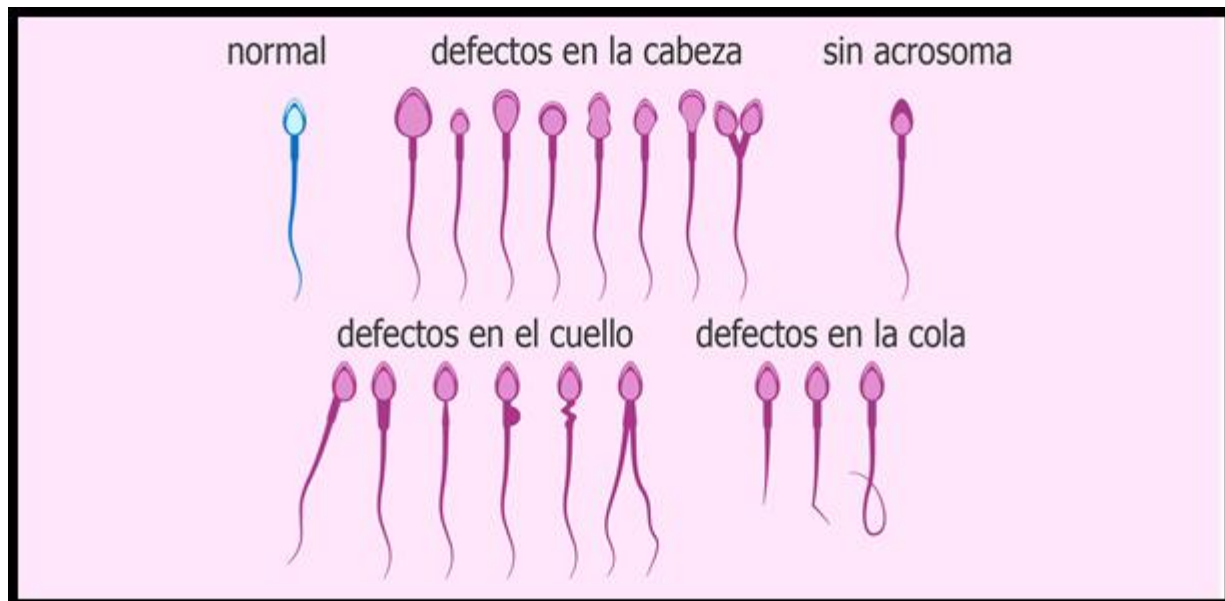


Figura 1, células anormales más comunes en el semen ovino (tomada de Hafez, 200).

2.6.3 El semen congelado de tipo comercial y factores que pueden afectarlo

El semen utilizado para la producción de pajuelas comerciales ya tiene su alto índice reproductivo, por lo tanto la evaluación post- descongelado tiene como finalidad conocer si es semen fue capaz de superar el proceso de congelación-descongelación (Hafez y Hafez, 2002)

En los rumiantes (bovinos y ovinos), para garantizar la fertilidad del semen congelado con propósito de I.A. (Inseminación Artificial), las partidas criopreservadas son evaluadas de rutina solamente por sus niveles de motilidad espermática post-descongelado. Dicho estudio es realizado comúnmente en forma subjetiva, por medio de la observación de frotis húmedos en un microscopio de luz equipado con óptica de contraste de fases (Brogliatti *et al.*, 2005). La viabilidad post-descongelación, se determina mediante el porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva y el vigor espermático (Catena y Cabodevila, 1999).

El estudio del semen congelado tiene como finalidad predecir su fertilidad potencial. Si bien, ningún examen *in vitro* tiene alta correlación con la fertilidad, hay diversas pruebas de laboratorio que correctamente interpretadas nos permiten estimar la calidad seminal, y especialmente son muy útiles para detectar partidas con las que no se obtendrán buenos resultados en la Inseminación Artificial (Hafez, 2000).

La inseminación artificial (I.A) permite la utilización extensa de machos de alto valor genético (Romo, 1999). Con la congelación del semen de ovino se puede conservar genes para su futuro uso y asegurar la disponibilidad de un semental en particular: también facilita el transporte de semen tanto nacional como internacionalmente, de modo que se puede disponer del semen de carneros genéticamente valiosos aunque estén a miles de kilómetros del productor (Evans y Maxwell, 1990).

Para que la I.A. sea exitosa debe ser empleada correctamente junto con semen de buena calidad. Esta característica es evaluada por las casas comerciales, asegurando así niveles de fertilidad adecuados, que cumplen con los requisitos mínimos establecidos por el Programa de Servicio de Certificación de Semen (CSS), como lo establece (González y Muñoz, 2002). En su almacenamiento y distribución en las casas comerciales, el semen congelado pasa por tres termos diferentes con nitrógeno líquido.

Uno de ellos es el termo almacén donde comúnmente se pueden guardar 80000 pajuelas, el segundo es el termo distribuidor utilizado para transportar el semen hasta donde se encuentran las haciendas o lugares de distribución, y por último, el termo de trabajo que es el que lleva el inseminador en su recorrido por las rancherías.; todo esto implica cambios continuos de temperatura y niveles de nitrógeno que afectan la viabilidad de los espermatozoides (Pedroso, 1992; González y Muñoz, 2002). Los factores que pueden afectar los valores de evaluación corresponden a factores intrínsecos del semen, o factores de manejo del mismo como la falta de N₂ líquido en el termo de almacenamiento, entre otros (Hafez, 2002).

Ruiz *et al.* (2015), Recomiendan hacer una evaluación de la calidad al descongelado del semen cuando se ha observado o comprobado una disminución considerable en el nivel de fertilidad del programa reproductivo, si se tiene evidencia de una reducción en el nivel de nitrógeno líquido del termo de almacenamiento por debajo del mínimo requerido y si se desconoce o desconfía del procesamiento o del manejo a las cuales hayan estado sujetas las dosis de semen previo a su adquisición. La eficiencia reproductiva en los ovinos (*Ovis aries*) es afectada por varios factores (Foto 1) tales como la raza, nutrición, edad, manejo, estación del año, lactación y sanidad (Faigl *et al.*, 2012).



Imagen 1. Semental ovino falto de peso por factor desnutricional y parasitario

III HIPOTESIS

Al evaluar el semen congelado con carácter comercial se puede predecir el potencial de fertilidad de los sementales ovinos y su eficiencia reproductiva en la unidad de producción.

IV OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar semen congelado de tipo comercial para saber la fertilidad en los sementales ovinos

Objetivos específicos

- Analizar con perfil macroscópico y microscópico muestras de semen congelado comercial de ovinos procedentes de algunos sitios de venta en la región de Tecamachalco-Acatzingo, Puebla.
- Estimar a través de la macroscopia las características del semen congelado comercial de los ovinos en estudio como: volumen, color, viscosidad, pH y cuerpos extraños que determinen su viabilidad reproductiva.
- Determinar a través de la evaluación microscópica del semen congelado comercial ovino la motilidad, vigor y morfología celular de las muestras en estudio.

V MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Localización del área de estudio

En el lugar donde se desarrolló el presente experimento fue en la Posta Zootécnica “El Salado” (Figura 2), se localiza en el Municipio de Tecamachalco, Puebla. Donde se encuentra el laboratorio multidisciplinario de la FMVZ-BUAP, lugar donde se realizó la evaluación del semen ovino congelado de tipo comercial. El clima predominante es semicálido subhúmedo, presenta una temperatura media anual de 18°C, con máximas de 21°C y mínimas de 15°C. El Salado se encuentra en las coordenadas GPS: Longitud (dec): -97.678056 y Latitud (dec): 18.903056 (INEGI, 2010). Tiene una precipitación pluvial de 350mm, esta localidad se encuentra a una mediana altura de 2120 metros sobre el nivel del mar.



Figura 2. Ubicación de la Posta zootécnica El Salado FMVZ-BUAP en Municipio de Tecamachalco, Puebla.

La mayor parte de su territorio está dedicado a la agricultura, ganadería y a la industria cementera. Actualmente colinda con el Municipio de Palmarito Tochapán, Puebla. Dentro de su actividad ganadería esta la explotación bovina, ovina –caprina, cerdos de traspatio

Y en algunas casas la producción de gallinas criollas para autoconsumo principalmente (INEGI, 2010).

5.2 Metodología del estudio

Se adquirieron 15 pajillas de semen congelado comercial (0,5ml), procedentes de 3 locales comerciales de productos veterinarios (5 pajillas/cada expendio) se rotularon las muestras con los nombres Barrio San Antonio Tecamachalco (BAT), Barrio La Purísima Tecamachalco (BPT) y El Centro Acatzingo (ECA). Las pajillas fueron transportadas en termos de nitrógeno al laboratorio interdisciplinario de la FMVZ-BUAP, ubicado en La Posta Zootécnica El Salado; donde, se realizaron las evaluaciones en dos periodos: el primer periodo de evaluación comprendió en los meses de Julio y Agosto de 2018, y el segundo periodo comprendió Agosto y Septiembre de 2019

Se trabajó en laboratorios asignados según espacios y horarios disponibles en las instalaciones para su evaluación conforme acuerdo con el jefe o coordinador de cada área dentro del laboratorio, así como los responsables del proyecto de tesis. Los espacios o áreas designadas para la evaluación de las muestras, fueron previamente ,designados, planificados y organizados con respecto a los equipo y materiales utilizados; cada mesa (2), poseía un microscopio (Foto 2), mechero de bunsen, tripie con rejilla, vaso de precipitado, termómetro, pajilla (semen ovino), cubre y portaobjetos, aceite de inmersión, cintas reactivas para medir pH, toallitas de papel.



Imagen 2. Microscopio electrónico utilizado en la evaluación de semen ovino

Las tinciones (Foto 3) utilizadas fueron: safranina, azul de metileno, rosina, eosina-negrosina y lugol. Además se utilizaron libreta, bolígrafo y computadora para la toma de datos y así como un resguardo para procesarlos estadísticamente. Además se utilizó el de celular para la toma de evidencias fotográficas, durante el desarrollo del proyecto de tesis y el análisis de las muestras en el laboratorio. Los datos obtenidos fueron procesados por SPSS for Windows 14, donde se aplicó estadística descriptiva.

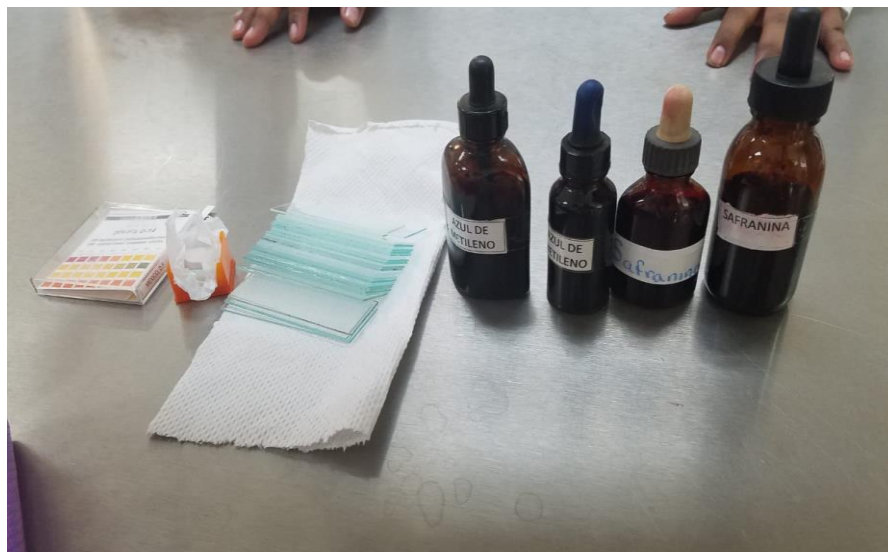


Imagen 3. Material empleado en laboratorio para la evaluación del semen ovino

5.2.1 Procedimiento en la evaluación del semen ovino congelado

Las pajillas fueron retiradas de los termos, donde se colocaron inmediatamente en un vaso de precipitado con agua (baño maría) a 37°C durante 45 segundos; posteriormente secándose con una toallita de papel. A continuación, se realizó un corte a la pajilla a ¼ debajo del sello corrugado en un ángulo de 90°, en seguida se colocó una gota de semen en el portaobjeto para medir pH, viscosidad y color.

En el caso del *pH*, se colocó un poco de la muestra de semen en la cinta reactiva, posteriormente se dejó secar por un minuto aproximadamente, después del tiempo transcurrido se obtuvo el resultado del potencial de hidrogeno (pH).

En el caso de la viscosidad, se evaluó con una jeringa con aguja 18 G para observar el número de veces que paso el semen descongelado por la aguja, indicando con cruces (+, ++, +++), disminuida, normal o aumentada.

Con respecto al color, se observó directamente una gota colocada en el portaobjeto y se determinó por el tono que presento (cremoso blanco, cremoso amarillento, grisáceo u otra tonalidad). En el caso del volumen de la pajilla congelada fue de 0,5 ml al comprarla, todos estos aspectos integraron la evaluación macroscópica.

En el caso de la MMMi (motilidad masal microscópica), se determinó al colocar una gota del semen descongelado en un portaobjeto y se colocó sobre la platina térmica del microscopio a un objetivo de 40x; para observar la onda omega. A una escala de 1 a 5 (1=no ondas y 5=ondas rápidas formando remolinos).

Con respecto al vigor, se calculó la movilidad del espermatozoide para atravesar el campo; se consideró una escala de 0 a 4 (0=inmóviles y 4=movimiento rápido en el campo observado). Valor mínimo aceptable de 3. En el caso de células anormales presentes en el semen ovino (morfología espermática), se realizó bajo el siguiente procedimiento: se colocó una gota de semen descongelado en un portaobjeto, inmediatamente se realizó un frotis en forma firme y pareja; dejándose secar para

posteriormente teñirse con una solución de Giemsa (eosina, rosina, safranina, azul de metileno o lugol), se deja incubar por 5 minutos el colorante y finalmente se enjuaga dejándolo secar de 5 a 10 minutos; donde se colocó en la platina para ser observado, a un objetivo de 10x o 40x directamente al microscopio para identificar las formas anormales de los espermatozoides. El cálculo se realizó aplicando la siguiente formula:

$$K (\Sigma_i) = \frac{V+C+M+W}{4} \times 100$$

Dónde:

K= %porcentaje de células anormales

Σ_i = suma total (v+c+m+w)

V=viscosidad

C= color

MMMi= motilidad masal

W=vigor

VI RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 2 se resume las características de los lugares y distancias de los expendios de venta del semen ovino congelado de tipo comercial; así, como los promedios de las pajillas 5/ grupo durante cada año en que fueron analizadas.

Cuadro 2. Nombre de los expendios de venta correspondientes a su municipio con respecto al perfil evaluado durante 2018 y 2019

Expendios de venta	Barrio San Antonio	Barrio La Purísima	El Centro
Municipio	Tecamachalco	Tecamachalco	Acatzingo
Distancia (km) del lugar de venta al laboratorio (posta zootécnica)	10 kilómetros (km)	11 kilómetros (km)	21 kilómetros (km)
Numero de pajillas	5	5	5
Año de evaluación del semen	2018	2018	2019
Tiempo de descongelación promedio de pajillas	*40"	*35"	*37"

*Segundos/baño María

Las distancias entre los expendios de venta y los laboratorios donde se analizó el semen ovino congelado es muy reducida, no se encontró alteración por manejo de almacenamiento y transportación en termos a -196°C a las estancias de evaluación del semen congelado. Sin embargo, en algunas ocasiones pueden alterar la viabilidad del semen, al no tener cuidado en el manejo y transportación de este material reproductivo; además, los bajos niveles de nitrógeno líquido en los termos, o cambios de temperatura continuos son factores que pueden afectar la viabilidad de los espermatozoides (Pedroso, 1992; González y Muñoz, 2002).

La gráfica (1), muestra el tiempo y forma de descongelamiento de las pajillas evaluadas del semen ovino, el material seminal procedente del expendio de venta El Centro Acatzingo su tiempo fue de 37 segundos el descongelamiento en esta forma, no afecto la calidad seminal a la evaluación del semen con perfil macroscópico y microscópico.



(s) = segundos, *Descongelado Baño María,

Grafica 1. Tiempos y porcentajes de descongelamiento de pajillas comerciales con semen ovino

El Centro Acatzingo, con respecto al tiempo de descongelación (Barrio San Antonio y La Purísima). No varía mucho entre ambas muestras. Es importante señalar, que el período de descongelación no afecto en tiempo o la de forma de su evaluación; ni los métodos, materiales, equipo con sus objetivos oculares utilizados para su valoración macroscópica y microscópica por el evaluador

Similar resultante establece González y Muñoz (2002), al manejar de forma correcta de descongelación, la temperatura, el equipo, la línea a investigar y la experiencia del evaluador son vitales para obtener un buen resultado del material valorado. (Duponte 2007), menciona que una pajilla tiene un tiempo máximo de uso de 10 minutos una vez descongelada (mientras siga en el agua a la temperatura adecuada), o se agilicen las variables a evaluar al menos en el examen microscópico; la pajilla que exceda este tiempo no deberá usarse para el examen de carácter microscópico.

Respecto a los resultados de la evaluación macroscópica y microscópica del semen ovino congelado (imagen 4), los expendios de venta (Barrio San Antonio = BAT, Barrio La Purísima = BPT y El Centro Acatzingo = ECA), arrojaron importantes cifras de la viabilidad espermática.



Imagen 4. Pajilla de semen ovino congelado analizado

Como se observa en la pajilla que fue de volumen seminal de 0.5 ml como se muestra en la (foto 4), no mostraron ninguna irregularidad como burbujas, ensanchamiento de la pajilla o espuma que pudiera alterar su calidad. Estos cambios pueden ser detectables por el evaluador a simple vista, ya que la formación de anomalías por un mal proceso de empajillado; siendo glóbulos de aire, burbujeo de forma espumosa o distensión de la pajilla son características que afectan la viabilidad espermática del material reproductivo al utilizarse en cualquier unidad de producción (Avalos *et al.*, 2018).

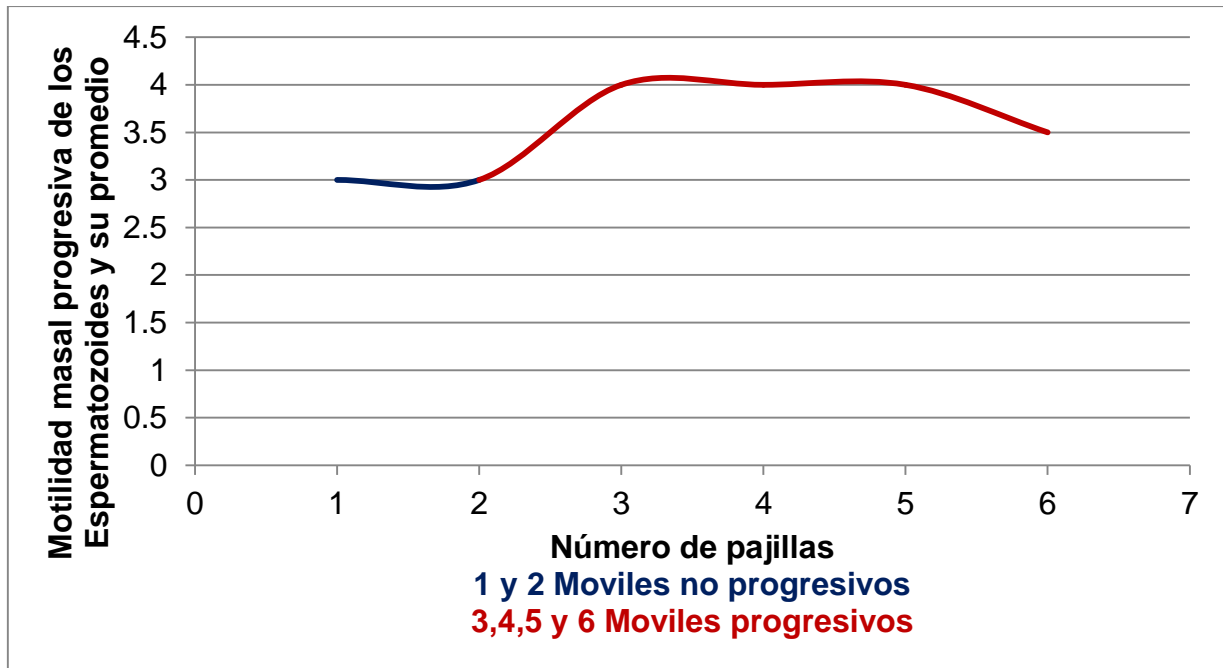
El cuadro (3), correspondiente al expendio de venta (BAT) muestra los resultados obtenidos de la evaluación subjetiva del semen ovino congelado comercial; estos resultados, reúnen las evaluaciones macroscópicas y microscópicas de este material seminal.

Cuadro 3. Resultados de evaluación en semen congelado comercial (BAT)

Barrio San Antonio Tecamachalco	Pajilla 1	Pajilla 2	Pajilla 3	Pajilla 4	Pajilla 5	Promedio
Volumen (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Viscosidad (+ ++ +++)	2	2	2	3	2	2.4
Color (Blanco opaco, blanco amarillento, blanco cremoso)	2	3	3	3	3	2.8
pH	6	7	7	7	7	6.8
Motilidad en masa microscópica (forma remolinos)	3	3	4	4	4	3.6
Vigor (movimientos de los espermatozoides)	3	3	4	4	3	3.6
% Células anormales	2.5%	2.75%	3.25%	3.5%	3.0%	3.0%

+ = disminuida ++=normal +++ = aumentada

Valores encontrados con la MMMi (Grafica 2), y su vigor en las pajillas evaluadas del semen congelado (expendio BAT), muestran móviles no progresivos y móviles progresivos (nivel 4); además, forman remolinos masales (Imagen 5).



Grafica 2. MMMi y su promedio vinculado al Vigor espermático de las pajillas de semen ovino congelado comercial del BAT

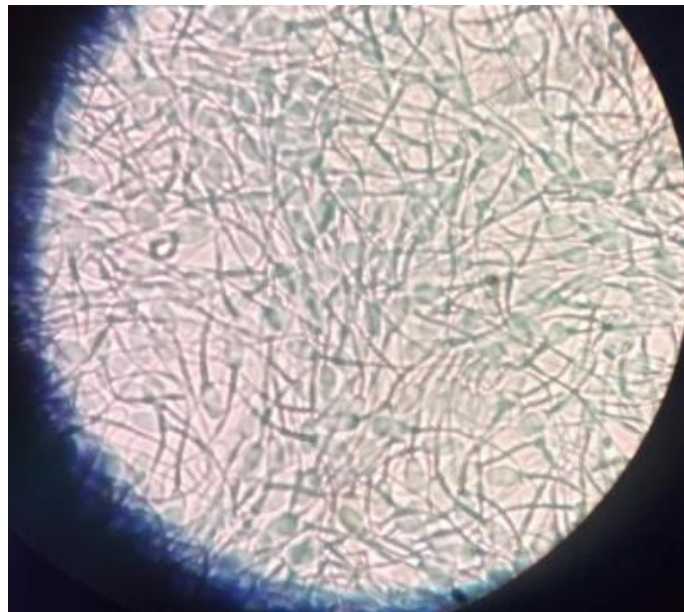


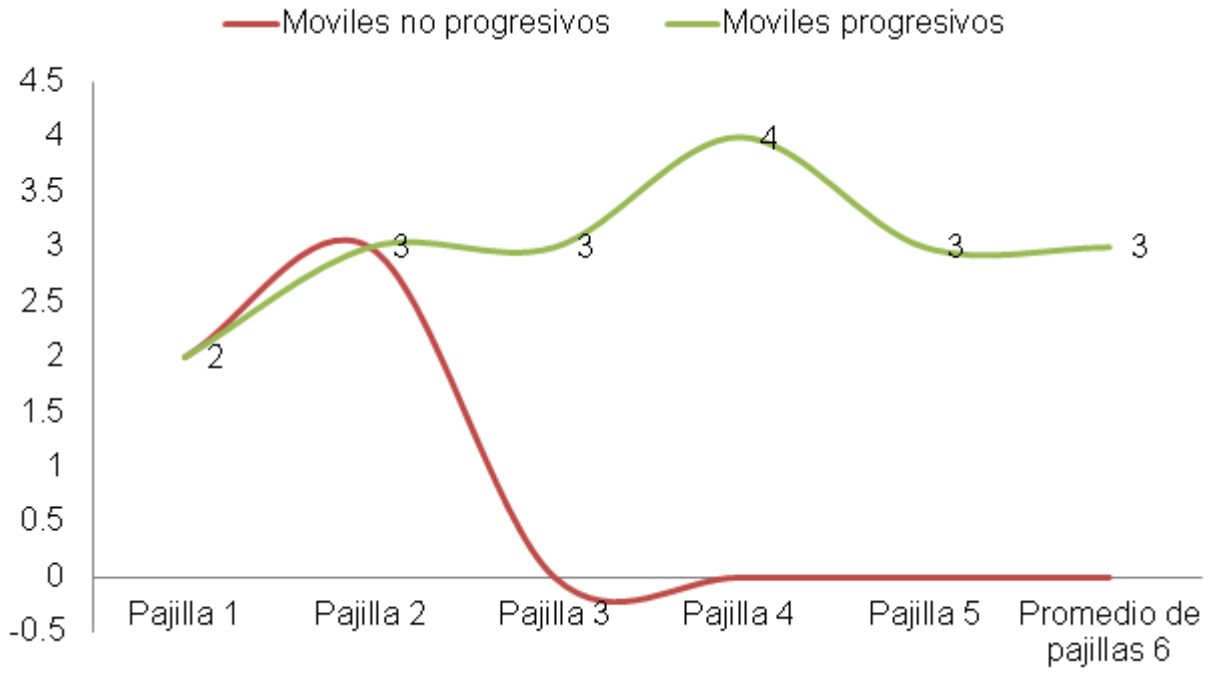
Imagen 5. Espermatozoides de semen ovino con remolinos masales y ondas vertiginosas encontrados en el expendio de venta BAT

Muño *et al.* (2008), tienen similares valores y cuantificaciones; con la motilidad masal microscópica, en función de su velocidad curvilínea (VCL = ondas) o de su velocidad media progresiva o progresiva (VMP = móviles no progresivos y progresivos), los espermatozoides son clasificados en estáticos, móviles progresivos o móviles no progresivos; y dentro de los móviles, en rápidos, medios y lentos. El cuadro (4), muestra la evaluación subjetiva del semen ovino congelado comercial del expendio BPT.

Cuadro 4. Resultados del semen ovino congelado en la evaluación de BPT

Barrio La Purísima Tecamachalco	Pajilla 1	Pajilla 2	Pajilla 3	Pajilla 4	Pajilla 5	Promedio
Volumen (ml)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Viscosidad (+ ++ +++) disminuida, normal, aumentada	3	3	3	3	3	3
Color (Blanco opaco, Blanco amarillento, Blanco cremoso	2	2	3	2	3	2.4
pH	7	7	7	7	7	7
Motilidad en masa microscópica (forma remolinos)	3	4	4	4	3	3.6
Vigor (movimientos de los espermatozoides)	2	3	3	4	3	3
% Células anormales	2.5%	3.0%	3.25%	3.25%	3.0%	3.0%

+ = disminuida ++=normal +++ = aumentada



Grafica 3. MMMi del nivel espermático con respecto a su movimiento progresivo de las pajillas de semen ovino congelado del BPT

Los niveles promedio (Grafica 3), de móviles progresivos disminuyeron 0.6 en relación a su vigor con respecto al semen del expendio BAT; esto puede suceder a factores de, deshidratación, temperatura, manipulación en el manejo del semen a evaluarse o inclusive al tipo de crioprotector como el uso de glicerol y fructosa (monosacárido), diluyentes de semen ovino para prevenir la disminución de la calidad seminal en comparación con el etilenglicol y la glucosa (Ruiz *et al.*, 2015). La foto (6), muestra un resultante de movilidad no progresiva en las pajillas provenientes del expendio BPT.



Imagen 6. Espermatozoides encontrados con movilidad no progresiva

Finalmente el cuadro (5), muestra las características del semen ovino congelado de tipo comercial; proveniente del expendio de venta El Centro Acatzingo, sigue el perfil de estimación con respecto a ondas (presentes y no presentes) en cuanto a su MMMi y vigor; con respecto, a la movilidad progresiva y no progresiva como lo establece Cueto *et al.* (2016).

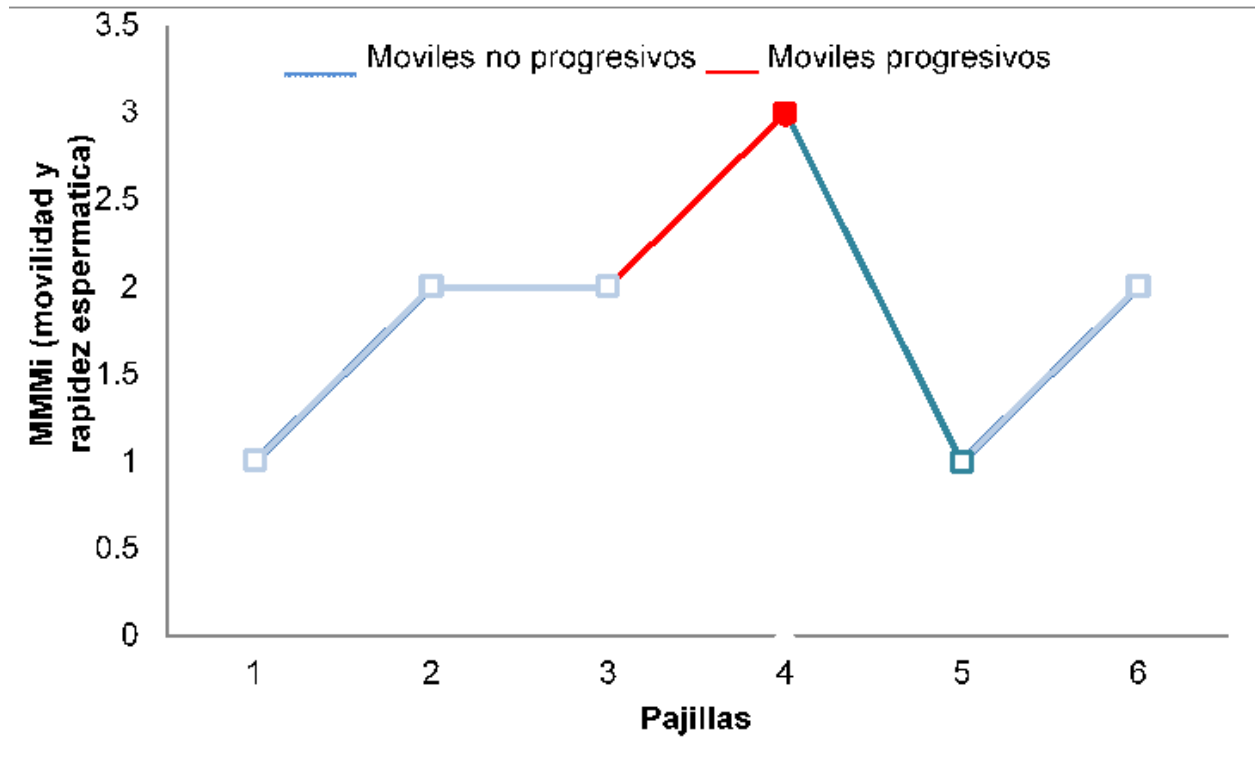
Cuadro 5. Resultados de la evaluación del semen ovino del expendio ECA

El Centro Acatzingo	Pajilla 1	Pajilla 2	Pajilla 3	Pajilla 4	Pajilla 5	Promedio
Volumen	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Viscosidad (+ ++ +++) disminuida, normal, aumentada	2	2	3	2	1	2
Color (Blanco opaco, Blanco amarillento, Blanco cremoso	2	2	3	2	2	2.2
Ph	6	6	7	7	7	6.6
Motilidad en masa microscopica (forma remolinos)	3	3	4	3	2	3
Vigor (movimientos de los espermatozoides)	1	2	2	3	1	2
%Células anormales	2.0%	2.25%	3.0%	2.5%	1.5%	2.25%

+ = disminuida ++=normal +++ = aumentada

En la gráfica (4), se observa una movilidad progresiva muy baja en 4 pajillas evaluadas del semen proveniente del expendio de venta ECA; a diferencia de los expendios BAT y BPT, con un número de 4 pajillas con movilidad progresiva viable. Estos resultados de ECA, con respecto a su MMMi y Vigor son riesgosos para ser utilizado en la época

reproductiva en las ovejas. Similar fundamento lo sustenta Oviedo (2009) y Gloria *et al.* (2012), al establecer que un semen evaluado subjetivamente de cualquier rumiante; que no alcance, al menos un promedio de 3 en MMMi (movilidad progresiva y velocidad espermática) y vigor, no debe ser utilizado la aplicación en semen fresco y descongelado (IA).



Grafica 4. Baja MMMi con respecto a la movilidad espermática progresiva del semen ovino congelado del expendio ECA.

Factores como: mala manipulación en la recolección y transportación del semen, choque térmico, contacto con líquidos (agua), radiación solar e inclusive una errónea dilución del semen para empajillar; que lleve, a incrementar el volumen de eyaculado para inseminar un mayor número de hembras, además de proveer una razón biológica a los espermatozoides como la de nutrirlos y protegerlos de temperaturas de enfriamiento y congelamiento, no ofrecería ningún beneficio rentable a cualquier programa reproductivo

en estos pequeños rumiantes (Agüero, 2012). La (imagen 7), es resultado de la evaluación subjetiva del semen ovino congelado; ejemplifica, la baja aptitud espermática con respecto al movimiento progresivo (remolinos u ondas), mostro deficiente velocidad hacia delante, en línea recta; además, no se observó oscilación y desplazamiento frontal o giratorio que mostrara su fuerza o vigor como lo determinan Aisen, (2004), y su fortaleza masal del espermatozoide como lo estimo de forma individual, Angulo (2019) con su movimiento progresivo lineal (MPL) en un estudio comparativo de dos sistemas de congelamiento de semen y su efecto sobre la fertilidad en ovinos realizado en el Centro Experimental de Casaracra, Perú.



Imagen 7. Espermatozoides encontrados con bajo MPL sin presencia de ondas u oscilaciones vibratorias del semen evaluado del expendio ECA

Con respecto al examen microscópico del semen ovino congelado comercial, este ensayo debe ser considerado como una prueba de control de calidad; ya que nos muestra, que cada eyaculado contiene una serie de espermatozoides anormales que afecta la capacidad y fertilidad de estos. Tal y como lo menciona Nuñez y Fernández (2001), si la proporción de los espermatozoides es alta entonces nos encontraremos ante un semen de baja capacidad reproductiva.

A continuación en la imagen (8), nos muestra un patrón de las células anormales que siguieron las pajillas evaluadas de manera subjetiva; donde, se encontraron principalmente anomalías estructurales primarias del espermatozoide

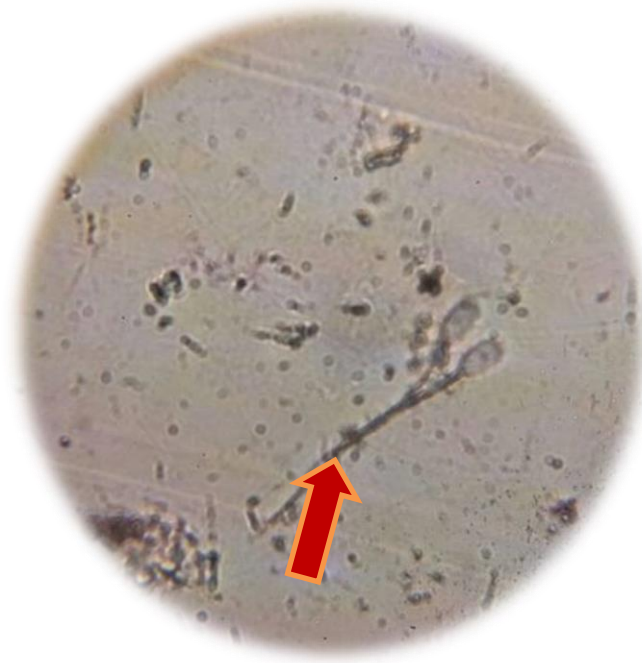


Imagen 8. Anormalidades espermáticas de orden primario (doble cabeza) encontradas en el semen ovino de los expendios BAT, BPT y ECA

Es importante señalar, que espermatozoides con doble cabeza, con doble cola, sin cola o sin cabeza en algunos casos: no debe ser considerado este semen para la actividad reproductiva por su baja viabilidad y capacidad espermática; porcentajes de 15 a 22 por ciento con espermatozoides sin cabeza, doble flagelo, sin acrosoma o bicéfalos no deben ser utilizados para congelamiento o Inseminación Artificial (Cárdenas, 2011).

El cuadro (6), muestra la Desviación Estándar (DE) y la Varianza de los tres expendios de semen ovino congelado evaluado (BAT, BPT y ECA), predominando diferencia de \pm DE (4.330127) con respecto a su media (2.75) en el porcentaje de células anormales; por consecuente, se encontró un alto porcentaje en la prueba subjetiva y cálculo de morfometría de las células espermáticas del 91.6% en el semen evaluado. Este resultado es muy superior a los encontrados por AI (Moghaddam *et al.*2012), en razas tales como:

Karradi 82,87%, Arrabi 82% y cruces de razas Iraníes 88,63% respectivamente; así, una tendencia de un menor porcentaje (76.64%) de normalidad de los espermatozoides en eyaculados de la raza Criolla Colombiana evaluados por Carrillo (2016). En cuanto a la varianza de las características seminales, se observa una variación importante en las medias de los expendios evaluados con respecto a su vigor (0. 653333).

Cuadro 6. Desviaciones estándar y Varianzas de sus características promedio en la evaluación subjetiva de semen ovino congelado comercial de BAT, BPT y ECA.

Características evaluadas	*N	Mínimo	Máximo	Media ±DE	Varianza
Viscosidad	3	2	3	2.46 ± 0.50	0.25
Color	3	2.2	2.8	2.46 ± 0.30	0.09
pH	3	6.6	7	6.82 ± 0.20	0.4
MMMi	3	3	3.6	3.40 ± 0.30	0.12
Vigor	3	2	3.6	2.86 ± 0.80	0.65
% Células Anormales	3	2.25	3	2.75 ± 4.33	0.18

*expendios de semen ovino congelado comercial

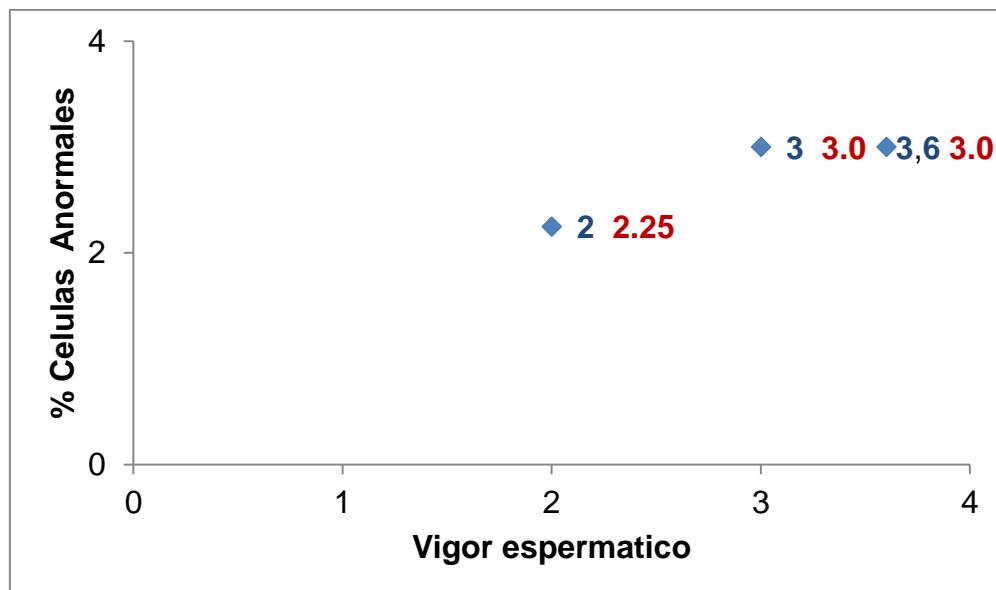
A continuación en el cuadro (7), por medio de la correlación de Pearson se muestran las relaciones entre vigor y porcentaje (%) de células anormales del semen ovino congelado comercial de los tres expendios considerados en el estudio: BAT (5), BPT (5) y ECA (5). El número total de muestras fueron 15 pajillas de semen ovino congelado de tipo comercial.

Cuadro 7. Correlaciones de las variables de 15 pajillas de semen ovino congelado de los expendios BAT, BPT y ECA.

Numero	Nombre de la variable	r = coeficiente de correlación	Valores	Significado de Correlación
1	Viscosidad	(1,2)	0.0000*	Nula
2	Color	(2,1)	0.0000*	Nula
3	pH	(3,4)	0.0000*	Nula
4	Motilidad	(4,3)	0.0000*	Nula
5	Vigor	(5,6)	0.9285**	Correlación alta
6	% Células anormales	(6,5)	0.9285**	Correlación alta

*NS= No significativo. **S= significativo (r=0,9285) correlación positiva fuerte

El grafico (5), muestra la asociación del % de células anormales y vigor del semen ovino; aumentando los niveles de confiabilidad en la valoración del material comercial.



Grafica 5. Asociación alta y confiable del porcentaje de células anormales y vigor del semen ovino evaluado

VII CONCLUSIONES

El semen ovino congelado de tipo comercial mantiene una confiabilidad importante en cualquier programa de reproducción; sin embargo, es elemental sustentar esta seguridad en la viabilidad espermática, cuando se sospecha o se presentan índices bajos en los parámetros reproductivos de cualquier unidad de producción, a pesar de los expendios comerciales de cierto prestigio.

Existen diferentes métodos o técnicas en las evaluaciones para estudiar la calidad espermática; sin embargo, la evaluación subjetiva a pesar de ser personal, mantiene categorías importantes por el evaluador o el experimentador en la cuantificación y valoración del material seminal; cuando no existe habilidad o capacidad del evaluador, entonces puede perjudicar y lesionar la eficiencia reproductiva en la unidad de producción.

Las evaluaciones macroscópicas y microscópicas del semen ovino congelado comercial son importantes, porque mantienen una plataforma de conocimientos e información; acerca de la potencialidad y viabilidad espermática, siendo una garantía eficaz en la capacidad fecundante del espermatozoide en cualquier lote de hembras a reproducirse en la unidad de producción.

Dentro de los resultados de los tres expendios de semen ovino congelado de tipo comercial (BAT, BPT y ECA), las mejores pajillas que arrojaron valores en la evaluación subjetiva fueron para BAT en cuanto a: color=2.8 (blanco cremoso), MMMi=3.6 a escala de 0 a 5 (formación de ondas y remolinos de buena progresividad), y con respecto a su vigor fue=3.6 (movilidad espermática de rapidez aceptable).

En cuanto a células anormales, expendio ECA superó a las pajillas de BAT y BPT con un -0.75% menos al contabilizar solamente el 2.25% del 3.0% de los expendios ubicados en Tecamachalco, Puebla.

Finalmente se concluye, que existe una importante relación entre vigor y % de células anormales en promedio de las 15 pajillas evaluadas subjetivamente en el semen ovino congelado de tipo comercial; donde, se encuentra una asociación significativa alta de estas dos variables con un $r=0.9285^{**}$.

VIII BIBLIOGRAFÍA

- Aisen, E.G. (2004). Reproducción ovina y caprina. Editorial Inter-Médica, Buenos Aires, Argentina.
- Audesirk, G. (1988). Biología “La vida en la tierra”, 8va ed. Pearson, Prentice Hall. USA.
- Aguilar –Martínez, C.U., Berruecos-Villalobos, J.M., Espinoza-Gutiérrez, B., Segura-Correa, J.C., Valencia-Méndez, J., y Roldán-Roldán, A. 2017. Origen, Historia y Situación Actual de la Oveja Pelibuey en México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20 (2017): 429-439
- Agüero, G. (2012). Evaluación de las Características Seminales de Sementales Bovinos mediante el Analizador Seminal Computarizado (CASA) E.G. Tesis de licenciatura. FCV-UCV, Venezuela.
- Al-Samarrae, S.H. (2009). Semen quality of arrabi and karradi iraqi rams. *Diyala Agriculture Science J.* 1:30-36.
- Anel L, de Paz P, Álvarez M, Chamorro CA, Boixo JC, Manso E. (2016), Field and *in vitro* assay of three methods for freezing ram semen. *Theriogenology.*; 60:1293-1308.
- Angulo, D.R.A y Angulo, D.F.E. (2019). Estudio comparativo de dos sistemas de congelamiento de semen y su efecto sobre la fertilidad en ovinos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional “Daniel Alcides Carrión. Cerro de Pasco, Perú.
- Arteaga, C.J.D. (2019). Situación actual del mercado de los productos ovinos. Recuperado de: <http://spo.uno.org.mx/wpcontent/uploads/informe2013/noroeste/>
- Arrébola, F., Sánchez, M., López, M.D., Rodríguez, M., Pardo, B., Palacios, C., Abecia, J.A. (2016). Effects of weather and management factors on fertility after artificial insemination in Florida goats: A ten-year study. *Small Rumin. Res.* 137, 47–52
- Ávalos, R.A., González, S.J.A., Vargas, I.A.K., Herrera, B.J.A. (2018). Recolección y manipulación seminal *in vitro*. Editorial, Universidad Autónoma Metropolitana, CDMX.

- Babamoradi, H., J.M. Amigo, F. van-den-Berg, M.R. Petersen, N. Satake, and G. Boe-Hansen. (2015). Quality assessment of boar semen by multivariate analysis of flow cytometric data. *Chemometr. Intell. Lab. Syst.* 142:219-230.
- Bedoya, N.; Vázquez, N.; Rivera, M.; Correa, G.; Trujillo, L. (2003). Evaluación de la integridad funcional de la membrana plasmática de espermatozoides bovinos mediante el test hiposmótico (HOST). *Revista de la Facultad Nacional Agropecuaria de Medellín* 56:1983-1997.
- Bedoya, P. y Pantoja, C. (2012). Viabilidad espermática e integridad funcional del acrosoma en semen congelado de toros nacionales. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 23:192-200.
- Beltrán, De H.I. y Gabiña, D. (2004). Producción y calidad de semen de los moruecos adultos de raza Latxa. *Pequeños Rumiantes* 5:8-12
- Brogliatti, G. M.; García Migliaro, F.; Larraburu, G.; Herrera, C. (2005). Aplicaciones del Análisis Computarizado de Semen (CASA) en la Evaluación de la Calidad Seminal y Fertilidad. *Sexto Simposio Internacional de Reproducción Animal*. Pág. 221.
- Calvete, J.J. y Sanz, L. (2007). Snake venomomics. Strategy and applications. *Journal Of Mass Spectrometry*. 2(1): 231-239
- Cárdenas, R. G. (2011). Evaluación de la calidad seminal de ovinos criollos obtenidos por electroeyaculador bajo dos rangos de voltaje. Tesis de Licenciatura. FCA, Programa de Medicina Veterinaria. Tunja, Boyaca, Colombia.
- Carrillo, G.D., Hernández, H. D. (2016). Caracterización seminal de individuos ovinos criollos colombianos de pelo en el departamento de Sucre. *Rev Colombiana Cienc Anim*; 8(2):197-203.
- Catena, M.; Cabodevila, J. (1999). Evaluación de Semen Bovino Congelado. *Taurus* 3:18-31.
- Cueto, M., Gibbons, A., Bruno-Malarraga, M.M., y Fernández, J. (2016). *Manual de Obtención, Procesamiento y Conservación del Semen Ovino*. Segunda edición. INTA, Ediciones, Argentina.

- Cueto, M., Gibbons, A., García, V.J. y Wolff, M. (2019). Manual de Obtención, Procesamiento y Conservación del Semen Ovino. INTA, Bariloche. Recuperado de: https://inta.gov.ar/sites/default/files/script-tmp-intaobtencionprocesamiento_y_consemen.pdf
- Cleveland, P., Hickman, L.S., Miller, H.R.F. (2013). Integrated principles of zoology. McGraw-Hill Book Company, Inc. USA.
- Cruz, R. (2019). Manual de Producción Ovina. Organización Panamericana de la Salud. Recuperado de: https://www.paho.org/par/index.php?option=com_docman
- DuPonte, W.M. (2007). Proper semen handling during an artificial insemination program. Department of Human Nutrition, Food and Animal Sciences. Livestock Management, 16.
- Díaz, S.G., Espinosa, M.M.A., Montiel, O.L.J. (2016). Cuidados necesarios con la técnica de Inseminación Artificial en bovinos. Recuperado de: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/cuidados-necesarios-con-tecnica-t39837.htm>
- De Lucas, T.J. y Arbiza, A.S. (2017). Breve historia del desarrollo ovino. Recuperado de: <https://www.facebook.com/128582263887486/posts/1242170845861950/pdf>
- Donoghue, A.M., Wishart, G.J. (2000). Storage of poultry semen. Anim Reprod Sci 62: 213-232.
- Dzib, C.A., Ortiz de Montellano, A. y Torres-Hernández, G. Variabilidad Morfoestructural de Ovinos Blackbelly en Campeche, México. (2011). Arch. Zootec. 60 (232): 1291-1301.
- Ebel, F. (2012). Caracterización y pruebas de congelabilidad seminal en asnos *Baudet du Poitou*. Tesis de grado. Universidad Austral de Chile.
- Evans, G. y Maxwell, W. M. C. (1990). Inseminación artificial en ovejas y cabras. Ed. Acribia S. A. Zaragoza, España. 95-123.
- FAO. (2016). El estado mundial de la pesca y la acuicultura. (2016). Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos. Roma. 224 pp.

- Faigl, V.; Vass, N.; Javor, A.; Kulcsár, M.; Solti, L.; Amiridis, G.; Cseh, S. (2012). Artificial insemination of small ruminants – a review. *Acta Vet. Hung.* 60 (1):115–129.
- Gloria, A., Contri A., Wegher L., Vignola G., Dellamaria D., and Carluccio, A. (2014). The effects of antibiotic additions to extenders on fresh and frozen-thawed bull semen. *Anim. Reprod. Sci.* 150:15-23.
- González, G.A.B. y Muñoz, M.K.A. (2002). Determinación de la calidad biológica del semen congelado de la unidad de ganado lechero y doble propósito en Zamorano, Honduras. *Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria*. Zamorano, Honduras.
- Hafez, E.S.E. (2000). *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*. 7ª ed. South Carolina, USA: McGraw Hill.
- Hafez, E S E. y Hafez, B. (2002). *Reproducción e Inseminación Artificial en animales*. Séptima Edición. Mc Graw Hill Interamericana.
- Hernández, J., Carreón, L., Villarreal, O.A., García, F., y Julio C. Camacho. (2014). Elaboration and costs multi-nutritional blocs with goatee leaves (*Pithecellobium acatlense*) consumed by goats in the Mixteca Poblana, Mexico. *Agricultural Sciences*. Vol.5, No.2, 165-169.
- INEGI. (2010). *Mujeres y hombres en México 2010*. Aguascalientes, Instituto Nacional de Estadística y Geografía.
- INEGI. (2007). *Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Censo Agropecuario*.
- Jerez, K. (2019). Semen Bovino, ovino, caprino. Recuperado de: <https://prezi.com/7gtj8cjvsy83/semen-bovino-ovino-caprino/pdf>
- Link, L. (2011). *Avaliação de machos reprodutores suínos: Como otimizar seu potencial genético e fertilidade*. Trabajo final Médico Veterinario. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil.

- Montaño, A.A. (2019). Aspectos Generales de la Producción, Distribución y Consumo de Ganado Ovino en México. Recuperado de: <https://es.slideshare.net/amadomg/ganados-ovinos-de-mxico/pdf>
- Mueller J.P. (1998). Sugerencias para el comprador de carneros. Conferencia Sociedad Rural de Trelew. INTA EEA Bariloche Comunicación Técnica PA. 326:11
- Muller, J.P. (2019). Objetivos de Mejoramiento Genético para Rumiantes Menores. Recuperado de: https://www.researchgate.net/profile/Joaquin_Mueller/publication
- Muño, R., Tamargo, C., Hidalgo, C.O., Peña, A.I. (2008). Identification of sperm subpopulations with defined motility characteristics in ejaculates from Holstein bulls: effects of cryopreservation and between-bull variation. *Anim Reprod Sci.* 109(1-4):27-39
- Mellagi, A.P.G., A. Panzardi, T. Bierhals, N.B. Gheller, M.L. Bernardi, L. Wentz, e F.P. Bortolozzo. (2013). Efeito da ordem de parto e da perda de peso durante a lactação no desempenho reprodutivo subsequente de matrizes suínas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 65:819-825.
- Moghaddam, G.H.; Pourseif, M.M.; Rafat, S.A. (2012). Seasonal variation in semen quantity and quality traits of iranian crossbred rams. *Journal Animal Science* 45:67-75.
- Nuñez, J.F y Fernández, R.P. (2001). Biotecnias de la reproducción Caprina y Ovina. Editorial Fortaleza. Ceara, Brasil. 105 pp.
- Olivera, L.; Corona, M.; Das Neves, P. 2010. Diferentes soluções de teste hiposmótico para sêmen ovino. *Revista Brasileira de Medicina Veterinaria* 32:146-150
- Orihuela, T.A. (2014). La conducta sexual del carnero: Revisión. *Rev. Mex. de Cienc. Pecuarias.* 5 (1): 49-89.
- Oviedo, S.E. (2009). Inseminación Artificial en Ovinos. Tesis de Licenciatura. División Regional de Ciencia Animal. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Torreón, Coahuila, México.
- Palacios, C.J. 2005. Técnicas para la evaluación de la capacidad fecundante de espermatozoides. *Memorias Posgrado de Reproducción Bovina.* CGR. Colombia 235-242.

- Romo, G. S. 1999. Técnicas avanzadas semen en la reproducción ovina (primera parte). Revista del Borrego. Julio-Septiembre. Recuperado en: http://www.borrego.com.mx/archivo/n0_Públicas.6-7./f00reprod.dhp
- Ruiz, L.G., Sandoval, M.R., Santiani, A. 2015. Evaluación de la Calidad Espermática del Semen Ovino Posdescongelación al Emplear Dos Fuentes Energéticas y Dos Crioprotectores. Rev Inv Vet Perú 2015; 26(1): 49-56
- Redondo, C.P.A. y Fernández, C.I. 2002. Estructura histológica del aparato reproductor del macho. Área de Zootecnia y Producción Animal. INEA.
- Rodríguez, M.H. 2000. Evaluation of frozen semen: Traditional and new approach-es. In: P.J. Chenoweth, editor, Topics in bull fertility. International Veterinary Information Service. Ithaca, NY, USA. p. 502-600.
- Rueda, A.F.L. (2011). Proteínas del plasma seminal de toros sanmartinero y cebú y su relación con la integridad de la membrana del espermatozoide sometido a procesos de criopreservación. Tesis de Maestría. FMVZ- UNC. Sede Bogotá, Colombia.
- SAGARPA. 2016. Plan Rector Sistema Producto Ovinos (2015-2024). Recuperado de: http://spo.uno.org.mx/wpcontent/uploads/2016/05/plan_rector_ovinos2016.pdf.pdf
- SIAP. (2017). Servicio de Información y Estadística agroalimentaria y pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). Recuperado de: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>
- Suárez, V.L. (2015). Puebla es sexto en producción de carne ovina. Regional Puebla mx. Recuperado de: <http://www.regionalpuebla.mx/corredor-huauchinango/item/1362-puebla-es-sexto-en-produccion-de-carne-ovina.html>
- Seo, S.N., McCarl, B.A., Mendelsohn, R., 2010. From beef cattle to sheep under global warming? An analysis of adaptation by livestock species choice in South America. Ecol. Econ. 69, 2486–2494.
- Web = <http://www.fao.org/3/V5290S/v5290s51.htm>