	MACROPROCESO DE APOYO	CÓDIGO: AAAr113
	PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO	VERSIÓN: 3
	DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	VIGENCIA: 2017-11-16
		PAGINA: 1 de 7

21.1

FECHA	jueves, 9 de enero de 2020
--------------	----------------------------

Señores
UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
 BIBLIOTECA
 Ciudad


UNIDAD REGIONAL	Sede Fusagasugá
TIPO DE DOCUMENTO	Trabajo De Grado
FACULTAD	Ciencias Agropecuarias
NIVEL ACADÉMICO DE FORMACIÓN O PROCESO	Pregrado
PROGRAMA ACADÉMICO	Zootecnia

El Autor(Es):

APELLIDOS COMPLETOS	NOMBRES COMPLETOS	No. DOCUMENTO DE IDENTIFICACIÓN
Melo Quiroga	Marian	1.023.926.274

Diagonal 18 No. 20-29 Fusagasugá – Cundinamarca
 Teléfono (091) 8281483 Línea Gratuita 018000976000
 www.ucundinamarca.edu.co E-mail: info@ucundinamarca.edu.co
 NIT: 890.680.062-2

*Documento controlado por el Sistema de Gestión de la Calidad
 Asegúrese que corresponde a la última versión consultando el Portal Institucional*

	MACROPROCESO DE APOYO	CÓDIGO: AAAr113
	PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO	VERSIÓN: 3
	DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	VIGENCIA: 2017-11-16
		PAGINA: 2 de 7

Director(Es) y/o Asesor(Es) del documento:

APELLIDOS COMPLETOS	NOMBRES COMPLETOS
Montoya Andrade	Karen Patricia

TÍTULO DEL DOCUMENTO
ACTUALIZACION EN LOS DIFERENTES PROTOCOLOS UTILIZADOS EN LA CRIOPRESERVACIÓN DEL SEMEN CAPRINO (<i>Capra aegagrus hircus</i>)

SUBTÍTULO (Aplica solo para Tesis, Artículos Científicos, Disertaciones, Objetos Virtuales de Aprendizaje)

TRABAJO PARA OPTAR AL TÍTULO DE: Aplica para Tesis/Trabajo de Grado/Pasantía
Zootecnista

AÑO DE EDICIÓN DEL DOCUMENTO	NÚMERO DE PÁGINAS
09/01/2020	86

DESCRIPTORES O PALABRAS CLAVES EN ESPAÑOL E INGLÉS (Usar 6 descriptores o palabras claves)	
ESPAÑOL	INGLÉS
1.Biotecnología	Biotechnology
2.Reproducción	Reproducción
3.Criopreservación	Cryopreservation
4.Especies Menores	Minor species
5.Fisiología	Physiology
6.Macho Caprino	Goat male

Diagonal 18 No. 20-29 Fusagasugá – Cundinamarca
Teléfono (091) 8281483 Línea Gratuita 018000976000
www.ucundinamarca.edu.co E-mail: info@ucundinamarca.edu.co
NIT: 890.680.062-2

Documento controlado por el Sistema de Gestión de la Calidad
Asegúrese que corresponde a la última versión consultando el Portal Institucional



MACROPROCESO DE APOYO	CÓDIGO: AAAR113
PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO	VERSIÓN: 3
DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	VIGENCIA: 2017-11-16
	PAGINA: 3 de 7

RESUMEN DEL CONTENIDO EN ESPAÑOL E INGLÉS

(Máximo 250 palabras – 1530 caracteres, aplica para resumen en español):

El objetivo de la presente monografía fue encontrar diferentes medios de criopreservación en el semen caprino, sus tasas de eficiencia y principales inconvenientes al momento de su aplicación. Así, por medio de una revisión bibliográfica, se realizó un análisis de la eficiencia de los diferentes medios de criopreservación seminal en macho caprino.

La criopreservación de semen en caprinos es una de las biotecnologías más usadas, en el ámbito de la reproducción en esta especie; da buenos resultados a nivel de concepción y garantiza una buena genética. Sin embargo, este procedimiento puede presentar algunos inconvenientes derivados de la interacción entre las proteínas del semen y el diluyente usado para aumentar el volumen del eyaculado y como medio de conservación de los espermatozoides. Durante la fase de conservación se producen toxinas que pueden afectar tanto la cantidad como la calidad del semen diluido.

Para evitar este problema se ha propuesto, en varios estudios a lo largo de los años, utilizar fuentes de proteína alternas como diluyente; como la leche UHT, la lecitina de soya o un procesado de yema de huevo. También se ha recomendado hacer una previa centrifugación del semen para separar el plasma seminal del esperma. Este último procedimiento presenta riesgos inherentes. El proceso de centrifugado tiende a dañar y matar los espermatozoides.

La propuesta para desarrollar durante el trabajo de grado sería la compilación y comparación de los diferentes protocolos de criopreservación, sus ventajas y desventajas, la tasa de éxito y su posible aplicación en la industria del país.

Abstract. Cryopreservation of semen in goats is one of the most used biotechnologies, in the field of reproduction in this species; It gives good results at the level of conception and guarantees good genetics. However, this procedure may have some drawbacks arising from the interaction between the semen proteins and the diluent used to increase the volume of the ejaculate and as a means of preserving the sperm.

Toxins are produced during the preservation phase that can affect both the quantity and quality of diluted semen. To avoid this problem, it has been proposed, in several studies over the years, to use alternative protein sources as a diluent; such as UHT milk, soy lecithin or egg yolk processing.

It has also been recommended to make a previous centrifugation of the semen to separate the seminal plasma from the sperm. This last procedure presents inherent risks. The centrifugation process tends to damage and kill sperm. The proposal to develop during the degree work would be the compilation and comparison of the different cryopreservation protocols, their advantages and disadvantages, the success rate and their possible application in the country's industry.



AUTORIZACION DE PUBLICACIÓN

Por medio del presente escrito autorizo (Autorizamos) a la Universidad de Cundinamarca para que, en desarrollo de la presente licencia de uso parcial, pueda ejercer sobre mí (nuestra) obra las atribuciones que se indican a continuación, teniendo en cuenta que, en cualquier caso, la finalidad perseguida será facilitar, difundir y promover el aprendizaje, la enseñanza y la investigación.

En consecuencia, las atribuciones de usos temporales y parciales que por virtud de la presente licencia se autoriza a la Universidad de Cundinamarca, a los usuarios de la Biblioteca de la Universidad; así como a los usuarios de las redes, bases de datos y demás sitios web con los que la Universidad tenga perfeccionado una alianza, son:

Marque con una "X":

AUTORIZO (AUTORIZAMOS)	SI	NO
1. La reproducción por cualquier formato conocido o por conocer.	X	
2. La comunicación pública por cualquier procedimiento o medio físico o electrónico, así como su puesta a disposición en Internet.	X	
3. La inclusión en bases de datos y en sitios web sean éstos onerosos o gratuitos, existiendo con ellos previa alianza perfeccionada con la Universidad de Cundinamarca para efectos de satisfacer los fines previstos. En este evento, tales sitios y sus usuarios tendrán las mismas facultades que las aquí concedidas con las mismas limitaciones y condiciones.	X	
4. La inclusión en el Repositorio Institucional.	X	

De acuerdo con la naturaleza del uso concedido, la presente licencia parcial se otorga a título gratuito por el máximo tiempo legal colombiano, con el propósito de que en dicho lapso mi (nuestra) obra sea explotada en las condiciones aquí estipuladas y para los fines indicados, respetando siempre la titularidad de los derechos patrimoniales y morales correspondientes, de acuerdo con los usos honrados, de manera proporcional y justificada a la finalidad perseguida, sin ánimo de lucro ni de comercialización.

Para el caso de las Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía, de manera complementaria, garantizo(garantizamos) en mi(nuestra) calidad de estudiante(s) y por ende autor(es) exclusivo(s), que la Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía en cuestión, es producto de mi(nuestra) plena autoría, de mi(nuestro) esfuerzo personal intelectual, como consecuencia de mi(nuestra) creación original particular y, por tanto, soy(somos) el(los) único(s) titular(es) de la misma. Además, aseguro (aseguramos) que no contiene citas, ni transcripciones de otras obras protegidas, por fuera de los límites autorizados por la ley, según los usos honrados, y en proporción a los fines previstos; ni tampoco contempla declaraciones difamatorias contra terceros; respetando el derecho a la imagen, intimidad, buen nombre y demás derechos constitucionales. Adicionalmente, manifiesto (manifestamos) que no se



MACROPROCESO DE APOYO	CÓDIGO: AAAR113
PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO	VERSIÓN: 3
DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	VIGENCIA: 2017-11-16
	PAGINA: 5 de 7

incluyeron expresiones contrarias al orden público ni a las buenas costumbres. En consecuencia, la responsabilidad directa en la elaboración, presentación, investigación y, en general, contenidos de la Tesis o Trabajo de Grado es de mí (nuestra) competencia exclusiva, eximiendo de toda responsabilidad a la Universidad de Cundinamarca por tales aspectos.

Sin perjuicio de los usos y atribuciones otorgadas en virtud de este documento, continuaremos (continuaremos) conservando los correspondientes derechos patrimoniales sin modificación o restricción alguna, puesto que, de acuerdo con la legislación colombiana aplicable, el presente es un acuerdo jurídico que en ningún caso conlleva la enajenación de los derechos patrimoniales derivados del régimen del Derecho de Autor.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, “*Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores*”, los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables. En consecuencia, la Universidad de Cundinamarca está en la obligación de RESPETARLOS Y HACERLOS RESPETAR, para lo cual tomará las medidas correspondientes para garantizar su observancia.

NOTA: (Para Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía):

Información Confidencial:

Esta Tesis, Trabajo de Grado o Pasantía, contiene información privilegiada, estratégica, secreta, confidencial y demás similar, o hace parte de la investigación que se adelanta y cuyos resultados finales no se han publicado. **SI ___ NO x.**

En caso afirmativo expresamente indicaré (indicaremos), en carta adjunta tal situación con el fin de que se mantenga la restricción de acceso.

LICENCIA DE PUBLICACIÓN

Como titular(es) del derecho de autor, confiero(erimos) a la Universidad de Cundinamarca una licencia no exclusiva, limitada y gratuita sobre la obra que se integrará en el Repositorio Institucional, que se ajusta a las siguientes características:

a) Estará vigente a partir de la fecha de inclusión en el repositorio, por un plazo de 5 años, que serán prorrogables indefinidamente por el tiempo que dure el derecho patrimonial del autor. El autor podrá dar por terminada la licencia solicitándolo a la Universidad por escrito. (Para el caso de los Recursos Educativos Digitales, la Licencia de Publicación será permanente).

b) Autoriza a la Universidad de Cundinamarca a publicar la obra en formato y/o soporte digital, conociendo que, dado que se publica en Internet, por este hecho circula con un alcance mundial.



MACROPROCESO DE APOYO	CÓDIGO: AAAr113
PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO	VERSIÓN: 3
DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	VIGENCIA: 2017-11-16
	PAGINA: 6 de 7

c) Los titulares aceptan que la autorización se hace a título gratuito, por lo tanto, renuncian a recibir beneficio alguno por la publicación, distribución, comunicación pública y cualquier otro uso que se haga en los términos de la presente licencia y de la licencia de uso con que se publica.

d) El(Los) Autor(es), garantizo(amos) que el documento en cuestión, es producto de mi(nuestra) plena autoría, de mi(nuestro) esfuerzo personal intelectual, como consecuencia de mi (nuestra) creación original particular y, por tanto, soy(somos) el(los) único(s) titular(es) de la misma. Además, aseguro(aseguramos) que no contiene citas, ni transcripciones de otras obras protegidas, por fuera de los límites autorizados por la ley, según los usos honrados, y en proporción a los fines previstos; ni tampoco contempla declaraciones difamatorias contra terceros; respetando el derecho a la imagen, intimidad, buen nombre y demás derechos constitucionales. Adicionalmente, manifiesto (manifestamos) que no se incluyeron expresiones contrarias al orden público ni a las buenas costumbres. En consecuencia, la responsabilidad directa en la elaboración, presentación, investigación y, en general, contenidos es de mí (nuestro) competencia exclusiva, eximiendo de toda responsabilidad a la Universidad de Cundinamarca por tales aspectos.

e) En todo caso la Universidad de Cundinamarca se compromete a indicar siempre la autoría incluyendo el nombre del autor y la fecha de publicación.

f) Los titulares autorizan a la Universidad para incluir la obra en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

g) Los titulares aceptan que la Universidad de Cundinamarca pueda convertir el documento a cualquier medio o formato para propósitos de preservación digital.

h) Los titulares autorizan que la obra sea puesta a disposición del público en los términos autorizados en los literales anteriores bajo los límites definidos por la universidad en el "Manual del Repositorio Institucional AAAM003"

i) Para el caso de los Recursos Educativos Digitales producidos por la Oficina de Educación Virtual, sus contenidos de publicación se rigen bajo la Licencia Creative Commons: Atribución- No comercial- Compartir Igual.



j) Para el caso de los Artículos Científicos y Revistas, sus contenidos se rigen bajo la Licencia Creative Commons Atribución- No comercial- Sin derivar.





MACROPROCESO DE APOYO	CÓDIGO: AAAr113
PROCESO GESTIÓN APOYO ACADÉMICO	VERSIÓN: 3
DESCRIPCIÓN, AUTORIZACIÓN Y LICENCIA DEL REPOSITORIO INSTITUCIONAL	VIGENCIA: 2017-11-16
	PAGINA: 7 de 7

Nota:

Si el documento se basa en un trabajo que ha sido patrocinado o apoyado por una entidad, con excepción de Universidad de Cundinamarca, los autores garantizan que se ha cumplido con los derechos y obligaciones requeridos por el respectivo contrato o acuerdo.

La obra que se integrará en el Repositorio Institucional, está en el(los) siguiente(s) archivo(s).

Nombre completo del Archivo Incluida su Extensión (Ej. PerezJuan2017.pdf)	Tipo de documento (ej. Texto, imagen, video, etc.)
1. MMQ-monografia-Zootecnia2020.pdf	Texto
2.	
3.	
4.	

En constancia de lo anterior, Firmamos el presente documento:

APELLIDOS Y NOMBRES COMPLETOS	FIRMA (autógrafo)
Melo Quiroga, Marian	

21.1-51-20.

ACTUALIZACION EN LOS DIFERENTES PROTOCOLOS UTILIZADOS EN LA
CRIOPRESERVACIÓN DEL SEMEN CAPRINO (*Capra aegagrus hircus*)

MARIAN MELO QUIROGA

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
FUSAGASUGÁ

2019

ACTUALIZACION EN LOS DIFERENTES PROTOCOLOS UTILIZADOS EN LA
CRIOPRESERVACIÓN DEL SEMEN CAPRINO (*Capra aegagrus hircus*)

Trabajo de grado como requisito
parcial para la obtención del título de
zootecnista.

DIRECTOR

Karen Patricia Montoya Andrade

Zootecnista

UNIVERSIDAD DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
PROGRAMA DE ZOOTECNIA
FUSAGASUGÁ

2019

NOTA DE ACEPTACIÓN

FIRMA EVALUADORES

Nombre.

Nombre.

A mis padres Arcenio Melo y Ena Judith Quiroga por su ayuda, motivación y apoyo en mis estudios, a mi hermana Mayra por solventar mis gastos educativos. A mi tutora Karen Montoya por su apoyo incondicional. Por último, y no siendo menos importante, dedico este documento a mi hijo Vidal que me motivó para ingresar a los estudios superiores.

MARIAN MELO QUIROGA

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE ILUSTRACIONES	7
INTRODUCCIÓN	9
OBJETIVOS	12
Objetivo general.....	12
Objetivos específicos.....	12
CAPITULO I	13
GENERALIDADES DE LA INDUSTRIA CAPRINA EN COLOMBIA	13
LA INDUSTRIA CAPRINA EN COLOMBIA	13
Entorno nacional	13
CAPITULO 2	18
GENERALIDADES DE LA ANATOMIA REPRODUCTIVA DEL MACHO CAPRINO	18
2.1 TESTÍCULOS:	18
2.2 EPIDÍDIMO:	19
2.3 ESCROTO:	19
2.4 CONDUCTO DEFERENTE:	20
2.5 GLÁNDULAS ACCESORIAS:	20
2.5.1 PRÓSTATA:	20
2.5.2 VESÍCULAS SEMINALES:	21
2.5.3 GLÁNDULAS BULBOURETRALES:	21
2.6 PENE:	21
2.7 PREPUCIO:	21
CAPITULO 3	22
SELECCIÓN DE REPRODUCTORES Y PROCESO DE RECOLECCIÓN DEL SEMEN	22
3.1 Criterios de selección	22
3.1.2 Pubertad del macho	22
3.2 Recolección del semen	24
3.3.1 Recolección de semen por vagina artificial	24
3.3.2 Recolección de semen por estímulo eléctrico	27
CAPITULO 4	29
CARACTERISTICAS Y VALORACIÓN SEMINAL	29
4.1 Color y olor del semen	30
4.2 Volumen del eyaculado	30
4.3 Concentración Espermática	31
4.4 Motilidad Espermática	32
4.4.1 Concentración de espermatozoides	33
4.4.2 Consistencia del semen	34
4.5 Morfología de los espermatozoides	35
CAPITULO 5	37
COMPILACIÓN DE LOS DIFERENTES PROTOCOLOS DE CRIOCONSERVACIÓN DE SEMEN CAPRINO	37
5.1 TRIS	40
5.2 Leche	42
5.2.1 Leche descremada	42
5.3 Yema de huevo	43
5.4 Lecitina de Soya	45
5.5 Glicerol	47

5.6 Diluyente Triladyl.....	48
5.6.1 Composición del diluyente Triladyl	49
5.7 Diluyente Andromed	49
5.7.1 Composición del diluyente Andromed.....	49
5.8 Steridyl	50
5.8.1 Composición del Steridyl	50
5.9 Biladyl.....	50
5.9.1 Composición del Biladyl.....	51
5.10 Uso del colesterol	51
5.11 Métodos de congelación del semen.....	52
5.11.1 Empacado de semen en pajillas.....	53
5.11.2 Método de pellets	53
5.11.3 MÉTODO DE ULTRACONGELADORES DE -152°C	54
5.11 Métodos de descongelación	55
5.11.1 Descongelación del semen en pellets	56
5.11.2 Posibles daños del semen después del descongelamiento	58
5.11.3 Examen del semen post-descongelamiento.....	60
CAPITULO 6.....	62
TASA DE EFECTIVIDAD DE LOS DIFERENTES MEDIOS DE CRIOPRESERVACIÓN	62
CONCLUSIONES	70
RECOMENDACIONES	71
REFERENCIAS	72
ANEXOS	77

LISTA DE ILUSTRACIONES

Imagen 1. Censo caprino 2018. Fuente: ICA – Censo Pecuario Nacional 2018.	15
Imagen 2. Cifras de concentracion de poblacion caprina en distintas zonas del país.....	16
Imagen 3. Aparato reproductor del macho, adaptado de Salamon’s Artificial Insemination of sheep and goats, Evans, G and Maxwell, WMC. Butterworth & Co.	18
Imagen 4. Corte transversal de un testículo de caprino (Garet Evans, 1990).....	19
Imagen 5. Corte transversal del escroto (Garet Evans, 1990).	20
Imagen 6. Pene de macho caprino (Garet Evans, 1990).....	21
Imagen 7. Vagina Artificial, sin acoplar (Izquierda), acoplada (derecha) (Garet Evans, 1990).	24
Imagen 8. Forma de sujeción de la vagina artificial (Garet Evans, 1990).....	25
Imagen 9. Recolección de semen por vagina artificial, las contracciones pélvicas son señales de eyaculación (Perulactea, 2018).....	27
Imagen 10. Sonda de carnero tipo Ruakura (Garet Evans, 1990).....	27
Imagen 11. Recolección de semen por medio de electroeyaculación (Garet Evans, 1990).	28
Imagen 12. Factores que afectan la calidad seminal en caprinos (Hafez & Hafez, 2002).....	29
Imagen 13. Muestra de semen caprino recolectado, el tubo se encuentra calibrado para apreciar el volumen del eyaculado (Garet Evans, 1990).....	31
Imagen 14. Motilidad de los espermatozoides observados bajo microscopio (Garet Evans, 1990).....	33
Imagen 15. Motilidad y concentración espermática (Garet Evans, 1990).....	33
Imagen 16. Morfología que se pueden encontrar en los eyaculados (Garet Evans, 1990).....	36
Imagen 17. Protocolo de recolección, congelación y empajillado de semen caprino (Almenar, 2007).....	38
Imagen 18. Motilidad espermática individual post-congelación de semen caprino congelado con dos diluyentes en base TRIS (Luzardo, 2010).....	41
Imagen 19. Diferentes atributos seminales en la cabra Sirohi sometidos a un proceso de congelación-descongelación (Anand & Yadav, 2016, pág. 204).	45
Imagen 20. Daño mitocondrial y viabilidad espermáticas en semen congelado utilizando lecitina de soya y yema de huevo (Quintero et al, 2017).	47
Imagen 21. Presentación del Triladyl 250g (MinitubeGroup).....	48
Imagen 22. Presentación del diluyente Andromed 200ml (Minitube Group).	49
Imagen 23. Presentación del diluyente Steridyl 300ml (Minitube Group).....	50
Imagen 24. Presentación del diluyente Biladyl fracción A 49g, Fracción B 250g (Minitube Group).	51
Imagen 25. Semen congelado por el método de pellets (Garet Evans, 1990).	54
Imagen 26. Descongelación de pellets en baño maría a 37°C (Garet Evans, 1990).....	57
Imagen 27. Comparación y efectividad entre dos diluyentes LD (Leche descremada) y CS (Citrato de sodio)....	68
Imagen 28. Comparación entre dos diluyentes comerciales Triladyl y Andromed.....	68
Imagen 29. Tasa de fertilidad entre semen fresco y semen refrigerado (Martinez et al, 2011).....	69

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Cabezas de ganado caprino en cada departamento del país. Fuente: ICA – Censo Pecuario Nacional 2018.	14
Tabla 2. Principales motivos de descarte en reproductores (Gibbons, 2002).	23
Tabla 3. Características del eyaculado de un semental, obtenido mediante vagina artificial.	26
Tabla 4. Clasificación de la onda de movimiento de los espermatozoides.....	34
Tabla 5. Concentración del semen de macho caprino valorada por su consistencia.	35
Tabla 6. Tasa de fertilidad e índices de prolificidad en cabras criollas inseminadas con semen refrigerado o por monta natural, 24 horas después de presentar celo.	65

INTRODUCCIÓN

La criopreservación de semen caprino es una de las biotecnologías más usadas en el ámbito de la reproducción en esta especie; da buenos resultados a nivel de concepción y garantiza una buena genética.

Sin embargo, este procedimiento puede presentar algunos inconvenientes derivados de la interacción entre las proteínas del semen, proveniente de las glándulas bulbouretrales, denominadas Enzima Coaguladora de la Yema de Huevo (EYCE) y el diluyente usado para aumentar el volumen del eyaculado y como medio de conservación de los espermatozoides (Gibbons, 2002). Durante la fase de conservación se producen toxinas que pueden afectar tanto la cantidad como la calidad del semen diluido.

Para evitar este problema se ha propuesto, en varios estudios a lo largo de los años, utilizar fuentes de proteína alternas como diluyente; como la leche UHT, la lecitina de soya o un procesado de yema de huevo.

También se ha recomendado hacer una previa centrifugación del semen para separar el plasma seminal del esperma; este último procedimiento presenta riesgos inherentes, pues el proceso de centrifugado tiende a dañar y matar los espermatozoides (Batista, Ceiro, Grimon, Brea, & Neira, 2006).

Estas técnicas de reproducción asistida se utilizan principalmente en países en donde la industria caprina es intensiva. Una primera búsqueda en los sitios de las asociaciones caprinocultoras en el país no ha producido información extensa respecto al uso de esta técnica. El objetivo de este trabajo es compilar información y analizar los protocolos existentes para la criopreservación del semen caprino y, así mismo, aportar a la caprinocultura en Colombia.

A pesar del gran potencial que tiene para el país la industria caprina, hasta el momento su crecimiento ha sido bajo. A la par con esta situación las investigaciones y la aplicación de modelos tecnológicos que propicien su desarrollo son escasos. Esto determina que hay insuficientes trabajos sobre la especie, a nivel nacional, y los modelos de producción sean principalmente artesanales. Aunque, se manejan de forma parcial algunas técnicas de reproducción asistida, mayoritariamente la fase de reproducción se realiza de forma natural lo que redundo negativamente en el aspecto productivo de la especie.

Se podría afirmar que, al no haberse encontrado documentación sobre el tema referente a Colombia, los criadores probablemente no conozcan a profundidad formas de mantener un banco genético o, tal vez, no sea una técnica relevante, hasta ahora, en la industria caprina del país.

En el año 2017 había dos millones de cabezas de ganado ovino y caprino aproximadamente. Ubicadas, principalmente, en la costa atlántica (La Guajira, Cesar, Sucre), Santander, Cundinamarca, Boyacá, Tolima, Valle del Cauca, Antioquia y los Llanos Orientales. Distribuidas en más de un millón de cabezas de ganado ovino y quinientas cincuenta y siete mil de ganado caprino (ICA, 2018).

La industria caprina en Colombia es pequeña si se compara con los sectores bovino, porcícola y avícola, principales sectores de la industria pecuaria en el país, registrándose para el año 2018 un total de 1'000.132 de cabezas registradas (ICA, 2018). Aunque incipiente, es un sector con potencial de crecimiento gracias a la adaptabilidad y resistencia de la especie, a los distintos ecosistemas del territorio, y el potencial mercado que puede haber para la venta y consumo de carne, leche y derivados.

Al ser una industria en crecimiento, vista muchas veces como un negocio familiar o alterno dentro de las fincas, es probable que los desarrollos tecnológicos no estén difundidos y que en algunas zonas se presente un alto grado de consanguinidad a causa de las distancias geográficas y las prácticas de los

criadores. Este proyecto se basa en la idea de que la compilación bibliográfica y la comparación de las diferentes técnicas de criopreservación pueden ser una herramienta útil para la industria caprina en el país. La difusión de estos métodos puede garantizar mayores tasas de preñez, mejor variabilidad genética, menores grados de consanguinidad y de esta manera se podrían evitar potenciales problemas endogámicos dentro de la producción.

Las anteriores consideraciones determinan la necesidad de llevar a cabo el presente estudio que pretende dar una vista clara a un método reproductivo artificial, como la criopreservación de semen, para que el sector caprino pueda aumentar sus índices productivos, generar empleos y aumentar la economía del país, a nivel industrial e, incluso, en donde la cría de cabras es una práctica artesanal, ayudar en la seguridad alimentaria de las comunidades.

OBJETIVOS

Objetivo general

Realizar una revisión y análisis de las actualizaciones en los diferentes protocolos utilizados para la criopreservación de semen del macho caprino (*Capra aegagrus hircus*).

Objetivos específicos

- Compilar y sistematizar las actualizaciones y protocolos más representativos en la criopreservación de semen en caprinos.
- Comparar metodologías y resultados de los diferentes protocolos utilizados para la criopreservación del semen del macho caprino.
- Analizar la eficacia de cada uno de los protocolos y su aplicabilidad en la producción caprina en Colombia.
- Realizar un análisis estadístico, a través del tiempo, de las actualizaciones de los protocolos de criopreservación existentes para semen caprino.

CAPITULO I

GENERALIDADES DE LA INDUSTRIA CAPRINA EN COLOMBIA

LA INDUSTRIA CAPRINA EN COLOMBIA

Entorno nacional

La producción de caprinos en Colombia se ubica principalmente en algunas regiones del país unida, principalmente, a particularidades culturales, tanto en su cría, como en su producción y consumo. Esta situación provoca que el crecimiento de esta industria sea limitado y el acceso a las biotecnologías, que podrían mejorar la reproducción, se restrinja por factores que podrían atribuirse al desconocimiento de estas por parte de los productores, entre otras. Según datos del Censo Pecuario Nacional de 2018 el país tiene una población de 1'000.132 cabezas de ganado caprino (ICA, 2018).

	departamento	caprinos (no. de cabezas)	porcentaje
	La Guajira	792.490	79,239
	Boyacá	38.737	3,873
	Magdalena	35.698	3,569
	Cesar	31.826	3,182
	Santander	29.492	2,949
	Cundinamarca	18.877	1,887
	Antioquia	7.527	0,753
	Córdoba	6.217	0,622
	Norte de Santander	5.800	0,580
	Meta	5.321	0,532
	Bolívar	3.941	0,394
	Cauca	3.602	0,360
	Atlántico	2.564	0,256
	Sucre	2.560	0,256
	Huila	2.337	0,234
	Tolima	2.308	0,231
	Casanare	1.697	0,170
	Caquetá	1.637	0,164
	Putumayo	1.415	0,141
	Arauca	1.300	0,130
	Guaviare	1.299	0,130
	Nariño	993	0,099
	Valle	818	0,082
	Quindío	682	0,068
	Caldas	419	0,042
	Risaralda	253	0,025
	Vichada	163	0,016
	San Andrés, Providencia y Sta. Catalina	101	0,010
	Chocó	31	0,003
	Vaupés	25	0,002
	Guainía	2	0,000
	Amazonas	0	0,000
	Bogotá, D.C.	0	0,000
	Total general	1.000.132	100%

Tabla 1. Cabezas de ganado caprino en cada departamento del país. Fuente: ICA – Censo Pecuario Nacional 2018.

Diez departamentos suman el 97.19% del ganado caprino en Colombia. Ubicados principalmente en el centro oriente y el norte del país. En La Guajira pastorean el 79.24% de todo el ganado caprino en Colombia.

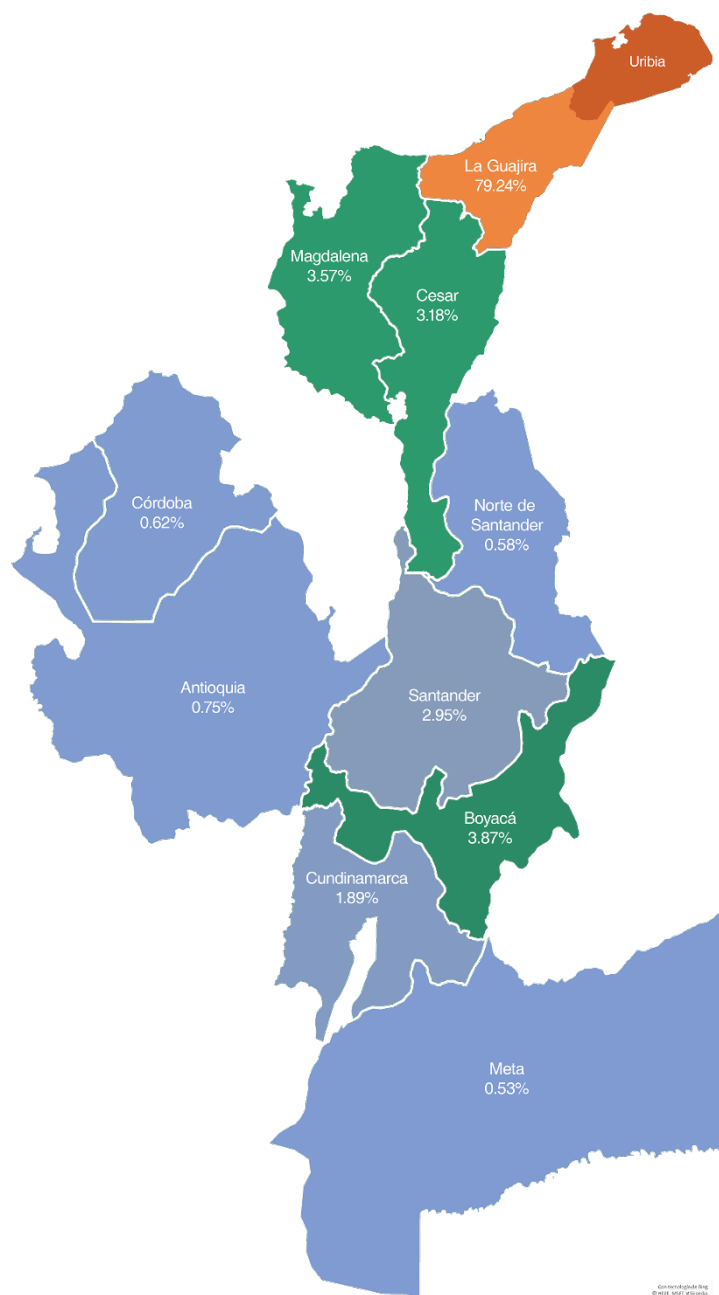


Imagen 1. Censo caprino 2018. Fuente: ICA – Censo Pecuario Nacional 2018.

Diez municipios concentran el 81.71%, cinco de ellos se ubican en La Guajira. Estos cinco municipios suman el 78.6% del censo caprino en 2018. En Uribia se encuentra el 45% del ganado caprino de todo el país. La proyección de población para Uribia en 2016 era de 180.385 habitantes. El 95.8% de la población se reconoce como Wayúu. Los Wayúu son criadores de cabras por idiosincrasia.

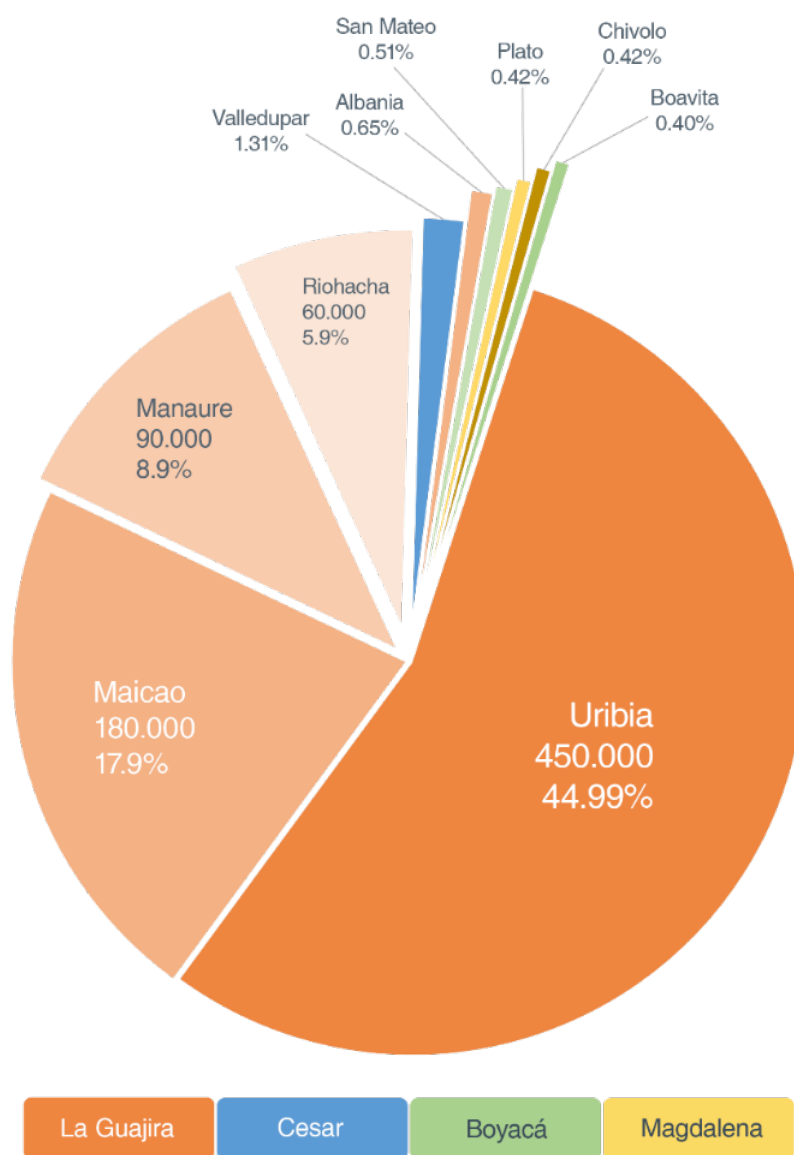


Imagen 2. Cifras de concentracion de poblacion caprina en distintas zonas del país.
Fuente: ICA – Censo Pecuario Nacional 2018.

Estos datos permiten delinear dos conclusiones *a priori*:

- La concentración mayoritaria de la población caprina en la región guajira, unida a las especificidades culturales propias de una comunidad étnica y la situación particular de dichas comunidades en su entorno, probablemente no sean los principales objetivos de las técnicas de criopreservación. Las posibilidades de su aplicación en ese contexto necesitarían un estudio distinto que desbordaría los límites de este proyecto (ICA, 2018).
- El 20.7% restante del censo caprino, 207.642 cabezas de ganado, que, en principio, no estaría asociado a prácticas étnicas, podría ser el beneficiario de una mejor comprensión de las técnicas de reproducción y criopreservación. Además, viendo el número y la distribución de los apriscos, es el sector que debería tener crecimiento y mercado en el futuro.

CAPITULO 2

GENERALIDADES DE LA ANATOMIA REPRODUCTIVA DEL MACHO CAPRINO

El aparato reproductor consta de dos testículos contenidos en el escroto, órganos accesorios y el pene, al que se le llama órgano externo, y es usado para la excreción de orina y para la cópula con la hembra.

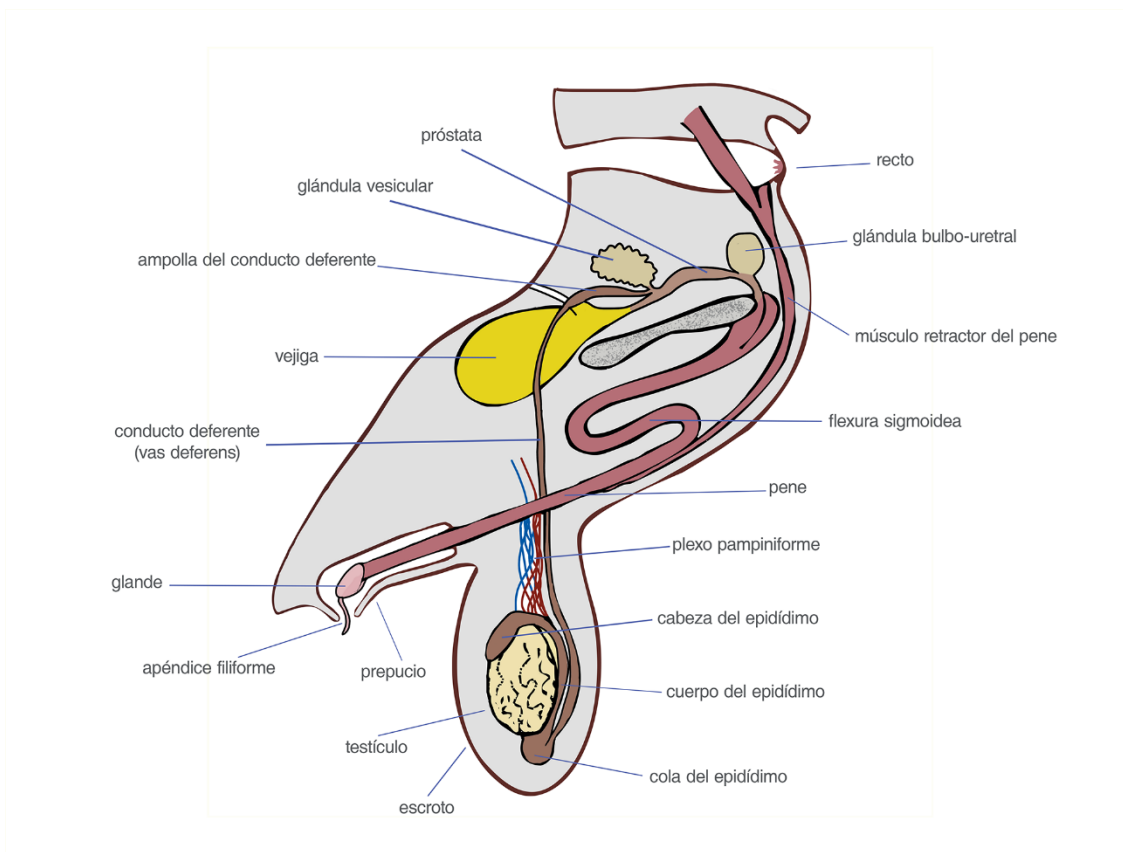


Imagen 3. Aparato reproductor del macho, adaptado de Salamon's Artificial Insemination of sheep and goats, Evans, G and Maxwell, WMC. Butterworth & Co.

2.1 TESTÍCULOS: Estos se localizan en la zona inguinal, mantenidos en un divertículo del abdomen denominado escroto. Los testículos son los encargados de la elaboración de los espermatozoides (células reproductoras) y la testosterona, que es la principal hormona masculina, siendo cada uno independiente y poseedor de su propio sistema nervioso y circulatorio. En su interior se encuentra dividido en varios compartimientos denominados lóbulos y dentro de ellos se encuentran los túbulos

seminíferos en donde se producen los espermias, mencionando que se encuentra el conducto deferente (Cantú Brito, 2008).

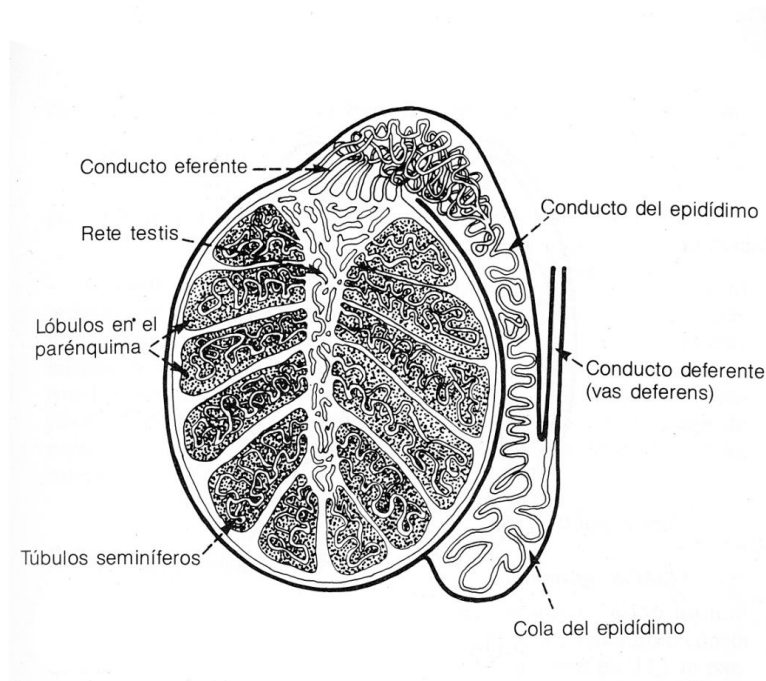


Imagen 4. Corte transversal de un testículo de caprino (Garet Evans, 1990).

2.2 EPIDÍDIMO: Es una parte complementaria del testículo en un tubo considerablemente largo y enrollado. Dividiéndose en tres porciones, cabeza, cuerpo y cola, siendo su función principal la concentración, transporte, maduración y almacenamiento de los espermatozoides (Garet Evans, 1990).

2.3 ESCROTO: Es un saco cutáneo que protege a los testículos; la piel del escroto es fina, plegable y sin pelo, y junto con el musculo cremáster, mantiene una temperatura adecuada para la espermatogénesis (Hafez & Hafez, 2002).

2.4 CONDUCTO DEFERENTE: Es la continuación del epidídimo y consta de un tubo muscular que, en el momento de la eyaculación, impulsa a los espermatozoides desde el epidídimo hasta el conducto eyaculador de la uretra. Su porción terminal se conoce como las ámpulas (Cantú Brito, 2008).

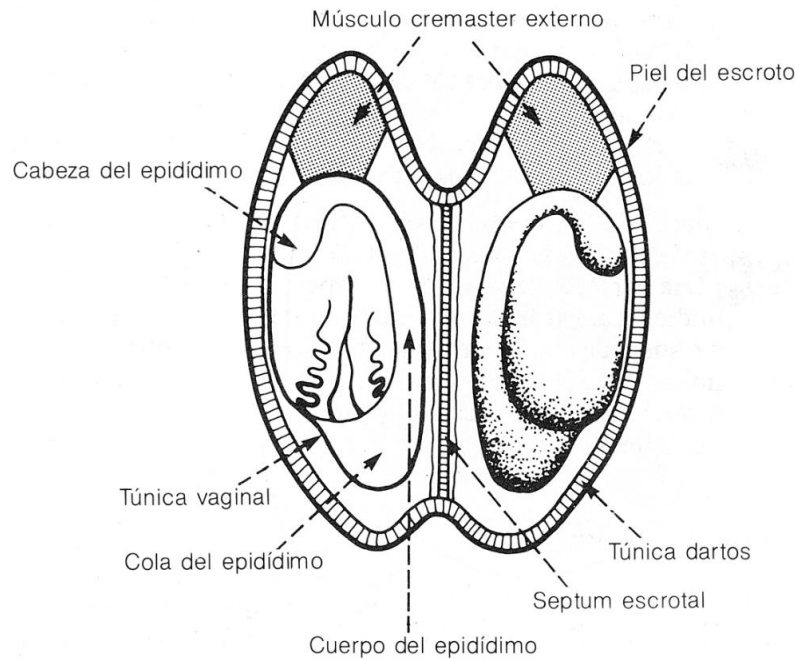


Imagen 5. Corte transversal del escroto (Garet Evans, 1990).

2.5 GLÁNDULAS ACCESORIAS: Varias glándulas, situadas próximas unas a las otras en la cavidad abdominal vierten sus secreciones en un conducto común; a excepción de las glándulas de Cowper, cuya secreción sirve para limpiar la uretra antes de la eyaculación. Estas glándulas son la próstata y las vesículas seminales (Brito, 2008).

2.5.1 PRÓSTATA: Es una glándula impar que rodea, más o menos, a la uretra pélvica y se encuentra diseminada en todo lo largo de la uretra. Su función es la de producir la secreción del semen, su olor característico y vigorizante para los espermatozoides (Brito, 2008).

2.5.2 VESÍCULAS SEMINALES: Son glándulas pares que desembocan, en común con los conductos deferentes, al nivel de la uretra pélvica; son muy pequeñas, pareciendo un minúsculo racimo de uvas. Son productoras de sustancias nutritivas y energizantes para los espermatozoides (Garet Evans, 1990).

2.5.3 GLÁNDULAS BULBOURETRALES: Las glándulas bulbouretrales, o glándulas de Cowper, se localizan sobre la uretra, antes de su salida de la cavidad pélvica. Estas glándulas producen líquidos que se vierten hacia la uretra al momento de la eyaculación y en conjunto con los espermatozoides conforman el semen (Morali, 2011).

2.6 PENE: Es el órgano masculino de la cópula; es de forma tubular y tiene en la punta una espícula frágil y delicada de gran sensibilidad. Es un tubo cavernoso, fibroelástico con forma sigmoidea, lo que permite su extensión al momento de la eyaculación. Teniendo dos funciones: excreción de la orina, y el de depositar el semen en la vagina de la hembra (Cantú Brito, 2008).

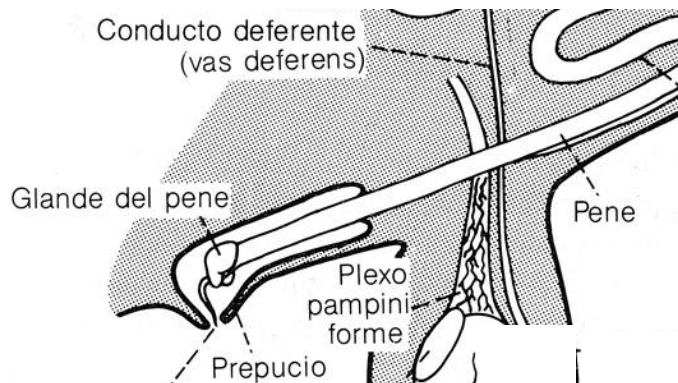


Imagen 6. Pene de macho caprino (Garet Evans, 1990).

2.7 PREPUCIO: Es la piel que cubre y protege el pene del animal. Es un pliegue de piel que rodea la extremidad libre del pene. Se deben examinar su forma y volumen, la superficie exterior y su consistencia y temperatura (Hafez & Hafez, 2002).

La producción seminal está especialmente condicionada por la raza y ciertos factores intrínsecos en el macho como edad, época del año, nivel nutricional etc. (Gibbons, 2002).

CAPITULO 3

SELECCIÓN DE REPRODUCTORES Y PROCESO DE RECOLECCIÓN DEL SEMEN

3.1 Criterios de selección

En los machos caprinos siempre se busca ciertas características físicas, que sean visualmente reconocibles (características fenotípicas), escogiendo por medio de la descendencia a los reproductores más apropiados (características genotípicas) teniendo, para esta selección, las pruebas de progenie y las pruebas de rendimientos realizadas a los reproductores.

Teniendo como criterios fenotípicos para la selección de los machos: Ser el más pesado del rebaño, con pecho amplio y tronco bien conformado, cuerpo recto en excelente condición y patas fuertes, sin defectos físicos visibles (patas torcidas, mandíbula superior o quijada saliente), ser mellizo, ser agresivo, dado que, con la agresividad, muestra la cantidad de la hormona testosterona presente en su torrente sanguíneo, por lo tanto puede manifestar comportamientos propios, como lo son el deseo sexual y la facilidad para montar varias hembras, tener buena conformación sobre el cuello y hombros, puesto que esto refleja la capacidad reproductora y, por último, debe poseer buenas características de semen, resaltando la ausencia de espermatozoides anormales (Secretaria Agropecuaria, 2003).

3.1.2 Pubertad del macho

En el macho caprino la aptitud para la reproducción ocurre entre los 6 y 12 meses de edad teniendo en consideración que, para lograr una espermatogénesis completa, se debe tener secreción de la hormona masculina Testosterona; la cual mostrará los caracteres sexuales secundarios, la mucosa prepucial,

manifestación de la libido y el desarrollo del pene que permitirá la eyaculación normal (Secretaría Agropecuaria, 2003).

El pico de su actividad sexual ocurre durante el otoño (en zonas con estaciones) y coincide con el drástico incremento en la concentración plasmática de testosterona durante la estación de apareamiento (Hafez & Hafez, 2002).

La copula , con eyaculación de espermatozoides viables, ocurre entre los cuatro y seis meses de edad con un peso corporal de 40 a 60% del equivalente al peso de un animal adulto. La concentración sérica de testosterona aumenta a una edad más temprana en los machos cabríos (17 a 20 meses), como con los bovinos la madurez sexual se correlaciona más con el peso corporal que con la edad del ejemplar (Secretaría Agropecuaria, 2003).

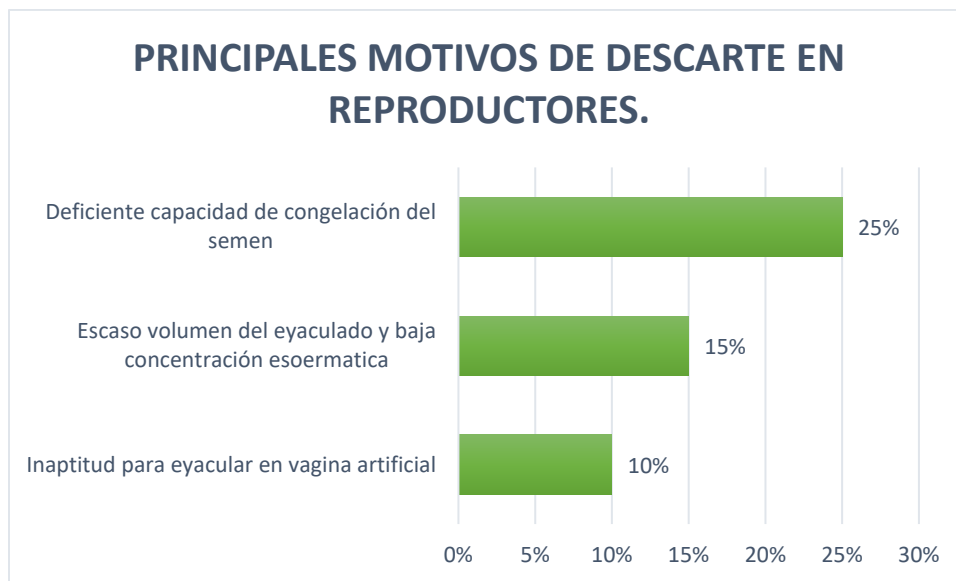


Tabla 2. Principales motivos de descarte en reproductores (Gibbons, 2002).

3.2 Recolección del semen

Existen dos métodos para la recolección del semen, denominados **recolección por vagina artificial y estimulación electrónica**; siendo el más utilizado la vagina artificial, debido a que no genera estrés en el animal y proporciona un semen de mejor calidad y se puede hacer varias colectas animal x día. La estimulación electrónica se implementa cuando se tiene un animal el cual no se pudo entrenar mediante la vagina artificial, pero, tiene como desventajas principales la contaminación del semen con orina y no se pueden hacer frecuentes recolecciones. Por este método se obtiene un mayor volumen de semen, pero con menor concentración de espermatozoides (Garet Evans, 1990).

3.3.1 Recolección de semen por vagina artificial

La vagina artificial es una imitación de la vagina de la cabra, que proporciona los estímulos de temperatura y presión, para que sea posible la duración de la erección del macho y lograr un eyaculado completo (Garet Evans, 1990).

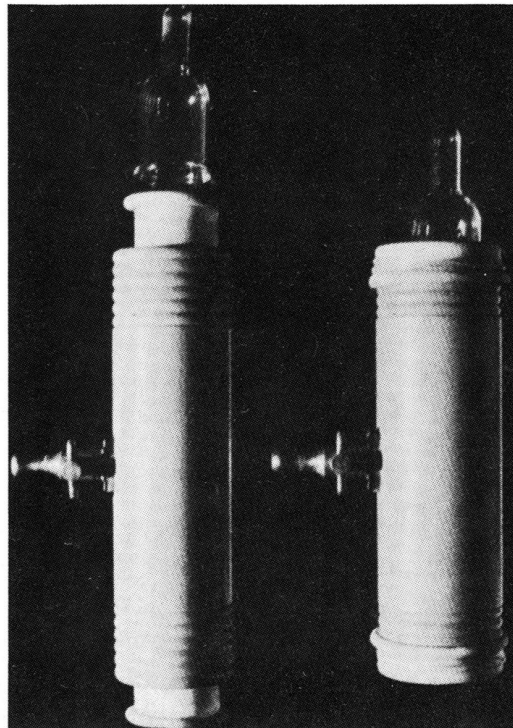


Imagen 7. Vagina Artificial, sin acoplar (Izquierda), acoplada (derecha) (Garet Evans, 1990).

La vagina artificial empleada para machos cabríos es similar a la usada para los toros, consistiendo en una caperuza externa (de 15 cm x 5,5 cm), fabricada con goma fuerte, plástico u otro material sintético que posea buenas propiedades aislantes, y un conducto interno fabricado de goma o cualquier material sintético apropiado; su tamaño se relaciona con la longitud del pene (Garet Evans, 1990).

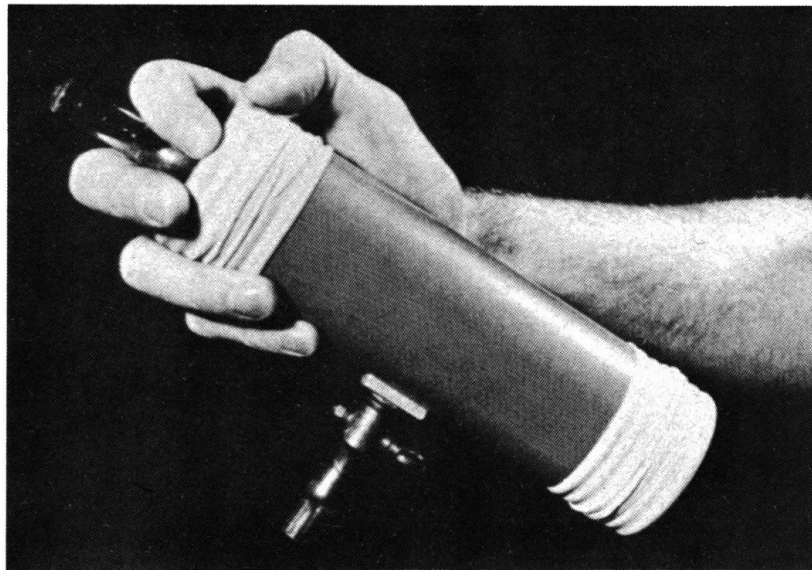


Imagen 8. Forma de sujeción de la vagina artificial (Garet Evans, 1990).

Para garantizar un procedimiento de recolección exitoso, se debe tener en cuenta varios factores:

- La temperatura de la vagina artificial deberá ser de 42-45 °C.
- Los tubos de recolección deben ser calentados a una temperatura de 30-37°C.
- Se debe hacer una limpieza cuidadosa del prepucio del macho, esto con el fin de eliminar rastros de suciedad y orina.
- Se puede utilizar un maniquí de cabra impregnado con orina de una hembra en celo (para lograr la estimulación sexual del macho). El operario debe estar en posición de agachado o en cuclillas, posicionándose del lado derecho del maniquí, colocando la vagina artificial en el flanco, realizando una sujeción en un ángulo de 45° con la abertura en dirección al macho. La espita de la vagina artificial debe dirigirse hacia abajo para evitar lesiones en el macho; se debe

dejar que el mayor termine de eyacular y que él mismo sea quien retire el pene, si se retira la vagina artificial sin que el macho haya retirado el pene se pueden generar lesiones.

- Se deben considerar las diferentes posiciones en las que los diferentes sementales realizan sus montas, esto con el fin de acomodar la vagina artificial para garantizar un buen recolectado.
- La frecuencia con la que se puede realizar la recolección depende de la edad, la condición y del temperamento del animal (Garet Evans, 1990).

Característica	Patrón Normal
Volumen (cc)	0,59
Motilidad Progresiva (%)	81,76
Células Espermáticas vivas (%)	91,36
Concentración (espermatozoides/cc)	3,128x
Anormalidades primarias (%)	2,2
Anormalidades secundarias (%)	4,13
Total Anormalidades (%)	6,36
Normales (%)	93,63

Tabla 3. Características del eyaculado de un semental, obtenido mediante vagina artificial.
Fuente: (Garet Evans, 1990).



Imagen 9. Recolección de semen por vagina artificial, las contracciones pélvicas son señales de eyaculación (Perulactea, 2018).

3.3.2 Recolección de semen por estímulo eléctrico

Se encuentran diferentes tipos de estimuladores eléctricos, siendo los más comunes los que poseen un electrodo bipolar para el recto. En lugares como Australia y Nueva Zelanda es el **Ruakura Ram Probe**, siendo un estimulador accionado por baterías que proporciona una salida de 10 o 15 voltios.

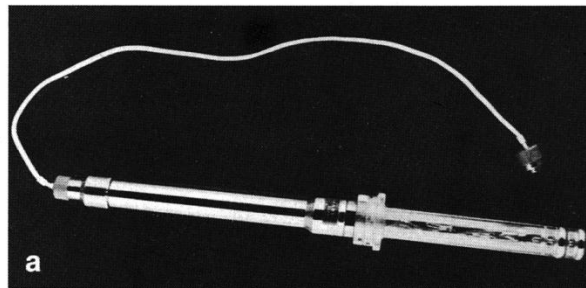


Imagen 10. Sonda de carnero tipo Ruakura (Garet Evans, 1990).

Para la colección de semen el macho se debe colocar en decúbito lateral, sobre el suelo o una mesa previamente limpiadas, procediendo luego a recortar todos los pelos y lanas que bordean la vaina y el prepucio se debe limpiar adecuadamente.

- La sonda se lubrica o humedece para ser introducida por el recto unos 15-20 cm, teniendo especial cuidado de no lastimar la mucosa del recto.
- El pene se debe extender, por enderezamiento de la flexura sigmoidea, de tal forma que el glande al quedar expuesto se pueda sujetar con la mano; luego se procede a limpiar y liberar el pene del prepucio.
- Por la parte posterior del glande se procede a colocar una gasa y se introduce el glande y el proceso uretral en un tubo de ensayo estéril. Se recomienda realizar sujeción del pene y del tubo con una misma mano, para así, con la mano que ha quedado libre, proceder a realizar masajes en el pene en dirección hacia adelante entre cada estímulo eléctrico.
- Se deben hacer aplicaciones de estímulos (3-8 segundos) a intervalos de 15-20 segundos; luego de unos cuantos estímulos se empezará a apreciar la salida de las secreciones de las glándulas accesorias. Se recomienda desechar estos productos antes de que el semen fluya esto con el fin de evitar diluciones innecesarias (Garet Evans, 1990) .

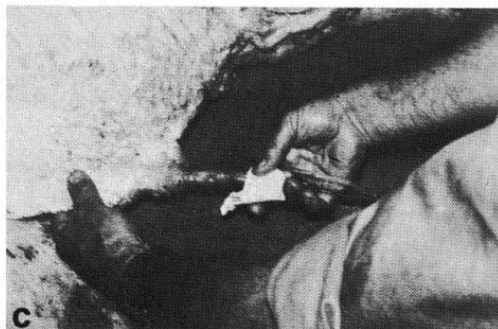
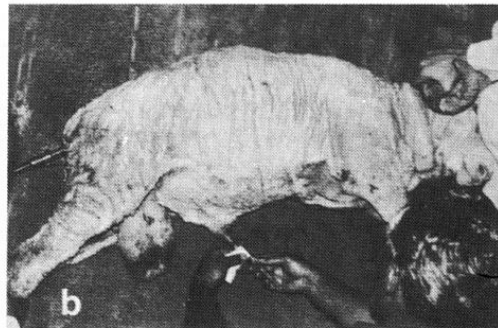


Imagen 11. Recolección de semen por medio de electroeyaculación (Garet Evans, 1990).

CAPITULO 4

CARACTERISTICAS Y VALORACIÓN SEMINAL

El semen de macho caprino varía en color del blanco grisáceo al amarillo, siendo su color más variable que en el semen de carnero, variando entre animales e, incluso, entre eyaculados del mismo semental. Presentando un volumen de 1.0 ml con un rango aproximado entre 0.5 y 1.2 ml (Garet Evans, 1990).

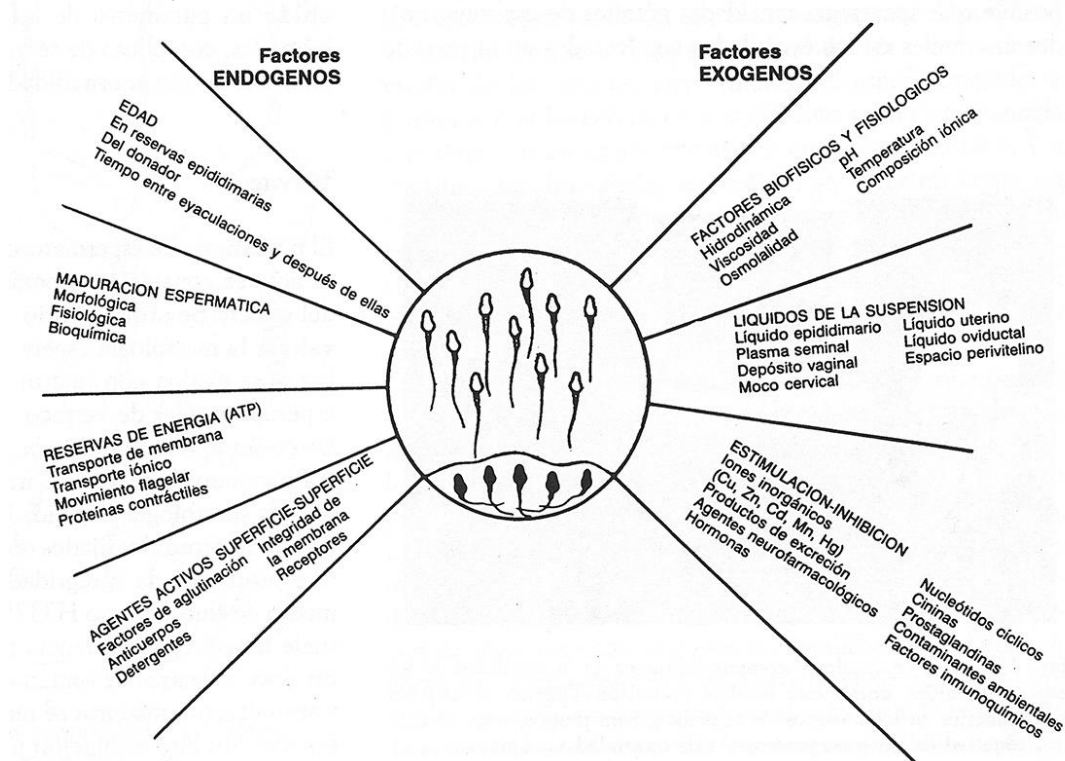


Imagen 12. Factores que afectan la calidad seminal en caprinos (Hafez & Hafez, 2002).

Los eyaculados de los machos caprinos varían en cuanto a cantidad y calidad espermática dependiendo, la cantidad de espermatozoides, del volumen y concentración del semen. Las características que más se deben considerar para determinar que un eyaculado es de calidad se nombran a continuación:

4.1 Color y olor del semen

El color del semen es el primer factor que se debe valorar. Se realiza en el tubo de recolección inmediatamente después de haber sido obtenido; siendo generalmente su color de tonos grisáceos o amarillos. Observando que, si presenta un poco de sangre el eyaculado, este presentará un color rosáceo debido a posibles lesiones en el pene del macho. Las coloraciones gris o parda son señales de que se presentó contaminación o el tracto reproductor del semental presenta una infección. Cuando el eyaculado presenta orina se podrá apreciar una coloración menos intensa; esta coloración se puede presentar cuando se ha obtenido el semen por medio de electroeyaculado (Garet Evans, 1990).

4.2 Volumen del eyaculado

El volumen del eyaculado se puede medir de dos formas; una puede ser directamente en el tubo de recolección, si este está calibrado, o, por medio de una pipeta calibrada si la recolección de semen es por medio de vagina artificial.

El volumen del eyaculado suele ser de 1.0 ml, tomando como factores **edad, condición corporal del animal, frecuencia con que se realizan las recolecciones y la destreza del operario encargado.** Mostrando que los animales más jóvenes, o en condición corporal baja, presentan menos volumen de eyaculado. Cuando el semen se obtiene por electroeyaculación, el volumen que se logra obtener depende tanto de la pericia del operario como la respuesta del semental al procedimiento (Garet Evans, 1990).

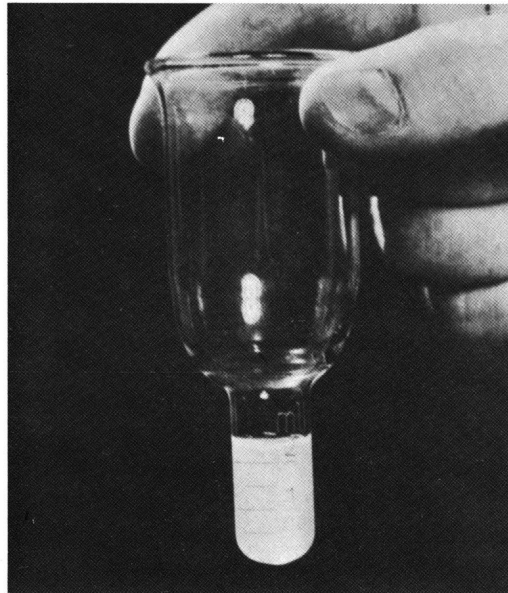


Imagen 13. Muestra de semen caprino recolectado, el tubo se encuentra calibrado para apreciar el volumen del eyaculado (Garet Evans, 1990).

4.3 Concentración Espermática

La concentración espermática es uno de los factores que predominan durante el análisis del semen post-colecta; siendo este de vital importancia dado que, una concentración espermática baja, indicará que el semental no es apto para ser reproductor. La concentración se determina por medio de un **hematocitómetro, un colorímetro o un espectrofotómetro** (Hafez & Hafez, 2002).

El hematocitómetro es un portaobjetos de microscopio que cuenta con guías numeradas con precisión. La cantidad de espermatozoides por cámara se cuenta manualmente y, aunque se considera un trabajo que conlleva demasiado tiempo, es bastante efectivo; sin embargo, este método se puede sustituir por un espectrofotómetro o un colorímetro calibrado, que poseen la ventaja de ser precisos y rápidos (Hafez & Hafez, 2002). En el macho caprino no se puede utilizar el colorímetro debido a la diferenciación de color del eyaculado; la concentración de espermatozoides es menor que en el carnero y va de 2.5×10^9 a 5.0×10^9 espermatozoides por ml (Hafez & Hafez, 2002).

4.4 Motilidad Espermática

La valoración de la motilidad implica la estimación subjetiva de la viabilidad de los espermatozoides y la calidad de la motilidad; por lo general, se utiliza el análisis del espermatozoide con microscopio de luz. La evaluación de la motilidad de los espermatozoides se realiza con semen puro y diluido (la solución para este diluido es citrato de sodio al 2,9% y 5 ml de formalina por litro al 10%), esta valoración indica el comportamiento de los espermatozoides en su propio líquido de las glándulas accesorias (Hafez & Hafez, 2002). La motilidad espermática es en extremo susceptible a las condiciones ambientales (como el exceso de calor o de frío).

Un estudio realizado por Wahjuningsih reporta: “ La motilidad de los espermatozoides disminuye con el aumento de la concentración y la duración del almacenamiento a 5°C. La concentración de espermatozoides de 40×10^6 / ml de semen y la duración del almacenamiento de 0 h en 5°C mostraron la motilidad individual más alta de los espermatozoides. Sin embargo, todos los niveles de concentración de espermatozoides y el tiempo de almacenamiento a 36 horas a una temperatura de 5°C todavía se pueden usar para la IA¹”

Diferentes autores han encontrado una variabilidad en la motilidad espermática post-descongelación a lo que se le atribuyen diferentes factores como: el medio diluyente, protocolo de dilución y congelación y los diferentes procesos de evaluación (Hernández-Corredor, Dorado, Quintero-Moreno, Ortiz, & Buzón, 2014).

¹ Traducción propia.

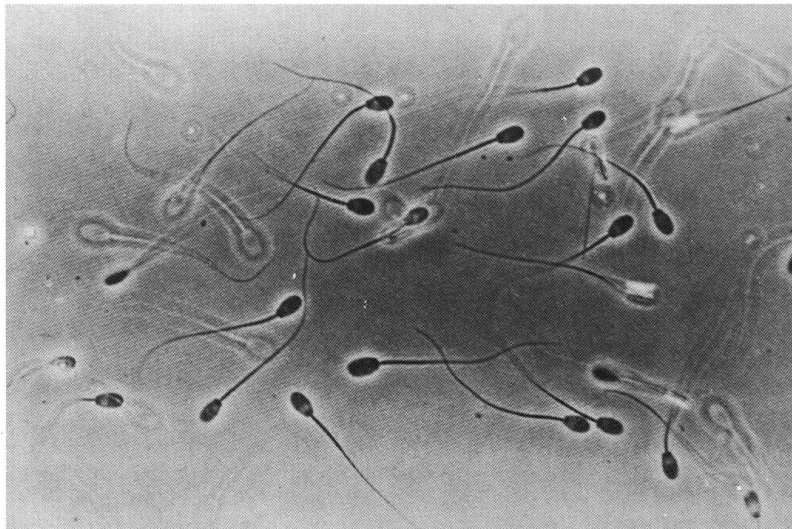


Imagen 14. Motilidad de los espermatozoides observados bajo microscopio (Garet Evans, 1990).

4.4.1 Concentración de espermatozoides

Se dice que la concentración de espermatozoides es el número de espermatozoides por unidad de volumen, normalmente expresado en **ml**; es muy importante ya que la relación de dilución depende de ella (Garet Evans, 1990). En la tabla 3 se puede dar una clasificación de la onda de movimiento de los espermatozoides, con una clasificación de 0 a 5 (0 equivalente a muertos y 5 una onda de movimiento muy buena).

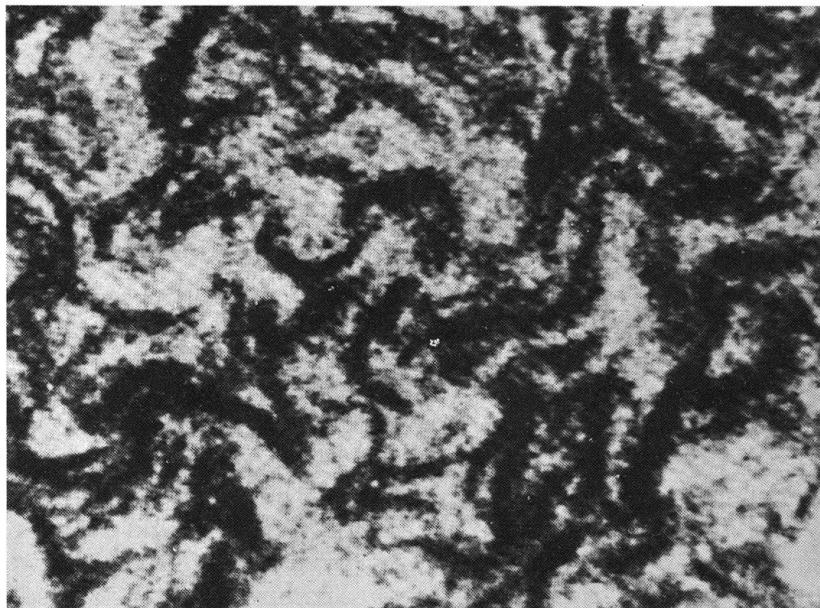


Imagen 15. Motilidad y concentración espermática (Garet Evans, 1990).

Valor	Clase	Descripción
5	Muy buena	El 90% o más de los espermatozoides son activos
4	Buena	Entre un 70-85% de células activas
3	Regular	Entre un 45-65% de células activas
2	Pobre	Entre un 20-40% de movilidad espermáticas aunque muy leve.
1	Muy Pobre	Alrededor de un 10% presenta movimiento aunque muy débil.
0	Muertos	No se observa ningún movimiento en los espermatozoides.

Tabla 4. Clasificación de la onda de movimiento de los espermatozoides
Fuente: (Garet Evans, 1990).

4.4.2 Consistencia del semen

La consistencia del semen depende de la relación de contenido de sus dos constituyentes: espermatozoides y plasma seminal. Las muestras de semen de alta consistencia contienen más espermatozoides que las que tienen menor consistencia o son más acuosas (Garet Evans, 1990).

El semen de macho caprino se puede clasificar en diferentes tipos de consistencia según la tabla 4. Los valores para el conteo de espermatozoides se han determinado mediante hemocitómetro.

Valor	Consistencia	N° de espermatozoides (x10 ⁹) por ml	
		Media	Valores externos
5	Cremosa espesa	5.0	4.5-6.0
4	Cremosa	4.0	3.5-4.5
3	Cremosa tenue	3.0	2.5-3.5
2	Lechosa	2.0	1.0-2.5
1	Nebulosa	0.7	0.3-1.0
0	Clara (acuosa)	Insignificante	

Nota: El semen lechoso, nebuloso o acuoso no debe usarse en la IA.

Tabla 5. Concentración del semen de macho caprino valorada por su consistencia.
Fuente: (Garet Evans, 1990).

4.5 Morfología de los espermatozoides

El examen morfológico del semen es una prueba de control de calidad. Cada eyaculado contiene una serie de espermatozoides anormales, pero, si la proporción es muy alta nos encontramos ante un semen de baja fertilidad (Garet Evans, 1990). Es necesario evaluar, por lo menos, 200 espermatozoides individualmente para determinar la presencia tipo e incidencia de cada defecto morfológico, realizando un registro de los defectos específicos de esta índole (Hafez & Hafez, 2002).

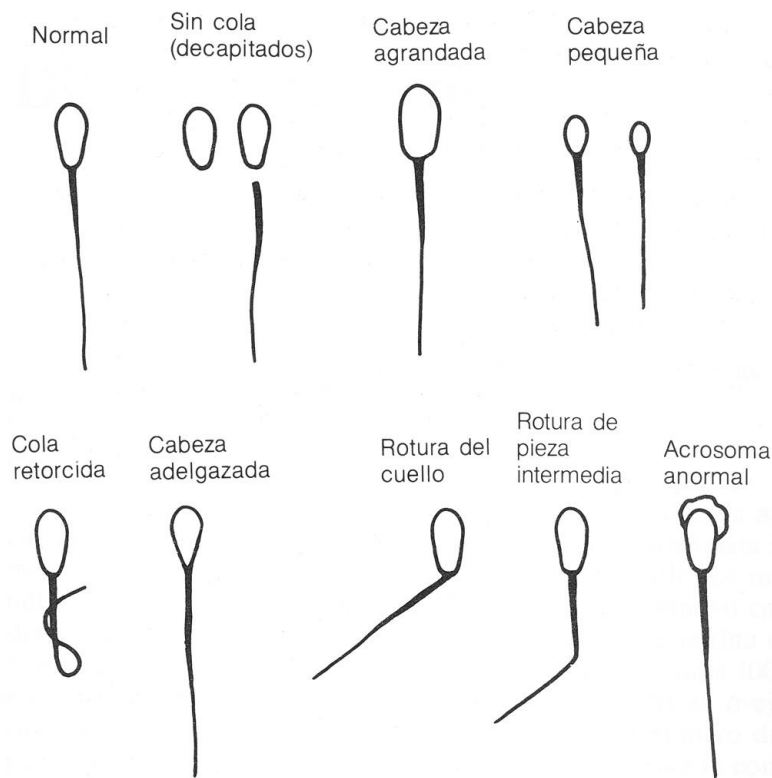


Imagen 16. Morfología que se pueden encontrar en los eyaculados (**Garet Evans, 1990**).

La asociación del aumento de las anomalías morfológicas de los espermatozoides con una reducción de la eficiencia reproductiva se ha documentado para machos caprinos (Gravance et al., 1998): “Las diferencias en el tamaño de la cabeza entre espermatozoides vivos y muertos, posiblemente se deben a que estos últimos han modificado la función de la membrana y han perdido parte de su contenido intracelular como resultado de la degeneración” (Hernández-Corredor, Dorado, Quintero-Moreno, Ortiz, & Buzón, 2014). Aunque el efecto macho tiene una influencia significativa en las características morfológicas evidencian que no pudieron encontrar ninguna variación significativa entre los machos caprinos o las eyaculaciones para la morfología de los espermatozoides (Madurantakam et al, 2016).

CAPITULO 5

COMPILACIÓN DE LOS DIFERENTES PROTOCOLOS DE CRIOCONSERVACIÓN DE SEMEN CAPRINO

El fundamento principal de la crioconservación del semen es prolongar la capacidad de fertilización de los espermatozoides al reducir o detener su movilidad y reacciones metabólicas. El semen de macho caprino, al igual que el semen de toro, se puede conservar en estado líquido o congelado; en estado líquido por poco tiempo y depende, principalmente, de la reducción reversible de la motilidad y actividad metabólica de los espermatozoides a temperaturas reducidas (5°C o 15°C) o en dióxido de carbono. En ambas situaciones la vida de los espermatozoides se puede prolongar por intervalos de tiempo más largos, no obstante, el periodo en que se mantiene la capacidad fertilizante de los espermatozoides es mucho más viable cuando el semen se congela y conserva a muy bajas temperaturas (Garet Evans, 1990). En nitrógeno líquido, a -196°C, las reacciones metabólicas de los espermatozoides quedan detenidas. Esto hace que el semen se pueda conservar durante periodos prolongados de tiempo con lo que se pueden conservar genes, para un futuro uso, y se asegure la disponibilidad de un semental en particular. También facilita su transporte tanto en el entorno nacional como internacional (Garet Evans, 1990).

Para asegurar que el semen llegue en óptimas condiciones a destino se debe tener en cuenta, no sólo la temperatura del termo de nitrógeno líquido, sino, también, el protocolo que se utilizó previamente en el laboratorio debido a la susceptibilidad del semen de cabra; esto se debe a una proteína que se genera en las glándulas bulbouretrales del semental llamada Enzima Coaguladora de la Yema de Huevo (EYCE), ya que si el diluyente usado contiene alguna proteína, específicamente yema de huevo, esta puede actuar de forma negativa junto con el plasma seminal creando una sustancia que puede actuar como espermicida (Kozdrowki, et al, 2007) .

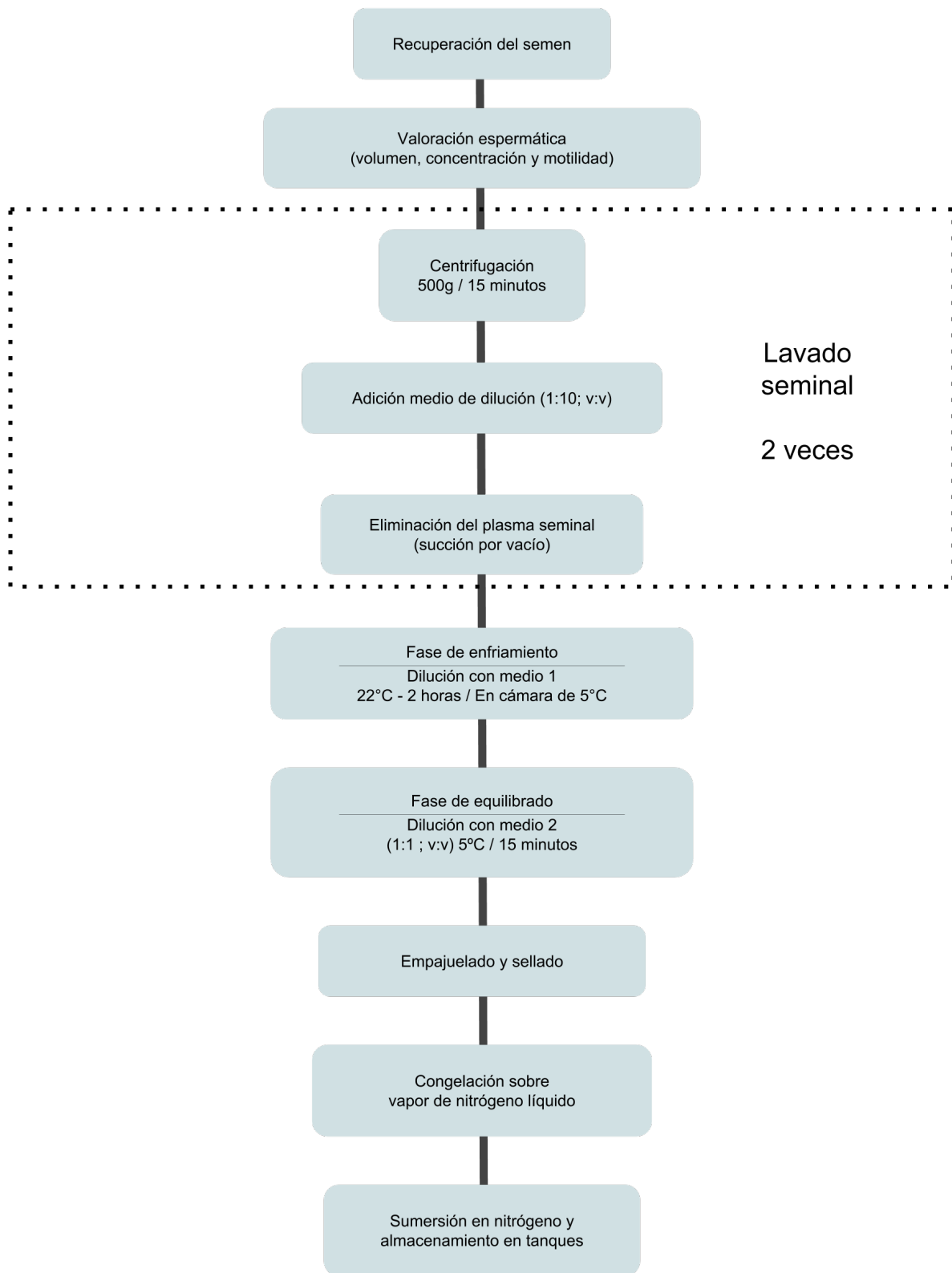


Imagen 17. Protocolo de recolección, congelación y empajillado de semen caprino (Almenar, 2007).

Para contrarrestar este problema se ha propuesto, en varios estudios a lo largo de los años, utilizar fuentes de proteína alternas como diluyente; como la leche UHT, la lecitina de soya o un procesado de yema de huevo, o eliminando el plasma del semen mediante un proceso de centrifugado, pero, esto puede ser riesgoso dado que puede afectar el acrosoma de los espermatozoides haciendo que las tasas de fecundación disminuyan (Batista, Ceiro, Grimon, Brea, & Neira, 2006).

Los diluyentes utilizados para la crioconservación de semen deben reunir los siguientes requisitos:

- Componente tampón (Tris, citrato de sodio).
- Fuente energética (glucosa, fructosa).
- Crioprotector externo (leche, yema de huevo).
- Crioprotector interno (lactosa, glicerol).
- Antibiótico (penicilina, estreptomicina) (Corredor, 2014).

Al no existir un diluyente universal se manejan varias fórmulas ya existentes en diferentes concentraciones para cada tipo de semen, encontrándose que los diluyentes principales en la criopreservación de semen caprino son los siguientes:

- Tris, fructosa o glucosa, yema de huevo, glicerol.
- Tris, ácido cítrico, fructosa, yema de huevo, glicerol.
- Glucosa, leche descremada, glicerol.
- Citrato de sodio, glucosa, yema de huevo, glicerol.
- Citrato de sodio, agua de coco, yema de huevo, glicerol (Luzardo, 2010).

Destacando el uso de la combinación de leche descremada, glucosa y glicerol, y Tris, glucosa ácido cítrico, yema de huevo y glicerol (Gibbons, 2002).

Guerrero et al (2009) citan “Adicionalmente, otros componentes tales como azúcares no difundibles (lactosa, sucrosa, dextrano, trealosa) han sido empleados porque proveen protección al enfriamiento mejorando la restauración postcongelamiento del esperma (Chen et al., 1993; De Leeuw et al., 1993; Woelders et al., 1997)”.

5.1 TRIS

Tris es el nombre abreviado del compuesto orgánico conocido como **tris(hidroximetil)aminometano**, de fórmula $(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$. Se utiliza ampliamente en bioquímica y biología molecular (Elaboración propia, 2019). Empleándose, principalmente, como agente buffer en criopreservación de semen de toro, caprino y carnero; con la particularidad de que puede formar soluciones acuosas y sistemas reguladores de la concentración de iones de hidrogeno. Posee un constante de disociación básica tal que, una solución de 50 mm de Tris correspondiente a un pH de 10.4, es capaz de proteger a los espermatozoides de cambios de pH. Por tal razón para ser utilizado en la criopreservación de semen requiere estar asociado con el ácido cítrico (Monzón, 2005). Así los espermatozoides de caprino pueden sobrevivir a una concentración de Tris en un amplio rango (300-600 mm) (Tabarez, 2014).

Los principales diluyentes artesanales llevan este compuesto, como sustancia buffer o tampón, con la inclusión de los agentes crioprotectores internos y externos, fuentes energéticas, y el agente antibiótico (Luzardo, 2010). Corredor et al, (2013) determinó mediante el uso de diluyentes en base TRIS un movimiento rápido progresivo de 34,4% post-descongelación del semen. La USDA (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos) menciona en un estudio realizado por Mook et al (2008) la composición ideal del diluyente TRIS, yema de huevo, glicerol:

100ml Diluyente a base de Tris, yema de huevo, glicerol

Tris	2.422g
Fructosa	1.0g
Ácido Cítrico	1.36g
Penicilina G	0.006g
Sulfato de Estreptomicina	0.100g
Yema de Huevo	2.5% del volumen total del diluyente
Glicerol	2.0% del volumen total del diluyente
pH	Entre 6.8-7.0 (Agriculture, 2016).

Siendo este el diluyente más común utilizado en los protocolos de crioconservación de semen caprino en Estados Unidos (Agriculture, 2016).

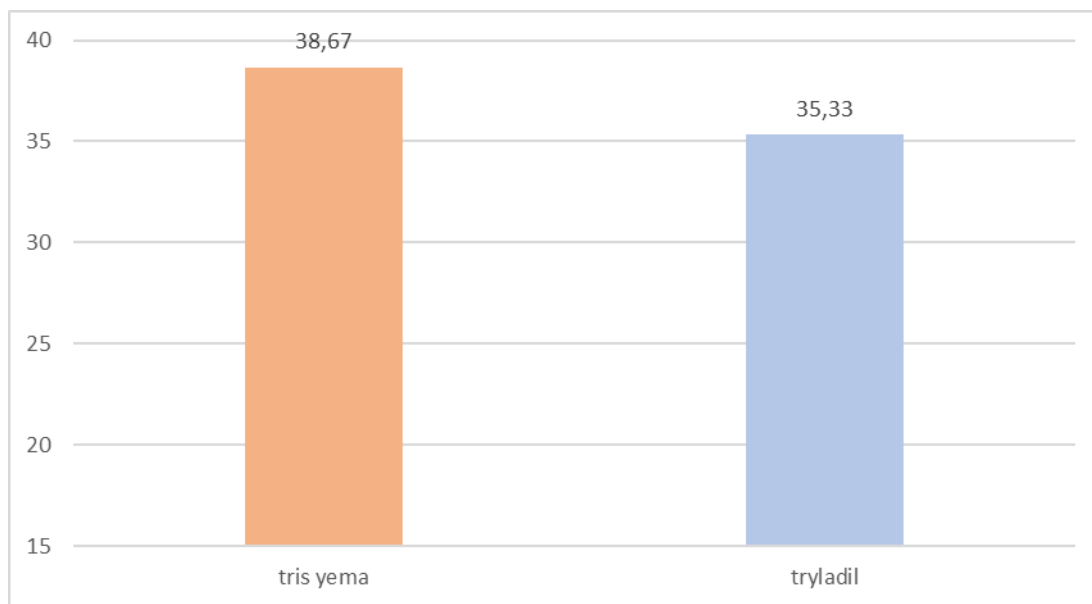


Imagen 18. Motilidad espermiática individual post-congelación de semen caprino congelado con dos diluyentes en base TRIS (Luzardo, 2010)

5.2 Leche

La lactosa es uno de los componentes importantes de la leche que no puede difundirse a través de la membrana plasmática celular, por lo tanto, ayuda a crear presión osmótica alrededor de la célula y evita la cristalización intracelular. La unión de proteínas seminales se reduce por la caseína de la leche, también, disminuye el daño a los lípidos de la membrana celular y mejora la movilidad y la viabilidad de los espermatozoides. Una serie de trabajos de investigación publicados a mediados del siglo XX, sobre los extendedores que contienen leche para la crioconservación junto con el glicerol, es decir, el extensor a base de glicerol de leche, revolucionaron la crioconservación del semen (Fawad Ur Rehmana, 2013).

5.2.1 Leche descremada

La leche descremada es otro de los compuestos clásicos utilizados en la preparación de diluyentes para semen; considerado como uno de los que mayor perspectiva tendría para ser utilizado en caprinos. Indicándose que el semen caprino se puede diluir directamente en la leche descremada, previamente calentada a baño María hasta punto de ebullición y enfriada a temperatura ambiente; este proceso se realiza con fin de inhibir la lactenina, presente en la leche, y que resulta ser toxica para los espermatozoides. Este calentamiento de la leche promueve el desdoblamiento de la lactosa a glucosa y galactosa, las cuales pueden ser usadas por los espermatozoides como fuentes energéticas de mayor disponibilidad (De la Vega, 2000).

Sin embargo, cabe destacar que investigaciones recientes indican sobre la presencia de una lipasa bulbouretral en el plasma seminal del caprino; esta actuaría sobre los triglicéridos de la leche, catabolizando la formación de ácido oleico, el cual sería el responsable del deterioro de los espermatozoides cuando el semen es diluido en leche descremada (De la Vega, 2000). Arrojando la necesidad de hacer un lavado seminal aun cuando este se diluya en LD.

El uso de extensores a base de LD es también común en la criopreservación de semen caprino. Un estudio realizado por Nor-Ashikin y Abdullah (2011), menciona que “Una mezcla que contenía 10,0 g de leche descremada (menos del 1% de contenido de grasa), 0,2 g de D-glucosa en 100 ml de agua, se calentó a $91 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 10 minutos, se enfrió a temperatura ambiente y se añadió 0,03 g de sulfato de estreptomicina y 0,02 g de penicilina-G (sal de sodio). Luego se añadió 14% de glicerol al 86% de esta mezcla²” (Abdullah & Nor-Ashikin, 2011, pág. 286). Para lograr conservar el semen fresco y para evitar los efectos tóxicos presentes en la proteína utilizada como crioprotector.

5.3 Yema de huevo

La yema de huevo (YH) se utiliza ampliamente para la disolución del semen de diferentes especies. En bovinos es donde se usa más comúnmente, dado el alto nivel de *factores de protección espermática* que se le atribuyen. Este efecto se debe a la presencia de lipoproteínas, lecitinas, y glucosa, lo que permite un correcto mantenimiento de la viscosidad del semen (De la Vega, 2000).

Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, en el caso de los caprinos la presencia de una fosfolipasa A en el plasma seminal, proveniente de las glándulas bulbouretrales, cataliza la hidrólisis de las lecitinas dando como resultado la liberación de las lisolecitinas y ácidos grasos al medio de dilución, los cuales resultan tóxicos para los espermatozoides (Luzardo, 2010). Roy (1957) adjudicó este evento y lo llamó Factor Coagulador de la Yema de Huevo (FC). La acción de este FC se intensificará con el paso del tiempo, por lo que la toxicidad no se manifestará de inmediato, sino que se empieza a notar en el transcurso del proceso; el semen obtenido por el proceso de electroeyaculado tendría una mayor presencia de FC (De la Vega, 2000).

² Traducción propia

Un estudio realizado por Buitrago y Pérez (2008) señala que “Sin embargo, en el caso de la motilidad individual el diluyente [...] con yema de huevo líquida (SYHL) obtuvo el mejor promedio tanto en la evaluación a 30°C, la cual fue de 72,5%, como a 5°C que fue de 68,3%, [...] y el diluyente [...] con yema en polvo (SYHP) obtuvo una media de motilidad individual de 67,5% a 30 °C y de 63,3 % a 5 °C” (Buitrago Peña & Pérez Sánchez, 2008, pág. 57).

La yema de huevo – tris - amino metano se ha utilizado durante mucho tiempo en el diluyente de semen para proporcionar protección a los espermatozoides extracelulares durante el almacenamiento a bajas temperaturas. Se añadió diluyente de yema de huevo para proteger a los espermatozoides como antioxidantes no enzimáticos durante el proceso de almacenamiento (Kumar 2003) . Este estudio tiene como objetivo determinar el efecto de la concentración de espermatozoides y la duración del almacenamiento en 5°C sobre la motilidad de los espermatozoides (Wahjuningsih, Hermanto, Nuryadi, Budiarto, & Bhintoro, 2012)

En la imagen 19 se muestran los efectos del proceso de congelación y descongelación en el porcentaje vivo, el control y el porcentaje de espermatozoides con acrosoma intacto. Los valores medios observados de los diferentes atributos seminales estuvieron bien, dentro del rango normal en los tres pasos evaluados durante el experimento (Anand y Sarvajeet, 2016). Se observó una diferencia significativa ($p < 0.01$) en los tres pasos estudiados durante el proceso de congelación-descongelación con los valores más altos observados en el puro, seguido de dilución y semen post-descongelación. Un valor significativamente menor ($p < 0.01$) registrado, para semen diluido en comparación con el puro, puede ser el resultado de una interacción letal entre el plasma seminal y la yema de huevo en el extensor de semen suplementado con trastorno osmótico (Anand & Yadav, 2016).

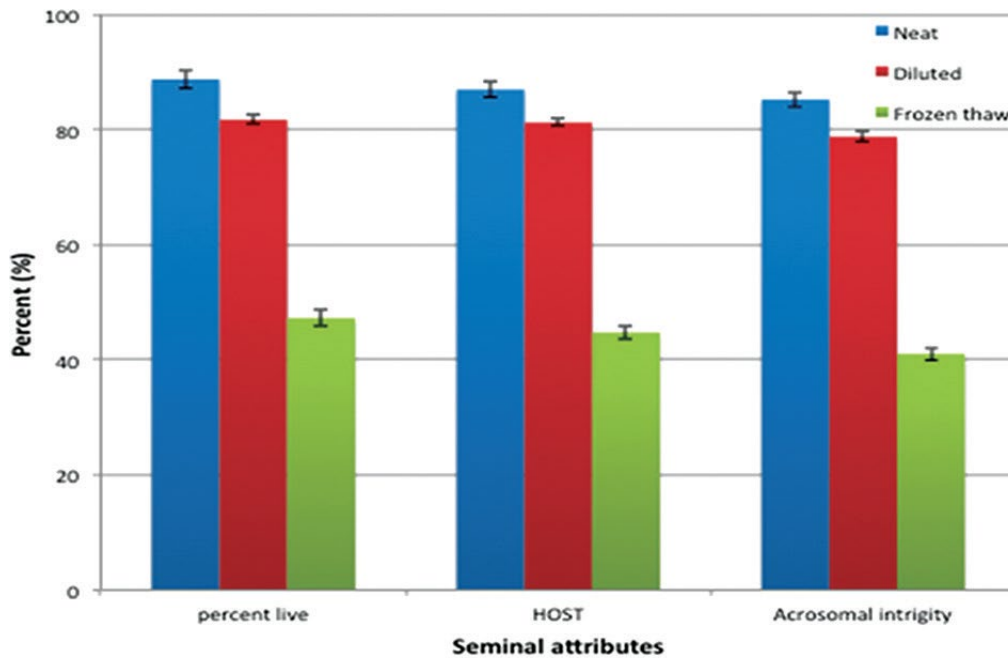


Imagen 19. Diferentes atributos seminales en la cabra Sirohi sometidos a un proceso de congelación-descongelación (Anand & Yadav, 2016, pág. 204).

Para una solución al uso de yema de huevo en estado puro es recomendable utilizar un medio liofilizado, a base de Tris, con un porcentaje de yema de huevo de un 4,5%, lo que evita el lavado seminal por centrifugación; esto conlleva a que haya una mayor cantidad de espermatozoides vivos al momento de la congelación (Martínez, Duverger, Díaz, Interian, & González-Peña, 2011).

5.4 Lecitina de Soya

La lecitina de soya es un crioprotector de origen vegetal y su uso está considerado como una alternativa a la yema de huevo para la criopreservación de espermatozoides de varias especies, especialmente caprinos, ya que contiene un alto contenido de LDL. La adición de la lecitina, en los diluyentes de crioconservación, parece no tener ningún efecto citotóxico, como tampoco efectos negativos en la motilidad de los espermatozoides; en la actualidad existen varios diluyentes comerciales que incluyen en su composición la lecitina de soya (García Vera, 2014).

Gibbons (2002) hace referencia al uso de la lecitina de soya, en lugar de la yema de huevo, para evitar la reducción de la motilidad espermática y obtener así un mejor resultado post-descongelación. Sariozkan et al, (2010) realizó un reporte de mayor velocidad de motilidad espermática, a través del sistema C.A.S.A, para espermatozoides caprinos congelados en el producto comercial Bioxcell® en comparación a un medio diluyente a base de yema de huevo (Hernández et al, 2002).

Hernández-Corredor et al. (2014) hablan de la eficiencia de la lecitina de soya en varios protocolos de crioconservación de semen caprino, sin embargo, no se encuentra registro de su efecto en la morfometría y vitalidad espermática.

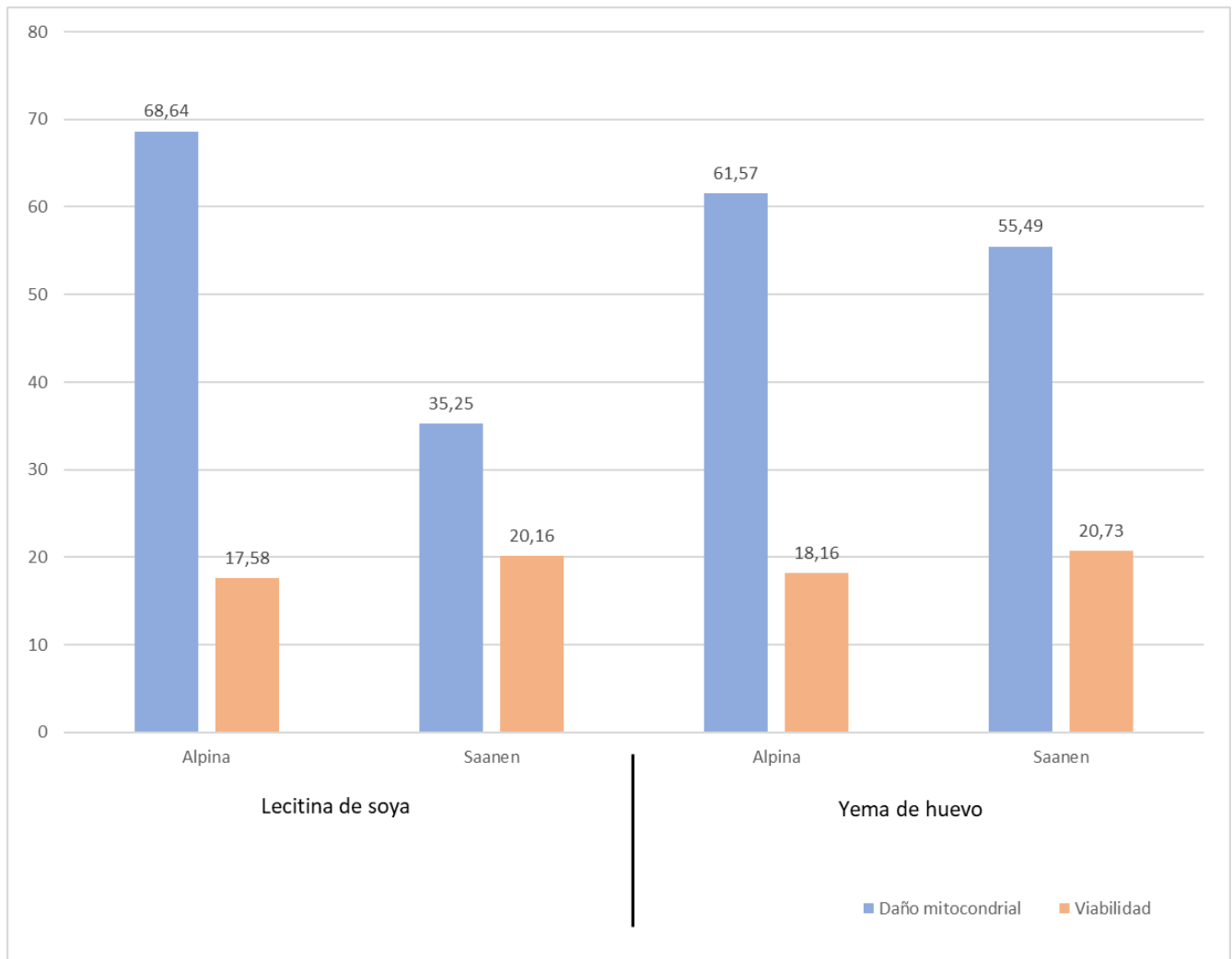


Imagen 20. Daño mitocondrial y viabilidad espermáticas en semen congelado utilizando lecitina de soya y yema de huevo (Quintero et al, 2017).

5.5 Glicerol

“El descubrimiento del glicerol como agente crioprotector se debe a [Christopher Polge] (1949). Esta sustancia ocupa simultáneamente la membrana y los compartimientos extra e intracelulares, sin embargo, Amman y Pickett (1987), así como Almid y Johnson (1988), sugieren que su principal efecto crioprotector se ejerce a nivel extracelular” (García Vera, 2014, pág. 34). Su función a este nivel consiste en aumentar el volumen del medio extracelular y la proporción de agua en estado de no-congelación (García Vera, 2014); algunos de los efectos atribuidos al glicerol son cambios en la estructura bioquímica de la membrana plasmática de los espermatozoides relacionados a la captación y reacción del acrosoma (Monzón, 2005).

Se recomienda su uso en concentraciones entre 6% y 9%. Respecto a la temperatura a la que debe añadirse, alrededor de 5°C parece dar mejores resultados de supervivencia espermática que la adición a 30°C, ya que, a esta temperatura, la membrana espermática es más permeable y por lo tanto tiene un mayor efecto toxico (García Vera, 2014).

Se ha encontrado una ventaja del uso del glicerol sobre el etilenglicol, como crioprotector permeante, en la prevención de la pérdida de la motilidad progresiva post-descongelamiento en semen ovino. En semen caprino se ha encontrado una mejor motilidad progresiva con glicerol en comparación con etilenglicol, sin embargo en protocolos de criopreservación de otras especies como lo son equinos y bovinos, se pueden encontrar un mejor resultado con el etilenglicol (Sandoval M, y otros, 2007).

En un estudio, llevado a cabo por Ruiz et al. (2015) con semen ovino, se mostró que el glicerol, como crioprotector, es mucho más eficiente que el etilenglicol; previniendo la disminución de la calidad seminal y obteniendo una mayor motilidad progresiva con el uso de este crioprotector.

5.6 Diluyente Triladyl

Fabricado en Alemania, por el laboratorio Minitube, es un concentrado para la preparación de un diluyente listo para el uso de un solo paso. Está constituido por **tris(hidroximetil)aminometano**, un amortiguador sintético y, además, contiene agua bidestilada, ácido cítrico, fructosa y por cada 100 ml contiene los siguientes antibióticos: tilosina 5 mg, gentamicina, 25 mg, espectinomicina 30 mg y lincomicina 15 mg. Para su preparación se adicionan tres partes de agua bidestilada, una parte de yema de huevo y una parte del concentrado comercial (Manual del usuario Triladyl). Siendo este el más comúnmente utilizado para diluir y congelar semen en la actualidad para bovinos y caprinos (Gallardo y Vargas, 2015).



Imagen 21. Presentación del Triladyl 250g (MinitubeGroup).

5.6.1 Composición del diluyente Triladyl

Es una sustancia tipo buffer que contiene Tris, ácido cítrico, azúcar, glicerina, agua purísima y antibióticos; de acuerdo con la Directiva 88/407 de la UE (Tilosina, Gentamicina, Espectinomicina, Lincomicina) (Manual del usuario Triladyl).

5.7 Diluyente Andromed

Es un diluyente a base de lecitina de soya. Este medio tiene ventajas sobre sus predecesores, ya que ha logrado tasas de no retorno hasta el 2,6% mayor que los diluyentes convencionales preparados a base de yema de huevo (del 67,85% con los preparados a base de yema de huevo contra un 70,45% con el diluyente sin yema de huevo) (Minitube, 2010).

5.7.1 Composición del diluyente Andromed

Contiene fosfolípidos, TRIS, ácido cítrico, azúcares, antioxidantes, tampones, glicerina, agua ultra pureza y antibióticos; de acuerdo con la Directiva de CE 88/407 (Tilosina, Gentamicina, Espectinomicina, Lincomicina) (Gallardo y Vargas, 2015).



Imagen 22. Presentación del diluyente Andromed 200ml (Minitube Group).

5.8 Steridyl

Es un nuevo diluyente disponible en el mercado desde 2010. La principal ventaja de este diluyente es que los 500 ml de la solución concentrada ya contienen yema de huevo; eliminando el tiempo de preparación de la yema de huevo fresco. Sólo es necesario 750 ml de agua pura al concentrado (Minitube, 2010).

5.8.1 Composición del Steridyl

El diluyente contiene Tris, ácido cítrico, azúcar, sustancias tampón, glicerina, agua purificada, yema de huevo estéril irradiada y antibióticos (Tilosina, Gentamicina, Espectinomicina, Lincomicina) (Minitube, 2010).



Imagen 23. Presentación del diluyente Steridyl 300ml (Minitube Group).

5.9 Biladyl

Desde la incorporación de Triladyl® al mercado, este diluyente se ha establecido como clásico en la producción de semen bovino. También puede congelarse exitosamente con Triladyl® el semen de una serie de otros mamíferos, como por ejemplo, el semen de carnero y macho cabrío, camello y perro, como también de muchas especies exóticas (Minitube, 2010). Para la preparación del diluyente Triladyl® y Biladyl® se agregan al concentrado agua destilada y yema de huevo fresca. La tasa de dilución para los eyaculados permite un amplio rango de variación, sin comprometer los resultados de

fertilidad. Triladyl® y Biladyl® son utilizados con buenos resultados en diluciones con baja concentración espermática como también para la dilución de eyaculados con baja concentración celular.

5.9.1 Composición del Biladyl

El diluyente Biladyl contiene: Tris, ácido cítrico, azúcar, tampones, glicerina, agua purísima y antibióticos, de acuerdo con la Directiva 88/407 de la UE (Tilosina, Gentamicina, Espectinomina, Lincomicina) (Minitube Group).



Imagen 24. Presentación del diluyente Biladyl fracción A 49g, Fracción B 250g (**Minitube Group**).

5.10 Uso del colesterol

Se sabe que el colesterol estabiliza las membranas y disminuye la temperatura a la cual se produce el cambio de fase de los lípidos de fase líquida a gel; por otra parte, los daños causados en las membranas son muy similares al estadio de la refrigeración Observándose, así mismo, que en el momento en que el espermatozoide empieza su proceso de longevidad esta se ve disminuida por ende se aumenta la longevidad de los espermatozoides (Agossou Dehouegnon & Koluman, 2018).

5.11 Métodos de congelación del semen.

El congelamiento se puede realizar en pajuelas (vapores de nitrógeno) o pastillas (goteo, sobre un bloque de hielo seco) para posteriormente conservarlas en nitrógeno líquido. Esta última técnica es rápida, sencilla y se obtiene una mayor tasa de motilidad seminal post-descongelamiento, más no presenta una tasa significativamente alta en la fertilidad de estos (Gibbons, 2002).

Durante la crioconservación, la membrana espermática sufre una serie de cambios en la fluidez debido a cambios en la temperatura. La evidencia demostró los efectos perjudiciales de la criopreservación sobre la motilidad de los espermatozoides, la integridad de la membrana, la función del ADN y la función mitocondrial según el estudio realizado por (Küçük, y otros, 2014).. “Los espermatozoides no parecen estar bien adaptados al enfriamiento a largo plazo a bajas temperaturas. Se observa una reducción de su viabilidad posterior al descongelamiento y, en consecuencia, una baja tasa de fertilidad” (Agossou Dehouegnon & Koluman, 2018, pág. 3)

El enfriamiento (de 37°C a 4°C en 90 min) de esperma diluido (37°C) seguido de congelación y descongelación causa daños considerables, después post-descongelación, a la motilidad ($89.8 \pm 1.26\%$ vs $42.3 \pm 7.5\%$), incluyendo daños a la integridad de la membrana plasmática (Agossou Dehouegnon & Koluman, 2018). Según el estudio realizado por (Küçük, y otros, 2014). “El enfriamiento de los espermatozoides de 37°C a 4°C tiene un efecto negativo sobre la motilidad. Sin embargo, el equilibrio de los espermatozoides a 4°C durante dos horas parece tener muy poco efecto sobre las características del semen. La congelación y la descongelación causan daños considerables a la motilidad, la integridad de la membrana plasmática, el acrosoma, la relación entre los espermatozoides vivos-muertos y la morfología de los espermatozoides. Los estudios adicionales deberían centrarse en determinar los cambios ultrabioquímicos en diferentes etapas de la crioconservación para mejorar la comprensión de sus efectos más detallados sobre el esperma” (Agossou Dehouegnon & Koluman, 2018, pág. 3).

Aunque, generalmente se tiene una tasa media de mortalidad espermática, un total del 50% de los espermatozoides no sobreviven al proceso de crioconservación sufriendo tanto daños a nivel bioquímico (ralentización metabólica) como daños estructurales (cambios en la estructura de las bicapas lipídicas de las membranas) (Almenar, 2007).

5.11.1 Empacado de semen en pajillas

Es el más usado por su practicidad. Según su capacidad, hay pajillas de 0,25 ml y de 0,50 ml; siendo las más usada en caprinos la de 0,25 ml. Las pajillas deben ser identificadas con tinta indeleble, resistente a bajas temperaturas, señalando el laboratorio, la especie e identidad del animal, raza, fecha de envasado de la pajilla y las iniciales de la unidad de producción (Luzardo 2010). Con el semen previamente diluido se llenan las pajillas y se procede a sellar con alcohol polivinílico o con ultrasonido dejando un pequeño espacio de aire para evitar rompimiento al congelarse.

Sarna et al (2015) cita “Por el contrario, (Joshi et al, 2008) encontró espermatozoides de carnero congelados-descongelados, significativamente más altos, con acrosoma intacto en muestras procesadas por una velocidad de enfriamiento controlada, más lenta, en comparación con el enfriamiento no controlado antes del congelamiento programable de semen en pajuelas; y opinó que, esto podría atribuirse a estructuras estructurales menores daño debido a una velocidad de enfriamiento más lenta³” (Sarma, y otros, 2015, pág. 68) .

5.11.2 Método de pellets

También conocido como método de pastilla. Para este método se requiere un bloque de hielo seco agujereado para formar pellets; estos agujeros son llenados por goteo, para ello se utiliza una pipeta

³ Traducción propia.

fría. El semen permanecerá en el bloque de hielo de dos a tres minutos, después será sumergido en nitrógeno líquido; posteriormente se colocan en globets identificados y se almacenan en termos de nitrógeno líquido (Luzardo, 2010).

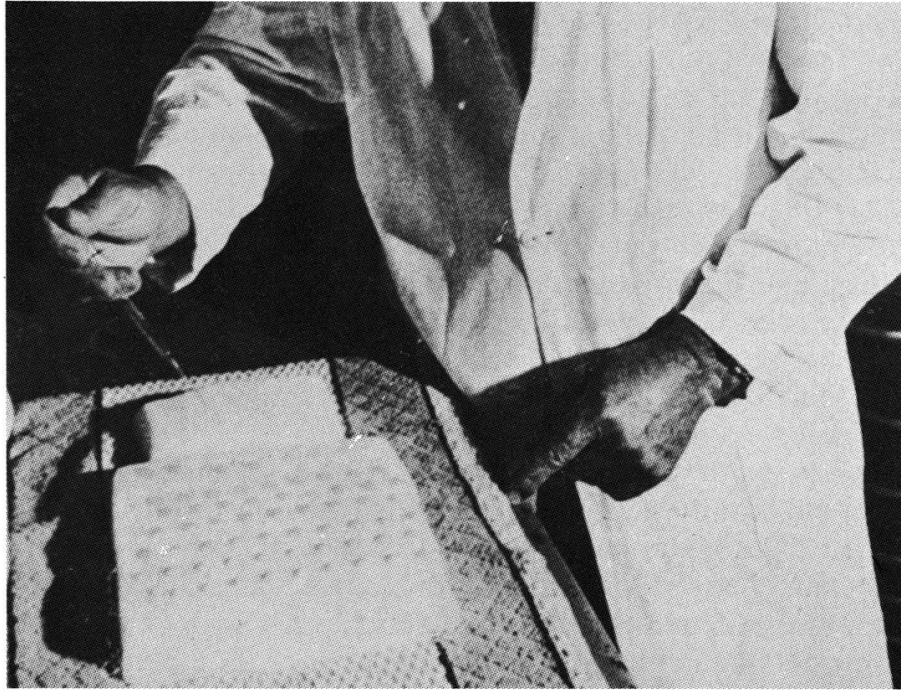


Imagen 25. Semen congelado por el método de pellets (Garet Evans, 1990).

5.11.3 MÉTODO DE ULTRACONGELADORES DE -152°C

Es una de las técnicas utilizadas por excelencia para la conservación del semen caprino. Estudios preliminares determinaron que, el uso de ultracongeladores de -152°C (UF), se presenta como un método completamente valido y fehaciente en la criopreservación de semen caprino (García, 2011). Obteniendo resultados *in vitro* similares a los resultados previamente obtenidos en muestras congeladas usando nitrógeno líquido (García, 2011).

El uso de este procedimiento de congelación presenta varias ventajas frente al nitrógeno líquido. La ultracongelación de -152°C, es un método que simplifica enormemente; dado que, solo se requiere que

se disminuya la temperatura de la dilución del semen a 4°C, temperatura en la cual se introducen las pajuelas en el ultracongelador. Otra ventaja que se presenta, frente al nitrógeno líquido, es que este aparato funciona exclusivamente con energía eléctrica y no requiere de un mantenimiento tan seguido como los que requieren los criocontenedores de nitrógeno líquido (García, 2011).

Pero, como cualquier otro método este presenta unas desventajas: la principal es el costo de los equipos, dado que la maquina tiene un costo bastante elevado por lo que su uso en campo no es factible. Aunque se presenta como un método infalible, para la criopreservación, este método solo se reserva para los centros de investigación (García, 2011). Un estudio realizado por Martínez et al, (2007), demostró que la época del año no es un factor para tomar en cuenta a la hora de realizar la crioconservación del semen. El estudio realizado en caprinos de raza Boer demostró que se pueden colectar en cualquier periodo del año; siempre y cuando se mantenga un estricto régimen de colecta de 2-3 veces por semana, manteniendo una correcta alimentación.

5.11 Métodos de descongelación

Generalmente las pajillas se descongelan al baño maría, colocando especial atención a la temperatura y tiempo de permanencia durante el proceso. Hernández (2014) habla de colocar las pajillas a baño maría a 37°C durante 5 minutos. Luzardo (2010) menciona menores tiempos de permanencia en el baño maría, 37 a 39°C durante 15-30 segundos y de 30 a 35°C por 30 segundos, con el criterio de, cuanto más rápida sea la descongelación, más sincronizada es la descongelación del medio extracelular con la del medio intracelular.

Las temperaturas y velocidades de descongelamiento son críticas para la fertilidad del semen, mencionándose como norma general que mientras más rápido se congele y descongele el semen se

obtendrá una mayor recuperación espermática (Valencia Méndez, González Herrera, González García, & Trejo González, 1994). Según Vázquez et al (1998), “se recomienda descongelar las pajillas en forma rápida en baño maría, a una temperatura de 60°C durante 6 segundos y dejarlas a temperatura ambiente; con el fin de que adquieran los últimos grados de recuperación” (Luzardo Nava, 2010, pág. 27).

A la hora de evaluar el semen descongelado, el factor más importante a tomar en cuenta es el estudio de la motilidad, seguido por el porcentaje de acrosomias, la resistencia osmótica, el porcentaje de espermatozoides vivos, anomalías espermáticas, actividad enzimática intracelular o extracelular y finalmente otros factores como la aglutinación o penetración de ovocitos (Niño, 2013).

5.11.1 Descongelación del semen en pellets

Se descongela en tubos, previamente secados con sumo cuidado, colocando de 2 a 4 pellets por tubo de acuerdo con el tamaño; manteniéndolos en baño maría con una temperatura de 37°C, agitando suavemente los tubos para una descongelación uniforme. Este método, usado en la descongelación de semen caprino, debe utilizarse rápidamente, ya que tiene menor resistencia que al descongelar el semen empajillado (Luzardo, 2010).

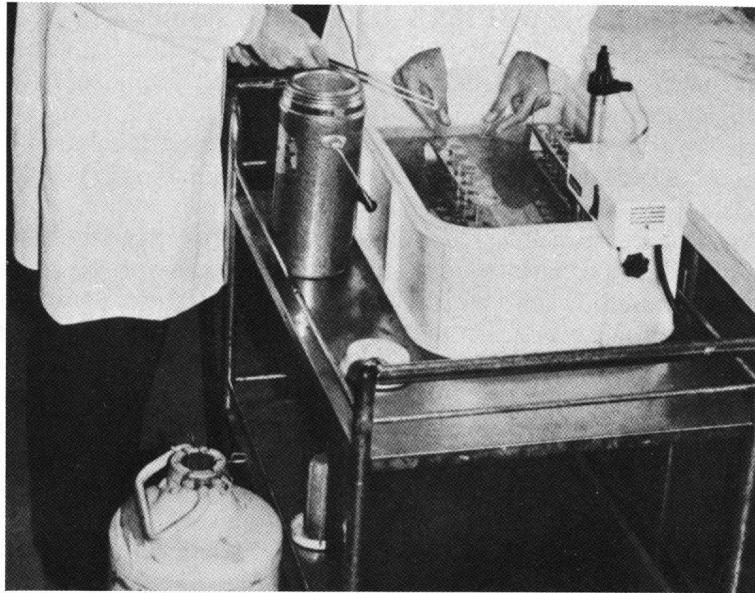


Imagen 26. Descongelación de pellets en baño maría a 37°C (Garet Evans, 1990).

Según Pariacote (2006), “la viabilidad de las dosis descongeladas ya sea que estén en pajillas o en pellets será el resultado de los diferentes procesos de dilución, refrigeración, congelación y descongelación; en cuyo caso el producto final se observarán los daños que sufren los espermatozoides en cuanto a los aspectos de motilidad, viabilidad en el acrosoma, permeabilidad en la membrana, morfoanomalías y por consiguiente de la fertilidad del semen. Generalmente los aspectos a considerar en cuanto a la calidad seminal post-descongelación en el semen caprino son la motilidad y la viabilidad” (Luzardo Nava, 2010, pág. 18).

Según el estudio realizado por Kozdrowski: “de acuerdo con Ritar et al. (1990) las propiedades de congelación / descongelación del semen de cabra se ven afectadas, entre otras cosas, por la temperatura a la que las pajillas se llenan de semen, el grado de dilución, los métodos de enfriamiento y congelación, y la forma de almacenamiento del semen. Señalan el hecho de que el semen de cabra se congela mejor en gránulos que en pajuelas⁴” (Kozdrowski, Dubiel, Bielas, & Dzieciol, 2007, pág. 603).

⁴ Traducción propia

La vitalidad espermática depende de numerosos factores como lo son: el método de congelación, la composición de los diluyentes, dilución, tiempos de congelación y método de descongelación. Esto puede ser atribuido al estrés oxidativo por la producción de radicales libres; lo cual se incrementa con la presencia mayor de espermatozoides muertos en el semen, los cuales liberan radicales libres que afectan la membrana de los espermatozoides (Hernández-Corredor, Quintero-Moreno, Camargo-Rodríguez, & Rojas-López, 2017). El porcentaje promedio de motilidad post-descongelación en este estudio fue del 37.4%, sin embargo, estudios como el de Sandoval (Sandoval M, y otros, 2007) y Brito et al (2004), produjeron como resultados 69.2% y 40.2% respectivamente. Teniendo en cuenta que la motilidad posterior a la descongelación puede verse afectada por el método de congelación, el presente estudio se realizó con nitrógeno líquido, mientras que en Brito et al (2004) el estudio, fue realizado mediante congelación por hielo seco (Hernández, y otros, 2012).

5.11.2 Posibles daños del semen después del descongelamiento

La reducción de la fertilidad, asociada con la inseminación artificial con semen congelado, se atribuye a la aparición de daños en los espermatozoides durante la congelación y descongelación; causando cambios ultraestructurales, bioquímicos y funcionales que reducen la viabilidad de los espermatozoides (Trindade et al, 2011). Tras descongelar el semen, la calidad del movimiento espermático se ve bastante deteriorada. En el caso del semen caprino, la calidad del semen descongelado suele quedar muy reducida comparada con el mismo semen en fresco; con valores registrados entre el 20-30% al 60-70%, siendo el estándar entre un 30% y un 60% (González Niño, 2013)

El descongelamiento del semen, al igual que el congelamiento, son procesos delicados y de sumo cuidado; ya que, como se ha mencionado, los diluyentes normalmente usados son tóxicos para los

espermatozoides. Al descongelar el semen se disminuye la motilidad progresiva y se incrementa el daño acrosomal de los espermatozoides (Gallego, 2010). Las temperaturas y velocidades de congelamiento y descongelamiento son bastante críticas para la fertilidad y calidad del semen; se hace mención como una norma general que, a mayor velocidad de congelamiento y descongelamiento, el semen obtendrá mayor recuperación y mejor rendimiento espermática (Gallego, 2010). Uno de los grandes problemas sobre el descongelamiento de semen es que hay informes sobre el congelamiento, mas no hay informes de descongelación rápida como en otras especies.

Cuando el semen es sometido a un proceso de congelación se presenta un abatimiento de la calidad espermática, la cual se manifiesta principalmente en una disminución de la motilidad progresiva (Gallego, 2010). Este tipo de comportamiento es atribuido a una alteración de los componentes celulares en relación con un trastorno en el intercambio iónico; en el cual se involucra al potasio y posiblemente a los fosfatos, los cuales están presentes en los diluyentes.

A pesar de que no existe un parámetro que permita evaluar la capacidad fertilizante del semen, la motilidad progresiva y el daño acrosomal son considerados como los mejores indicadores para evaluar el semen caprino post-descongelado (Gallego, 2010). Las diferentes presentaciones de pajillas, de 0.25ml y 0.5ml, implican cambios en el volumen y superficie de la pajilla, en la concentración espermática/volumen, en el grado de dilución y tomando en cuenta el ritmo de congelación (Gallego, 2010).

Junto con la motilidad progresiva, las pruebas de andrología rutinarias para el semen fresco deben incluir el examen de la morfología de la membrana acrosomal; ya que, durante el proceso de congelamiento y descongelamiento, la membrana se puede hinchar o incluso se puede romper lo que ocasiona disminución en la capacidad fecundante del espermatozoide.

El daño acrosomal suele ser independiente de la motilidad progresiva, lo que significa que los espermatozoides, aunque tengan buena motilidad progresiva, son incapaces de fecundar; por posibles daño o alteraciones del acrosoma (Gallego, 2010). Por lo tanto, durante las manipulaciones de espermatozoides de laboratorio, especialmente en ausencia de plasma seminal, los antioxidantes celulares son importantes para preservar la motilidad de los espermatozoides y la capacidad de observar y registrar la reacción del acrosoma (Trindade et al, 2011).

La calidad del semen congelado tiene una disminución, con respecto al semen fresco o refrigerado, en parte porque, en general, un 50% de los espermatozoides no sobreviven al proceso de crioconservación; principalmente por que, durante el proceso de congelación, los espermatozoides van a sufrir daños tanto a nivel bioquímico (ralentización metabólica) como a nivel estructural (cambios en las estructuras de las bicapas lipídicas de las membranas plasmáticas y orgánulos) (Niño, 2007).

Un estudio realizado por Sarma et al (2015) habla sobre los riesgos de la criopreservación del semen de cabra, que podrían reducirse optimizando las tasas de congelación y podrían mejorar la viabilidad y la fertilidad del semen congelado-descongelado. Teniendo en cuenta los hechos anteriores, el presente estudio fue planeado para descubrir el efecto de diferentes tasas de congelación en la calidad del semen de cabra Beetal criopreservado.

5.11.3 Examen del semen post-descongelamiento

La estimación de la calidad del semen descongelado es de suma importancia, procediendo a realizar la evaluación de dos pajillas o dos pellets por tanda. Es importante realizar varias observaciones de la misma pajilla o pellet.

Posterior a su descongelamiento se procede a realizar el examen microscópico de una gota de semen sobre una lámina portaobjetos templado (100x) sobre una platina térmica. Observándose la motilidad masal al momento de la descongelación , repitiendo la observación 1 o 2 veces (Cueto et al, 2016).

Luego se procederá a realizar la evaluación de la motilidad individual progresiva, estimándose como la velocidad de desplazamiento hacia adelante por parte del espermatozoide, en una escala subjetiva entre 0 y 5 (0 – mínimo, 5 - máximo) tomando en cuenta las siguientes apreciaciones:

- 0 - los espermatozoides no se mueven.
- 1 - los espermatozoides se mueven en el lugar, giran sobre si mismos.
- 2 - los espermatozoides se trasladan brevemente pero quedan relegados.
- 2.5 - los espermatozoides se trasladan, se puede seguir su trayectoria con la vista.
- 3 - los espermatozoides se desplazan, es difícil seguirlos con la vista.
- 4 - los espermatozoides se desplazan a gran velocidad, apenas se logran apreciar.
- 5 - los espermatozoides se desplazan tan velozmente que no se logran distinguir.

Para la aceptación de una tanda de pajillas o pellets, debe poseer (luego de 4 a 5 minutos de incubación a 36°C en baño maría) (Cueto et al, 2016). :

- Motilidad masal al descongelamiento.
- Un porcentaje de espermatozoides igual o superior al 30%.
- Motilidad individual progresiva igual o superior a 2.5

Un estudio realizado por Fhulufhelo et al (2011) citan “la extracción de plasma seminal y la congelación del semen resultaron significativamente más bajo, junto con un pH ácido, motilidad

progresiva y no progresiva más baja. Estos eventualmente aumentaron los espermatozoides inmóviles. En la muestra de semen congelado-descongelado, el porcentaje de espermatozoides inmóviles fue mayor para la muestra de semen lavada que para la no lavada. Sin embargo, tanto las muestras de semen lavadas como las no lavadas aún tenían un mayor porcentaje de espermatozoides inmóviles”(Ramukhithi et al, 2011, pag 17899).

CAPITULO 6

TASA DE EFECTIVIDAD DE LOS DIFERENTES MEDIOS DE CRIOPRESERVACIÓN

Luego de haber mencionado los diferentes métodos de criopreservación, a continuación se hablará de su tasa de efectividad medida en indicadores de porcentajes.

Según Vallecillo et al. (2004), se evaluó la motilidad individual post-descongelación de espermatozoides criopreservados en el diluyente Triladyl con una adición de 20% de yema de huevo y centrifugado a 500g por 6 minutos obteniendo un valor de 60,5% de motilidad individual. Sin embargo, Dubeide et al. (2004), utilizó citrato de sodio más yema de huevo y otro diluyente de leche descremada más yema de huevo; presentando valores de motilidad individual post-descongelación, a las 5 horas, fueron de 0,19% y 0% respectivamente, lo que indica que posiblemente el diluyente con adición de yema de huevo afectó a los espermatozoides post-descongelación (Nivia et al, 2013).

No obstante, obtuvieron resultados variados en su estudio, al comparar dos medios diluyentes, como el Two Step y el Andromed, con semen completo y semen al cual se centrifugó y se extrajo el sobrenadante (sin plasma seminal) y presentó en su motilidad progresiva un 30,4% (Centrifugado de Andromed); seguido por el sobrenadante en Two Step, con un 29,4% de motilidad progresiva, y un

tratamiento que, constaba de semen completo en medio comercial Two Step, tuvo la menor motilidad progresiva con un 25,9%. Pudiendo demostrar al final de este estudio que el centrifugado seminal, es una de las mejores alternativas para la congelación de este, debido a que no se tiene presencia de plasma seminal, que contiene la fosfolipasa A, las cuales puedan intervenir con la proteína de la yema de huevo, lo que garantiza una reducción considerable en la muerte de espermatozoides.

Fhulufhelo et al (2011) encontraron que al realizar la extracción de plasma seminal con una solución fisiológica parece disminuir el porcentaje de espermatozoides móviles. Resultados similares fueron registrados por Azeredo et al. (2001), quienes informaron que las partes que contenían plasma seminal tenían una más alta motilidad de los espermatozoides que el semen sin plasma seminal.

Luzardo (2010), dice que la motilidad individual al ser uno de los parámetros más tomados en cuenta, para determinar la calidad espermática del semen en estudio post-descongelación, que los resultados pueden variar dependiendo la composición de los diluyentes utilizados. En su estudio muestra que los diluyentes utilizados tienen una formulación parecida, por lo que la motilidad individual post-congelación puede ser similar; con una motilidad del 38,67% para el diluyente en base Tris con adición de yema de huevo y de un 35,33% para el diluyente Triladyl.

Por su parte Niño (2007), menciona que los porcentajes de motilidad media están en un rango de entre 76% y 86%, a su vez que la viabilidad espermática tuvo un rango mayor de entre un 61% y 86% en semen congelado con nitrógeno líquido utilizando ultracongeladores a -152°C ; la viabilidad espermática estuvo en rangos de entre 23,3% y 56,8%. Del Pino (2001) y Mellado (1999) utilizaron volúmenes iguales de semen, y a una misma concentración, reportando resultados entre 50% y 95% de efectividad en la gestación de las cabras. En el artículo de Batista, utilizando el método de pellets, se

encontró una efectividad en la concepción de hasta 99,12%; haciendo este método uno de los que mayor tasa de fecundidad puede alcanzar (Batista, Ceiro, Grimon, Brea, & Neira, 2006)

En varios protocolos de crioconservación de semen de ganado caprino se suele utilizar como crioprotector no permeable la inclusión de yema de huevo en un 20%; el glicerol es el crioprotector permeable por excelencia, utilizados en los protocolos de conservación de semen y siendo usados en una concentración de entre 4% y 7% (Almenar, 2007).

Citado de Salvo Gomes et al (1990) afirman que, aun considerando las variabilidades de los protocolos de crioconservación, resulta claro que la mayoría considera conveniente la adición del crioprotector en diferentes fracciones; tomando en cuenta que la fracción ideal de adición se encuentra en un 12% de concentración de glicerol y es la concentración optima (de la Vega, 2000).

Con semen criopreservado se lograron resultados alentadores, mostrando porcentajes altos de preñez del 68%; Gonzales Stagnaro (1975) y Karatzas. (1997) informaron de tasas de preñez de 53% con semen recolectado y crioconservado en épocas no reproductivas frente a un 65% con respecto al semen fresco (De la Vega, 2000).

En un estudio realizado por Martínez et al. (2011), encontraron una alta tasa de fertilidad en el semen fresco (82,5%), de cabras criollas, en comparación al semen refrigerado (67,5%), pero, no encontraron diferencias significativas en la prolificidad del semen caprino; se exponen los resultados de dicho estudio en la Tabla 6, en donde se muestra que la fertilidad alcanzada por el semen refrigerado fue menor a la obtenida por monta natural.

Tipo de servicio	N	Tasa de fertilidad	Índices de prolificidad
Inseminación	40	67,5% _a	1.18±0.39 _a
Monta Natural	41	82,5% _b	1.20±0.41 _a

Tabla 6. Tasa de fertilidad e índices de prolificidad en cabras criollas inseminadas con semen refrigerado o por monta natural, 24 horas después de presentar celo.

Fuente: Martínez et al.2011.

El estudio realizado por (Küçük, y otros, 2014). mostró que los espermatozoides con acrosomas normales fueron $87.7 \pm 1.3\%$ en semen fresco. El porcentaje de espermatozoides con acrosomas normales no difirió significativamente como resultado de la dilución, enfriamiento o equilibrio ($85.8 \pm 5.4\%$, $83.2 \pm 4.8\%$, 81.7 ± 5.4 respectivamente), pero, disminuyó significativamente ($p < 0.05$) después de congelar y descongelar ($45.2 \pm 8.4\%$). A la par, en el mismo estudio, se evidenció que el porcentaje entre espermatozoides vivos y muertos en semen fresco tenía $92,6 \pm 0,68\%$ de espermatozoides vivos. El porcentaje medio de espermatozoides vivos después de la dilución ($89,3 \pm 4,2$) difirió significativamente ($p < 0,05$) de aquel después del enfriamiento ($84,8 \pm 5,4$) y el equilibrio ($80,2 \pm 7,5$). Sin embargo, disminuyó aún más ($p < 0.05$) después de congelar y descongelar (56.0 ± 10.5).

Palomino et al (2001) al evaluar dilutores, a base de citrato-yema y leche descremada-yema, encontraron que el mejor resultado fue el diluyente a base de citrato yema, sometido a 4°C , en comparación del diluyente a base de leche descremada-yema; siendo el citrato yema el que mejor mantuvo la motilidad progresiva de los espermatozoides a las 96 horas post-dilución. La congelación del semen a 4°C arrojó resultados más constantes y favorables que el mismo semen mantenido a temperatura ambiente. Wahjuningsih et al (2012) encontraron que la motilidad de los espermatozoides disminuye con el aumento de la concentración y la duración del almacenamiento en 5°C . La concentración de espermatozoides de $40 \times 10^6 / \text{ml}$ de semen y la duración del almacenamiento de 26 horas en

5°C, mostraron la motilidad individual más alta de los espermatozoides. Sin embargo, en todos los niveles de concentración de espermatozoides, y el tiempo de almacenamiento a 36 horas a una temperatura de 5°C, todavía se pueden usar para la IA.

Por otra parte, los autores Olurode y Ajala (2016) demostraron en su estudio que en el semen extendido con leche de cabra, cuando se almacena a 5°C (refrigerador), la motilidad de los espermatozoides se puede mantener hasta por un período de 96 horas (4 días) después de la eyaculación. “Sin embargo, para una buena tasa de concepción, el semen debe usarse dentro de 2-3 días ,de acuerdo con Peterson et al. (2007); quienes informaron que la motilidad de los espermatozoides disminuye progresivamente en el semen a medida que pasa el tiempo, ya sea que el semen se almacene a 4 o 18 ° C⁵” (Olurode & Ajala, 2016, pág. 5).

En conclusión, el resultado de este estudio sugirió que la leche de cabra hervida puede apoyar de manera comparable la supervivencia de los espermatozoides caprinos. El semen líquido almacenado, en el extensor de citrato de leche de cabra en condiciones de refrigerador, mantuvo la mayor viabilidad de los espermatozoides en comparación con otras condiciones de almacenamiento. Además, el semen extendido en citrato de leche de cabra puede almacenarse convenientemente durante un período de hasta dos días a temperatura ambiente, lo que hace que este medio sea adecuado para condiciones de campo.

Olurode y Ajala (2016) recomiendan “que para una mejor IA y ensayos de fertilidad, se pueda usar un extensor con un punto de concentración de 10-20% de leche de cabra (calentada), 70-80% de citrato de sodio y aproximadamente 10% de yema de huevo, y se debe inseminar el semen almacenado, dentro de 2-3 días”.

⁵ Traducción propia

En un estudio realizado por (Salamon & Maxwell, 2000) aunque una proporción relativamente alta, 40-60% de los espermatozoides de macho caprino preservan su motilidad después de congelar-descongelar, solo alrededor del 20-30% permanecen biológicamente intactos. Un espermatozoide puede ser móvil, pero dañado, en cuyo caso es dudoso que dicha célula fertilice el óvulo. La movilidad y la estructura de los espermatozoides se ven afectadas en diferentes grados, y no se sabe si los cambios ocurren simultáneamente o si son causados en diferentes etapas del procedimiento de congelación-descongelación.

El daño criogénico básico a los espermatozoides puede ser ultraestructural, físico, bioquímico o funcional, pudiéndose ver el daño que se produce en las membranas del acrosoma, la vaina mitocondrial entre otros daños visibles al momento del estudio post-descongelación, Después de los procesos de congelación lenta y congelación rápida del semen de caprino, la motilidad se conserva mejor que la integridad morfológica de los espermatozoides. Las membranas plasmáticas y acrosómicas son más sensibles que el núcleo y la parte media locomotora de los espermatozoides, la membrana externa del acrosoma (Salamon & Maxwell, 2000).

Según la información presentada en el documento y con base en los porcentajes mostrados en cada uno de los diferentes protocolos de crioconservación de semen, se toma la imagen 27 como un comparativo entre dos diluyentes a base de leche descremada y citrato de sodio, cuyo agente proteico en común es la yema de huevo.

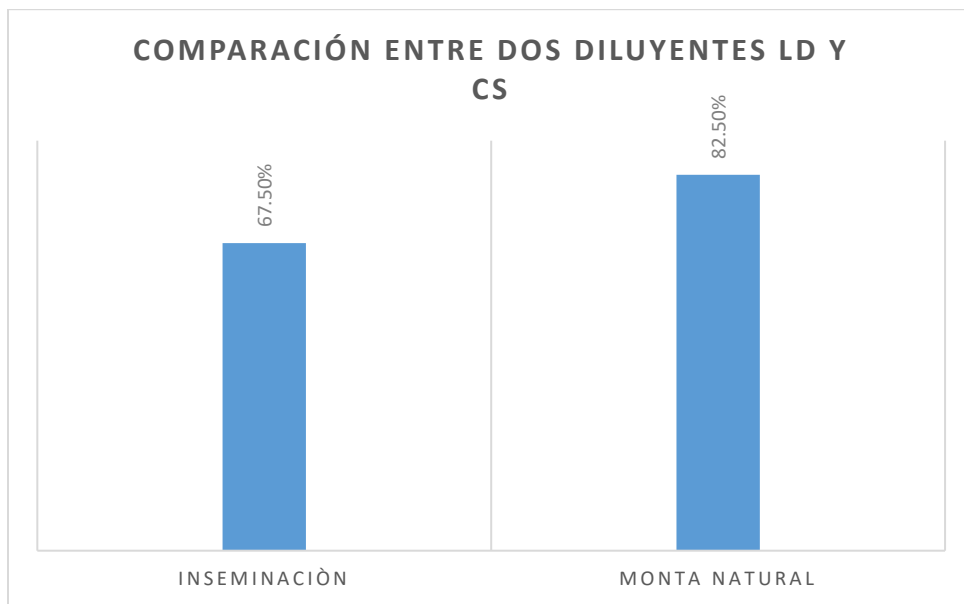


Imagen 27. Comparación y efectividad entre dos diluyentes LD (Leche descremada) y CS (Citrato de sodio).

En la imagen 28 se podrá apreciar el efecto entre dos diluyentes como lo son el Triladyl y el Andromed; en el caso del diluyente Andromed se tiene en cuenta que este previamente sufrió de un proceso de centrifugación.

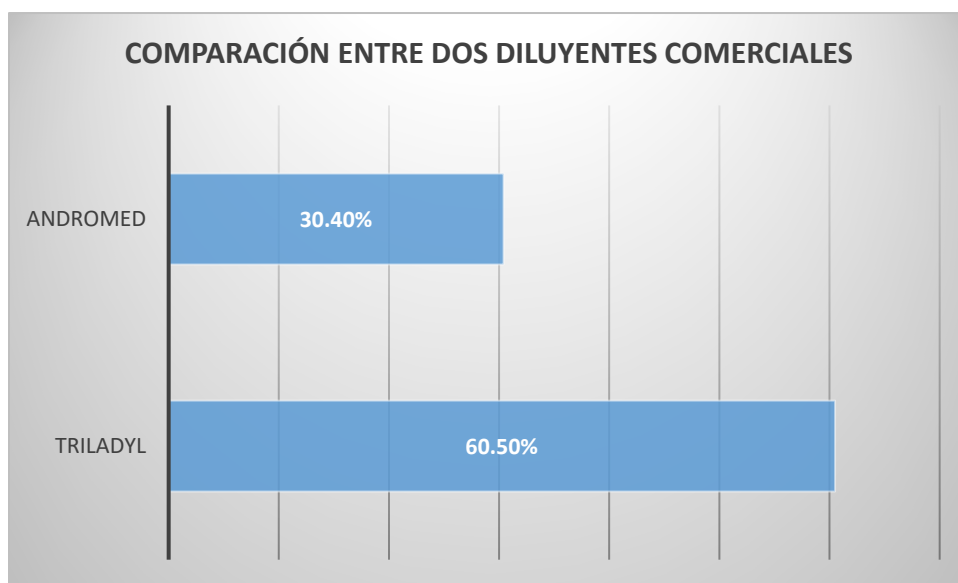


Imagen 28. Comparación entre dos diluyentes comerciales Triladyl y Andromed.

En un estudio realizado por Martínez et al (2011) se muestra una diferencia significativa, en la tasa de fertilidad, realizando una comparación entre el semen fresco y el semen refrigerado.

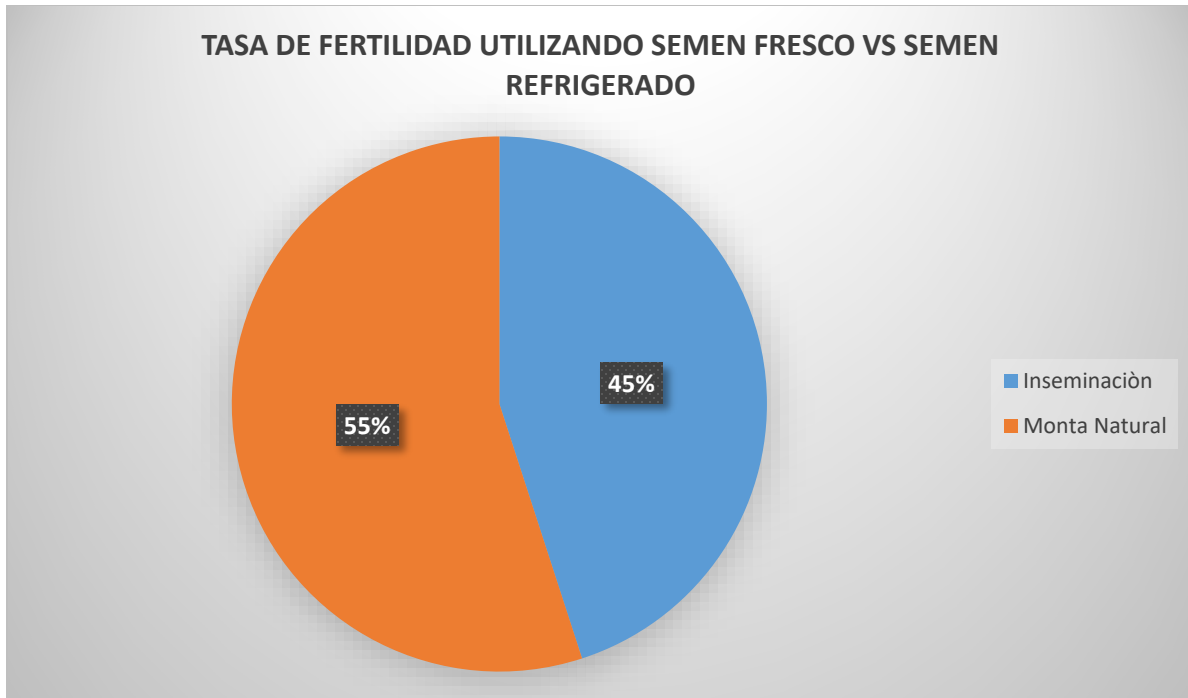


Imagen 29. Tasa de fertilidad entre semen fresco y semen refrigerado (Martínez et al, 2011).

CONCLUSIONES

- Los métodos de criopreservación seminal en caprinos han sido importantes para el avance del mejoramiento genético en las diferentes producciones. Sin embargo, han existido factores que dificultan los procedimientos, como son los costos y la complejidad a nivel enzimático del semen caprino.
- Siendo una biotecnología más aplicada a otros especímenes, como bovinos, la información que se tiene es poca y enfocada a países en donde la producción del caprino se realiza a nivel intensivo.
- La criopreservación seminal ha tenido mejores resultados en porcentajes de motilidad progresiva del semen al incluir en el diluyente productos libres de proteínas de origen animal, evitando de este modo la interacción negativa entre el plasma seminal y la yema de huevo.
- Se logró evidenciar que la mejor forma de criopreservar el semen es incluyendo un bajo porcentaje de yema de huevo en el diluyente al semen previamente diluido para separar el plasma de los espermatozoides.
- En Colombia hay escasez de información que permita dar a conocer los diferentes protocolos de crioconservación del semen del caprino, dado que los estudios realizados en el país son más enfocados a la parte académica que a la productiva.
- Dados los diferentes porcentajes de los diversos estudios, se puede decir que para lograr mayores tasas de concepción se debe inseminar a hembras con semen refrigerado o congelado en pellets.

RECOMENDACIONES

- Debe tenerse en cuenta al momento de centrifugar el semen el tiempo y la velocidad, para así evitar la alta mortalidad de los espermatozoides.
- Deben evaluarse las condiciones reproductivas, alimenticias, corporales y medio ambientales para obtener buenos reproductores y por lo tanto obtener eyaculados de excelente calidad.
- Se debe tomar en consideración el hecho de hacer una sustitución parcial de la yema de huevo como crioprotector externo, utilizándose otras fuentes de proteína de origen animal o en su defecto proteína de origen vegetal.
- Hoy en día la producción caprina ha comenzado a tomar fuerza en Colombia, debido a sus excelentes características productivas y su facilidad de manejo. Por ello, es importante realizar más estudios acerca de la biotecnología en criopreservación de semen caprino, ya que no existe mucha información acerca del tema en el país.

REFERENCIAS

1. Abdullah, R., & Nor-Ashikin, M. (2011). Comparison Between Tris-Citric Acid Yolk, Yolk Albumin Citrate And Skimmed Milk Extenders On Sperm Motility, Livability And Mass Movement In Frozen-Thawed Goat Sperm. *Biomedical Research - India*, 285-288.
2. Agossou Dehouegnon, J., & Koluman, N. (2018). An Objective Analysis of Factors Affecting Buck Semen Quality Attributes During Cryopreservation: A Mini Review. *Annual Research & Review in Biology*, 27(3), 1-7. doi:<https://doi.org/10.9734/ARRB/2018/42087>
3. Agriculture, U. S. (28 de enero de 2016). *USDA*. Obtenido de USDA: <https://www.ars.usda.gov/plains-area/fort-collins-co/center-for-agricultural-resources-research/plant-and-animal-genetic-resources-preservation/docs/goat-semen-cryopreservation-protocol/>
4. Ahmad Mushtaq, R. N. (2013). Changes in motility, morphology, plasma membrane and acrosome integrity during stages of Criopreservation of Buck Sperm. *Original Research*, 1-4.
5. Almenar, C. T. (diciembre de 2007). *Nuevos Protocolos para la Crioconservación de Espermatozoides de Macho Cabrío*. Valencia, España.
6. Anand, M., & Yadav, S. (2016). Assessment of motion and kinematic characteristics of frozen-thawed Sirohi goat semen using computer-assisted semen analysis. *Veterinary World*, 203-206. Obtenido de www.veterinaryworld.org/Vol.9/February-2016/16.pdf
7. Batista, R., Ceiro, F., Grimon, M., Brea, O., & Neira, S. (2006). Evaluación de la Capacidad Fecundante del Semen Caprino Congelado. Aplicación actual. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, VII(7), 1-7. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/26439747_-_Evaluacion_de_la_capacidad_fecundante_del_semen_caprino_congelado_Aplicacion_actual_Evaluation_of_the_fecundante_capacity_of_semen_goat_congealed_Present_application
8. Buitrago Peña, J. M., & Pérez Sánchez, L. M. (2008). *Comparación de dos diluyentes para la criopreservación de semen ovino*. Tesis de grado, Universidad de La Salle, Facultad de Medicina Veterinaria, Bogotá D.C.
9. Cantú Brito, J. E. (2008). *Zootecnia De Ganado Caprino: Clasificación Y Características*. Editorial Trillas Sa De Cv.
10. Corredor, L. H. (2014). *Evaluación de la Motilidad Espermática de Semen Caprino Criopreservado Bajo Diferentes Medios Diluyentes a través del Sistema C.A.S.A*. Cucúta, Colombia.
11. De la Vega, A. (2000). Procesamiento de Semen Caprino para Inseminación Artificial: Una Revisión. *Taurus*, 26-34. Obtenido de http://www.ovinos-caprinos.com/rep_y_fert.html

12. Fawad Ur Rehmana, C. Z. (2013). Semen Extenders and Artificial Insemination en Ruminants . *Veterinaria*, 1-8.
13. Gallego, S. C. (2010). *Efecto de la Conservación Sobre la Fisiología Espermática de Semen Caprino*. Madrid, España.
14. García Vera, W. C. (2014). *Optimización de los protocolos de crioconservación de semen ovino de las razas autóctonas en peligro de extinción Xisqueta y Aranesa*. Tesis doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona, Facultat de Veterinaria, Barcelona. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10803/284242>
15. García, O. C. (Febrero de 2011). *Criocapacitación de Espermatozoides Caprinos, Procesados con Dos Diluyentes*. Veracruz, Mexico.
16. Garet Evans, W. M. (1990). *Inseminación Artificial de Ovejas y Cabras*. Zaragoza: Acribia, S.A.
17. Gibbons, A. (16 de diciembre de 2002). Inseminación Artificial con Semen Congelado en Cabras de Raza Angora. *Taurus*, 24-32.
18. González Niño, T. (2013). *Aportaciones tecnológicas en la preservación del semen en la raza caprina majorera*. Tesis Doctoral , Universidad de las palamas de Gran Canaria, Departamento de Patología Animal, Producción Animal, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Las Palmas de Gran Canaria.
19. González, T. N. (2007). Congelación y Conservación del Semen en la Especie Caprina Mediante la Utilización de Ultracongeladores de -152°C: Tasa de Fertilidad Tras Inseminación con Semen Congelado por Diferentes Protocolos de Crioconservación. *Vector Plus*, 59-66.
20. Guerrero V., H., Huanca L., W., Raymundo T., F., & Huerta O., S. (2009). Uso de Dilutores Hipertónicos en la Criopreservación de Semen Ovino. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 41-46.
21. Hafez, E., & Hafez, B. (2002). *Reproducción e inseminación artificial en animales*. Mexico D.F.: Mc Graw Hill.
22. Hernández, P., Fernández, R., Rodríguez , S., Juárez, R., Sotoll, M., & García , R. (2012). Efecto de criopreservación de semen relacionado a su viabilidad y estado acrosomal. *Salud Animal*, 78-83.
23. Hernández-Corredor, L., Dorado, J., Quintero-Moreno, A., Ortiz, I., & Buzón, A. (2014). Efecto de dos diluyentes a base de Lecitina de Soya sobre parámetros morfológicos en semen caprino. (C. CEDRUM, Ed.) *Sennova*, 1(1), 30-43. Obtenido de <http://revistas.sena.edu.co/index.php/sennova>
24. Hernández-Corredor, L., Quintero-Moreno, A., Camargo-Rodríguez, O., & Rojas-López, M. (2017). Evaluación de la integridad funcional y estructural de espermatozoides caprinos

- criopreservados mediante diluyentes comerciales. *Revista Científica, FCV/ LUZ, XXVII(1)*, 35-43.
25. Kozdrowski, R., Dubiel, A., Bielas, W., & Dzieciol, M. (2 de octubre de 2007). Two Protocols of Cryopreservation of Goat Semen with the Use of Computer-Assisted Semen Analysis System. *Acta Veterinaria Brno*, 76(4), 601-604. Obtenido de <https://doi.org/10.2754/avb200776040601>
 26. Küçük, N., Melih, A., Uğur, U., Ejaz, A., Zahid, N., Ahmet, C., & Ilker, S. (2014). Comparison of two different cryopreservation protocols. *Cryobiology*, 1-5.
 27. Leonardo Hernández Corredor, A. N.-O.-V.-P.-M. (2013). Evaluación de la Motilidad Espermática a través del Sistema C.A.S.A. de Semen Caprino Criopreservado Bajo Diferentes Medios Diluyentes. *Respuestas*, 16-27.
 28. Luis Ruiz G, R. S. (2015). Evaluación de la Calidad Espermática del Semen Ovino Posdescongelado al Emplear Dos Fuentes Energéticas y Dos Crioprotectores. *Inv Vet Perú*, 49-56.
 29. Luzardo Nava, A. d. (Noviembre de 2010). *Comparación de dos diluyentes de base Tris (hidroximetilaminometano) sobre la motilidad del semen caprino congelado-descongelado*. Tesis de grado, Universidad de Oriente Núcleo de Monagas, Ingeniería en Producción Animal, Maturín.
 30. Madurantakam N. Sundararaman, A. R. (2016). Quality Assurance of Cryopreserved Buck Semen by Assessing Structural and Functional Integrity of Spermatozoa. *Jornual of Animal Research*, 669-675.
 31. Marcela Cueto, A. G.-G. (2016). *Manual de Obtención, Procesamiento y Conservación del Semen Ovino*. INTA Ediciones.
 32. Martinez, J., Duverger, O., Diaz, N., Interian, L., & González-Peña, D. (2011). Efecto de Diferentes Niveles de Yema de Huevo en la Congelación del Semen Caprino en un Medio Liofilizado a Base de Tris. *Ciencia y Tecnología Ganadera*, 33-38.
 33. Minitube Group. (s.f.). www.minitube.com/en/About-us. Obtenido de www.minitube.com: https://www.minitube.es/pdf/index/13503-0200_Leaflet-AndroMed_es_181002.pdf
 34. Minitube Group. (s.f.). www.minitube.com/en/About-us. Obtenido de www.minitube.com: https://www.minitube.es/pdf/index/13500-0260_Leaflet-Steridyl_es_181113.pdf
 35. Minitube Group. (s.f.). www.minitube.com/es/About-us. Obtenido de www.minitube.com: https://www.minitube.es/pdf/index/13500-0004_Leaflet-Biladyl-Triladyl_es_181113.pdf
 36. MinitubeGroup. (s.f.). www.minitube.com/en/About-us. Obtenido de www.minitube.com: https://www.minitube.es/pdf/index/13500-0250_Leaflet-Biladyl-Triladyl_es_181113.pdf

37. Monzón, R. S. (2005). *Criopreservación de Semen Ovino Empleando Diferentes Dilutores y Combinaciones de Agentes Crioprotectores Permeantes y no Permeantes*. Lima, Perú.
38. Morali, J. C. (2011). *Amaltea*. Obtenido de Amaltea:
<http://amaltea.fmvz.unam.mx/ESCRITOS%20REPRO/Anatomia%20y%20Fisiologia%20Aparato%20Reproductor.pdf>
39. Niyazi Küçük, M. A. (2014). Comparison of two Different Cryopreservation Protocols for Freezing Goat Semen. *Elsevier*, 1-5.
40. Olurode, S. A., & Ajala, O. O. (2016). Effects of storage temperature and extension media on motility of caprine spermatozoa. *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*, 14(3), 1-7. Obtenido de <https://www.ajol.info/index.php/sokjvs/article/view/149921>
41. Palomino, L., Camacho, J., Huanca, W., & Falcón, N. (2001). Conservación de semen caprino en los dilutores citrato yema y leche descremada-yema. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(1), 1-5. Obtenido de <https://doi.org/10.15381/rivep.v12i1.7417>
42. Perulactea. (23 de enero de 2018). *Perulactea*. Obtenido de Perulactea:
<http://www.perulactea.com/2018/01/23/con-exito-se-realizo-el-i-curso-teorico-practico-de-inseminacion-artificial-en-ovinos-y-caprinos-en-lurin-lima/>
43. Ramukhithi, F. V., Nedambale, T. L., Sutherland, B., & Lehloenya, K. C. (2011). Cryopreservation of South African Indigenous Goat Semen. *African Journal of Biotechnology*, 10(77), 17898-17902. Obtenido de <https://academicjournals.org/journal/AJB>
44. Rojas, A. T. (2014). *Optimización del Protocolo de Criopreservación de Semen Caprino de la Raza Autóctona en Peligro de Extinción Blanca de Rasquera*. Barcelona, España.
45. Rubén D. Martínez-Rojero, J. H.-I.-H.-A.-M. (octubre de 2005). Intrauterine Artificial Insemination In Creole Goats With Cooled Semen. *Agrociencia*, 71-76.
46. Salamon, S., & Maxwell, W. (2000). Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 62(1-3), 77-111. Obtenido de [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00155-X](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00155-X)
47. Sandoval M, R., Santiani A, A., Ruiz G, L., Leyva V, V., Coronado S, L., & Delgado C, A. (2007). Criopreservación de semen ovino empleando tres dilutores y cuatro combinaciones de agentes crioprotectores permeantes y no permeantes. *Rev Inv Vet Perú*, 18(2), 107-114.
48. Sarma, J., Sinha, S., Biswas, R., Deka, B., Sarmah, B., Gogoi, T., & Bhattacharjya, R. (2015). Effect of Freezing Rate on Quality of Cryopreserved Goat Spermatozoa Using a Programmable Freezer. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science (IOSR-JAVS)*, 67-69. Obtenido de <https://www.semanticscholar.org/paper/Effect-of-Freezing-Rate-on-Quality-of-Cryopreserved-Sinha-Deka/98921f851487ed68e45c12bb2a457582a7c7e141>
49. Secretaria Agropecuaria, N. L. (2003). *AgroNuevoLeón*. Obtenido de AgroNuevoLeón:
agronuevoleon.gob.mx

50. Valencia Méndez, J., González Herrera, G., González García, M. E., & Trejo González, A. (1994). Motilidad y daño acrosomal del semen caprino congelado en pajillas 0.25 ml y 0.5 ml y descongelado a dos diferentes ritmos de temperatura. *Revista Veterinaria México - Vet Mex*, 25(2), 127-131.
51. Wahjuningsih, S., Hermanto, Nuryadi, Budiarto, A., & Bhintoro, P. (2012). Effect of Sperm Concentration and Length of Storage at 5 C on Motility of Goat Spermatozoa. *International Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 6(6), 392-394.

ANEXOS

Tabla 7. Parámetros de progresividad y concentración para las muestras seminales post-congelación de semen caprino

Parámetros		T1 TwoStep®	T2 Andromed®	T3 Sobrenadante de TwoStep®	T4 Concentrado en Andromed®
Espermatozoides Estáticos (%)	Progresividad No. spz (%)	747 (74,1) ^c	819 ^b (71,5 %)	381 ^d (70,6 %)	1401 ^a (69,6 %)
	Concentración (millones de Spz/ml)	22,2 ^c	41,9 ^a	20,3 ^d	35,9 ^b
Espermatozoides no Progresivos (%)	Progresividad	172 ^c (17,1 %)	294 ^b (25,7 %)	140 ^d (25,9 %)	366 ^a (18,2%)
	Concentración (millones de Spz/ml)	5,1 ^d	15,1 ^a	7,5 ^c	9,4 ^b
Espermatozoides Progresivos (%)	Progresividad	89 ^b (8,8 %)	32 ^c (2,8 %)	19 ^d (3,5 %)	245 ^a (12,2 %)
	Concentración (millones de Spz/ml)	2,6 ^b	1,6 ^b	1,0 ^c	12,6 ^a
Total	Concentración (millones de Spz/ml)	30,0	58,6	28,8	51,6

Letras iguales no presentan diferencias significativas ($P \geq 0,05$)

Fuente: (Hernández et al, 2013).

Tabla 8. Parámetros (ALH y BCF) de Motilidad para las muestras seminales post-congelación de semen caprino

Parámetros		T1 TwoStep®	T2 Andromed®	T3 Sobrenadante de TwoStep®	T4 Concentrado en Andromed®
Espermatozoides Progresivos	ALH (µm/s)	2,2 ^b	1,8 ^c	1,7 ^c	2,7 ^a
	BCF (Hz)	6,3 ^b	4,9 ^d	5,5 ^c	10,2 ^a
Espermatozoides Progresivos Medios	ALH (µm/s)	1,8 ^a	1,8 ^a	1,4 ^b	1,9 ^a
	BCF (Hz)	4,8 ^a	4,5 ^b	1,7 ^d	3,6 ^c
Espermatozoides Progresivos Rápidos	ALH (µm/s)	2,8 ^a	1,9 ^b	1,8 ^b	2,9 ^a
	BCF (Hz)	8,3 ^b	5,2 ^d	6,9 ^c	12,3 ^a

ALH: Amplitud media del desplazamiento lateral de la cabeza del espermatozoide, **BCF:** Frecuencia de batida, Letras iguales no presentan diferencias significativas ($P \geq 0,05$)

Fuente: (Hernández et al, 2013).

Tabla 9. Parámetros de motilidad para las muestras seminales post-congelación de semen caprino

Parámetros		T1 TwoStep®	T2 Andromed®	T3 Sobrenadante de TwoStep®	T4 Concentrado en Andromed®
Espermatozoides Móviles	VCL $\mu\text{m/s}$	39,1 ^b	20,3 ^d	21,9 ^c	46,1 ^a
	VSL $\mu\text{m/s}$	24,1 ^a	9,4 ^d	15,6 ^c	21,7 ^b
	VAP $\mu\text{m/s}$	30,5 ^a	13,8 ^d	18,1 ^c	27,5 ^b
	LIN (%)	61,6 ^b	46,3 ^d	71,3 ^a	47,0 ^c
	STR (%)	79,0 ^b	68,4 ^c	86,2 ^a	78,7 ^b
	WOB (%)	77,9 ^b	67,7 ^c	82,7 ^a	59,7 ^d
Espermatozoides Lentos	VCL $\mu\text{m/s}$	15,2 ^c	15,8 ^b	13,4 ^d	16,5 ^a
	VSL $\mu\text{m/s}$	6,2 ^c	7,5 ^a	7,7 ^a	7,1 ^b
	VAP $\mu\text{m/s}$	9,9 ^b	10,8 ^a	9,8 ^c	10,0 ^b
	LIN (%)	40,4 ^d	47,6 ^b	57,8 ^a	43,0 ^c
	STR (%)	62,4 ^d	69,4 ^c	79,0 ^a	70,9 ^b
	WOB (%)	64,8 ^c	68,7 ^b	73,2 ^a	60,7 ^d
Espermatozoides Medios	VCL $\mu\text{m/s}$	34,5 ^b	33,0 ^c	23,0 ^d	35,2 ^a
	VSL $\mu\text{m/s}$	16,7 ^a	14,5 ^b	12,0 ^d	12,5 ^c
	VAP $\mu\text{m/s}$	24,2 ^a	21,8 ^b	16,3 ^d	19,1 ^c
	LIN (%)	48,3 ^b	43,9 ^c	52,1 ^a	35,6 ^d
	STR (%)	68,8 ^b	66,4 ^c	73,5 ^a	65,6 ^d
	WOB (%)	70,3 ^b	66,1 ^c	70,9 ^a	54,3 ^c
Espermatozoides Rápidos	VCL $\mu\text{m/s}$	103,7 ^a	39,5 ^d	92,1 ^b	79,6 ^c
	VSL $\mu\text{m/s}$	79,3 ^a	15,3 ^d	76,8 ^b	40,4 ^c
	VAP $\mu\text{m/s}$	89,8 ^a	22,4 ^d	84,0 ^b	48,4 ^c
	LIN (%)	76,5 ^b	38,8 ^d	83,4 ^a	50,8 ^c
	STR (%)	88,3 ^b	68,5 ^d	91,5 ^a	83,5 ^c
	WOB (%)	86,6 ^b	56,7 ^d	91,1 ^a	60,8 ^c

VCL: Velocidad curvilínea; VSL: Velocidad rectilínea; VAP: Velocidad promedio; LIN: Índice de linealidad; STR: Índice de rectitud; WOB: Índice de oscilación, Letras iguales no presentan diferencias significativas ($P \geq 0,05$)

Fuente: (Hernández et al, 2013).

Tabla 10. Interacción entre el método de obtención seminal y los diluyentes para la característica general de vitalidad y motilidad de las muestras seminales criopreservadas de caprinos

Método de extracción Seminal	Diluyente	Parámetro (%) / M ± EE				
		Vitalidad	Motilidad	Progresiva	No progresiva	Estáticos
Electroeyaculador	AndroMed®	61,83±9,03 ^a	33,06±9,01 ^a	11,66 ± 4,2 _a	21,43 ± 4,9 _a	66,91 ± 9 _b
	Triladyl®	64,33±6,74 ^a	36,52±8,95 ^a	12,41 ± 4,8 _a	24,11 ± 4,7 _{ab}	63,46 ± 8,9 _b
	Ovixcell®	45,50±15,04 ^b	19,60±5,59 ^b	5,62 ± 2,1 _b	14 ± 3,5 _a	80,40 ± 5,5 _c
	Total	59,57±5,26 _B	31,86±5,24 _B	10,74 ± 2,6 _B	21,13 ± 2,8 _A	68,12 ± 5,24 _B
Vagina artificial	AndroMed®	66,87±4,11 ^b	36,58±5,37 ^b	11,42 ± 2,3 _b	25,30 ± 3,4 _{ab}	63,03 ± 5,3 _b
	Triladyl®	80,08±4,25 ^a	63,67±8,71 ^a	23,80 ± 4,7 _a	39,86 ± 4,5 _b	36,33 ± 8,7 _a
	Ovixcell®	66,83±11,64 ^b	48,55±15,55 ^{ab}	15,96 ± 6,3 _{ab}	32,56 ± 9,7 _b	51,46 ± 15,5 _b
	Total	72,96±3,62 _A	51,85±5,88 _A	18,13 ± 2,8 _A	33,70 ± 3,3 _B	48,04 ± 5,87 _A

(a, b; A, B): Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05).

Fuente: (Hernández et al, 2014).

Tabla 11. Interacción entre el método de obtención seminal y los diluyentes para la característica general de índices de velocidad de las muestras seminales criopreservadas de caprinos.

Método de extracción Seminal	Diluyente	Parámetro (%) / M ± EE							
		VCL μm/s	VSL μm/s	VAP μm/s	LIN %	STR %	WOB %	ALH μm/s	BCF Hz
Electroeyaculador	AndroMed®	76,2 ± 4,4 _a	38,3 ± 5,5 _a	51,3 ± 5,1 _a	49,6 ± 6 _{ab}	72,8 ± 5 _a	66,8 ± 4,7 _a	3,08 ± 0,2 _a	8,08 ± 1,3 _a
	Triladyl®	72 ± 9,6 _a	29,6 ± 4,7 _a	44,1 ± 6,6 _a	40,1 ± 2,9 _b	65,8 ± 2,9 _a	60,2 ± 2,4 _a	2,54 ± 0,2 _{ab}	5,83 ± 1,05 _b
	Ovixcell®	72,1 ± 5,1 _a	46,7 ± 12,4 _a	53,9 ± 11 _a	62,3 ± 14 _a	80,7 ± 10 _a	72,8 ± 11 _a	1,95 ± 0,05 _b	5,97 ± 1,7 _b
	Total	73,39 _A	36,01 _A	48,49 _A	47,82 _A	71,20 _A	66,2 _A	2,5 _B	6,5_A
Vagina artificial	AndroMed®	79,3 ± 7,2 _a	42,5 ± 3,92 _a	54,9 ± 5,6 _a	54,4 ± 4,1 _a	77,9 ± 3,6 _a	69,2 ± 2,8 _a	2,96 ± 0,2 _a	8,98 ± 0,8 _a
	Triladyl®	87,2 ± 3,3 _a	39,6 ± 2,82 _a	55,9 ± 3,3 _a	45 ± 2,1 _{ab}	70,4 ± 1,6 _a	63,6 ± 2 _a	3,37 ± 0,1 _a	8,5 ± 0,5 _a
	Ovixcell®	61,7 ± 7,5 _a	31,7 ± 5,47 _a	42,5 ± 6 _a	48,9 ± 7,1 _{ab}	70,7 ± 7,9 _a	67,3 ± 3,6 _a	2,46 ± 0,1 _{ab}	6,45 ± 1,2 _{ab}
	Total	78,93 _A	38,7 _A	52,56 _A	48,81 _A	72,8 _A	66,96 _A	3,03 _A	8,18 _A

(a, b; A, B): Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05).

Fuente: (Hernández et al, 2014).

Tabla 12. Porcentaje de motilidad progresiva (media \pm error estándar) de espermatozoides ovinos luego del proceso de congelación-descongelación empleando dos fuentes energéticas y dos crioprotectores

Crioprotector	Fuente energética		Promedio
	Fructosa	Glucosa	
Glicerol	68.3 \pm 1.9	62.6 \pm 2.4	65.5 \pm 1.7 ^y
Etilenglicol	50.3 \pm 2.9	47.7 \pm 2.4	49.0 \pm 1.9 ^z
Promedio	59.3 \pm 3.1 ^a	55.1 \pm 2.8 ^b	

^{a,b} Superíndices diferentes dentro de filas indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

^{y,z} Superíndices diferentes dentro de columnas indican diferencia estadística ($p < 0.001$)

Fuente: (Ruiz et al, 2015).

Tabla 13. Porcentaje de espermatozoides ovinos vivos con acrosomas intactos (media \pm error estándar) luego del proceso de congelación-descongelación empleando dos fuentes energéticas y dos crioprotectores

Crioprotector	Fuente energética		Promedio
	Fructosa	Glucosa	
Glicerol	62.2 \pm 1.5	54.3 \pm 2.6	58.2 \pm 1.9 ^y
Etilenglicol	45.5 \pm 2.4	38.5 \pm 1.7	42.0 \pm 1.8 ^z
Promedio	53.8 \pm 2.8 ^a	46.4 \pm 2.8 ^b	

^{a,b} Superíndices diferentes dentro de filas indican diferencia estadística ($p < 0.05$)

^{y,z} Superíndices diferentes dentro de columnas indican diferencia estadística ($p < 0.001$)

Fuente: (Ruiz et al, 2015).

Tabla 14. Efecto de método de extracción y diluyente seminal sobre la vitalidad espermática y daño mitocondrial en semen post descongelado de caprinos. (primer experimento)

Método de extracción seminal	Diluyente	Parámetros medidos post-descongelación % (± EE)				
		Motilidad	Progresividad	Daño mitocondrial	Viabilidad	Coefficiente de Variación
Electroeyaculador	Lecitina de soya	15,34 ^b (±3,72)	5,00 ^b (±1,37)	96,0 ^a (±1,84)	0,035 ^a (±0,006)	40,30 ^a (±18,86)
	Yema de huevo	34,15 ^a (±6,28)	12,41 ^a (±2,82)	58,57 ^b (±10,43)	9,95 ^b (±0,006)	109 ^a (±14,33)
	LS (Bajo Glicerol)	11,55 ^b (±4,38)	3,69 ^b (±1,58)	95,65 ^a (±0,97)	0,09 ^a (±0,04)	75,98 ^a (±56,16)
	Total	20,35 ^A (±2,98)	7,03 ^A (±1,22)	83,40 ^A (±4,26)	3,36 ^B (±0,82)	75,14 ^A (±16,77)
Vagina Artificial	Lecitina de soya	55,07 ^a (±4,34)	21,42 ^a (±2,15)	84,25 ^a (±13,95)	0,09 ^a (±0,06)	126,0 ^a (±1,00)
	Yema de huevo	52,03 ^a (±6,82)	18,91 ^a (±3,56)	44,27 ^b (±11,11)	0,50 ^b (±0,21)	65,22 ^a (±13,10)
	LS (Bajo Glicerol)	36,97 ^b (±10,35)	11,83 ^a (±4,12)	86,37 ^a (±4,73)	0,06 ^a (±0,04)	52,10 ^a (±24,81)
	Total	47,41 ^B (±4,28)	16,01 ^B (±2,05)	71,63 ^A (±4,93)	0,21 ^A (±0,94)	81,10 ^A (±19,37)

(a, b; A, B): Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (P<0,05)

Fuente (Quintero et al, 2017).

Tabla 15. Efecto de diluyente seminal y la raza en la vitalidad espermática y daño mitocondrial (segundo experimento)

Diluyente	Raza	Parámetros medidos								
		Semen fresco (%) (± EE)		Refrigeración a 2 horas (%) (± EE)		Post-descongelados (%) (± EE)		Integridad espermática (%)		
		Motilidad	Progresividad	Motilidad	Progresividad	Motilidad	Progresividad	Daño mitocondrial	Viabilidad	Coefficiente de Variación
PBS	Alpina	79,10 ^a (±4,12)	61,76 ^a (±4,77)							
	Saanen	75,09 ^b (±8,03)	62,62 ^a (±7,37)							
Lecitina de soya	Alpina			72,58 ^a (±5,77)	55,05 ^a (±6,58)	53,44 ^a (±3,76)	32,77 ^a (±3,00)	68,64 ^a (±7,83)	17,58 ^a (±2,38)	96,96 ^a (±6,07)
	Saanen			83,06 ^a (±6,28)	70,75 ^b (±8,20)	62,20 ^a (±3,99)	34,28 ^a (±3,47)	35,25 ^b (±9,89)	20,16 ^a (±1,89)	84,65 ^a (±6,11)
	Total			76,32 ^A (±4,37)	60,66 ^A (±5,25)	56,60 ^A (±2,82)	33,31 ^A (±2,28)	51,94 ^A (±5,24)	18,87 ^A (±1,79)	90,79 ^A (±4,35)
Yema de huevo	Alpina			77,16 ^a (±6,80)	53,61 ^a (±6,95)	38,27 ^a (±2,84)	17,05 ^a (±1,57)	61,57 ^a (±4,91)	18,16 ^a (±2,19)	110,21 ^b (±6,28)
	Saanen			72,91 ^a (±9,15)	44,49 ^b (±10,26)	42,81 ^a (±3,46)	19,22 ^a (±3,46)	55,49 ^a (±6,50)	20,73 ^a (±3,63)	115,05 ^b (±5,94)
	Total			75,63 ^a (±5,36)	50,33 ^B (±5,72)	39,66 ^B (±2,24)	17,72 ^B (±1,25)	58,53 ^A (±5,27)	19,46 ^A (±1,80)	112,63 ^B (±4,38)

(a, b; A, B): Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (P<0,05)

Fuente (Quintero et al, 2017).

Tabla 16. Integridad de la membrana acrosomal

Diluyente	Raza	Parámetro M (%) (± EE)		
		Fresco	2 horas	Post-descongelado
Lecitina de soya	Alpina	99,26 ^a (±0,96)	96,86 ^a (±2,44)	92,53 ^a (±1,35)
	Saanen	99,90 ^a (±0,30)	98,63 ^a (±1,68)	93,81 ^a (±1,57)
	Total	99,53 ^A (±0,81)	97,61 ^A (±2,29)	93,17 ^A (±1,03)
Yema de huevo	Alpina	99,53 ^a (±0,83)	97,46 ^a (±2,35)	94,26 ^a (±1,35)
	Saanen	99,44 ^a (±0,88)	96,66 ^a (±2,44)	89,77 ^a (±1,74)
	Total	99,50 ^A (±0,83)	97,16 ^A (±2,37)	92,10 ^A (±1,10)

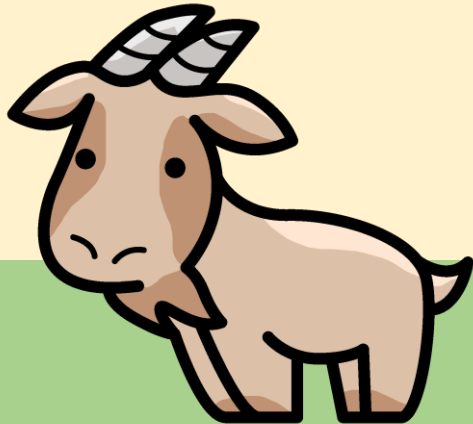
(a, b; A, B): Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (P<0,05)

Fuente (Quintero et al, 2017).



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

ACTUALIZACIÓN EN LOS DIFERENTES PROTOCOLOS UTILIZADOS EN LA CRIOCONSERVACIÓN DEL SEMEN CAPRINO (*Capra aegagrus hircus*)



Marian Melo Quiroga

Directora

Karen Patricia Montoya Andrade

Universidad de Cundinamarca

Facultad Ciencias Agropecuarias

Programa de Zootecnia

Fusagasugá / 2019





UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

La criopreservación es un proceso de la biotecnología reproductiva mediante el cual, se enfría y posteriormente se congelan muestras biológicas extraídas de un espécimen macho.



Fuente: wellcomecollection.org - Royal Veterinary College

INTRODUCCIÓN





UDECA
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

No se encontró documentación suficiente sobre el tema en Colombia.

Al ser una industria en crecimiento, vista muchas veces como un **negocio familiar** o alterno dentro de las fincas, es probable que los desarrollos tecnológicos no estén difundidos y que en algunas zonas se presente un alto grado de desconocimiento a causa de las distancias geográficas y las prácticas de los criadores.



PROBLEMÁTICA



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA



Objetivo general

Realizar una revisión y análisis de las actualizaciones en los diferentes **protocolos** utilizados para la **criopreservación** de semen del macho caprino (*Capra aegagrus hircus*).

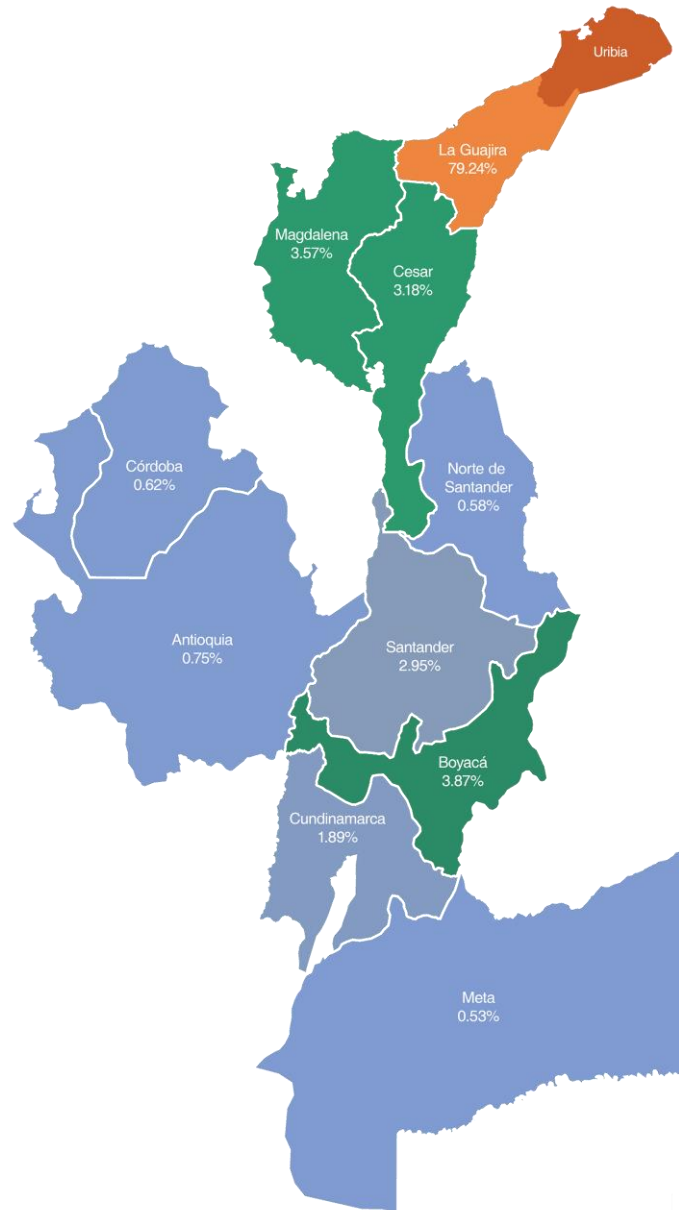
Objetivos específicos

- Compilar y sistematizar las actualizaciones y protocolos más representativos en la criopreservación de semen en caprinos.
- Comparar metodologías y resultados de los diferentes protocolos utilizados para la criopreservación del semen del macho caprino.
- Analizar la eficacia de cada uno de los protocolos y su aplicabilidad en la producción caprina en Colombia.
- Realizar un análisis estadístico, a través del tiempo, de las actualizaciones de los protocolos de criopreservación existentes para semen caprino.

OBJETIVO



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

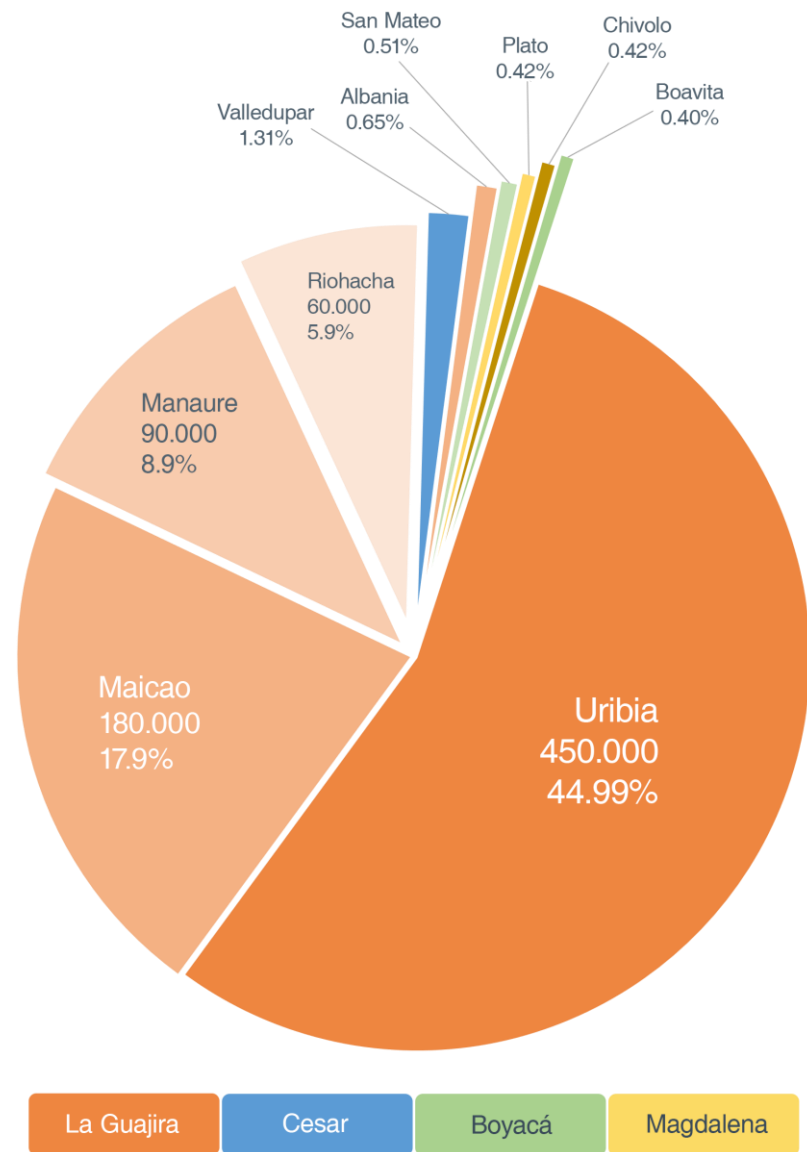


departamento	caprinos (no. de cabezas)	porcentaje
La Guajira	792.490	79,239
Boyacá	38.737	3,873
Magdalena	35.698	3,569
Cesar	31.826	3,182
Santander	29.492	2,949
Cundinamarca	18.877	1,887
Antioquia	7.527	0,753
Córdoba	6.217	0,622
Norte de Santander	5.800	0,580
Meta	5.321	0,532
Bolívar	3.941	0,394
Cauca	3.602	0,360
Atlántico	2.564	0,256
Sucre	2.560	0,256
Huila	2.337	0,234
Tolima	2.308	0,231
Casanare	1.697	0,170
Caquetá	1.637	0,164
Putumayo	1.415	0,141
Arauca	1.300	0,130
Guaviare	1.299	0,130
Nariño	993	0,099
Valle	818	0,082
Quindío	682	0,068
Caldas	419	0,042
Risaralda	253	0,025
Vichada	163	0,016
San Andrés, Providencia y Sta. Catalina	101	0,010
Chocó	31	0,003
Vaupés	25	0,002
Guainía	2	0,000
Amazonas	0	0,000
Bogotá, D.C.	0	0,000
Total general	1.000.132	100%

Fuente ICA (2018)

INDUSTRIA CAPRINA



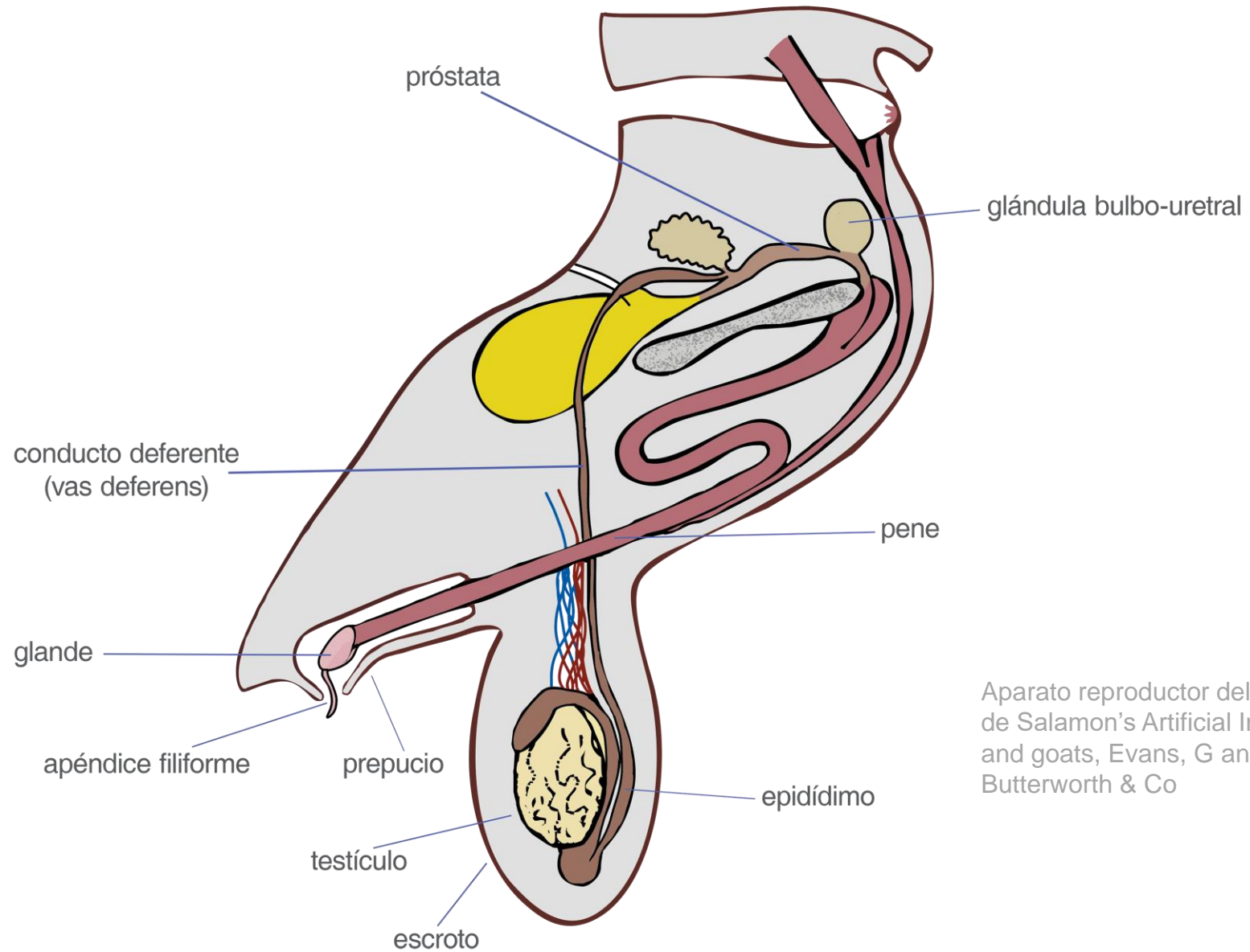


Fuente ICA (2018)

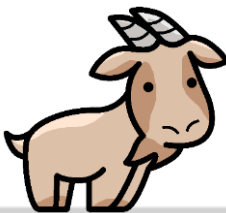


INDUSTRIA CAPRINA





Aparato reproductor del macho, adaptado de Salamon's Artificial Insemination of sheep and goats, Evans, G and Maxwell, WMC. Butterworth & Co



ANATOMIA REPRODUCTIVA



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Pesado

Pecho
amplio

Miembros
fuertes

Mellizo

Tronco
recto

Agresivo



SELECCIÓN DE REPRODUCTORES





UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

Pubertad del macho

En el macho caprino la aptitud para la reproducción ocurre entre los 6 y 12 meses de edad (Garet Evans, 1990).

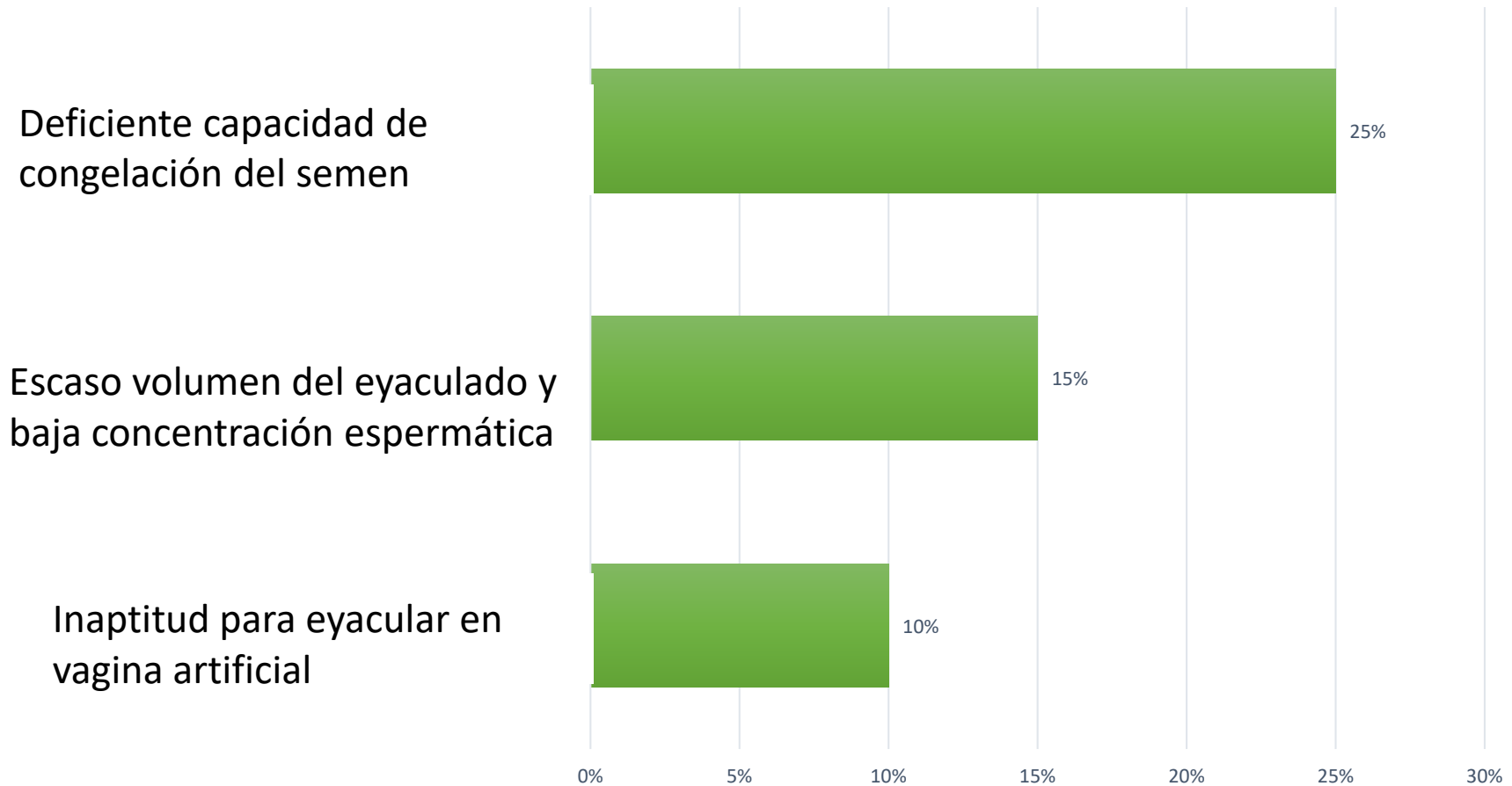
La copula, con eyaculación de espermatozoides viables, ocurre entre los cuatro y seis meses de edad con un peso corporal de 40 a 60% del equivalente al peso de animal adulto.



SELECCIÓN DE REPRODUCTORES



PRINCIPALES MOTIVOS DE DESCARTE EN REPRODUCTORES.



SELECCIÓN DE REPRODUCTORES

(Gibbons, 2002)



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

Recolección de semen por vagina artificial

La **vagina artificial** es una imitación de la vagina de la cabra con una extensión de (de 15 cm x 5,5 cm), que proporciona los estímulos de temperatura y presión, para que sea posible la duración de la erección del macho y lograr un **eyaculado completo** (Garet Evans, 1990).



RECOLECCIÓN DEL SEMEN



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

Características del eyaculado seminal

Característica	Patrón Normal
Volumen (cc)	0,59
Motilidad progresiva (%)	81,76
Células espermáticas vivas (%)	91,36
Concentración (espermatozoides/cc)	3,128x
Anormalidades primarias (%)	2,2
Anormalidades secundarias (%)	4,13
Total anormalidades (%)	6,36
Normales (%)	93,63

Fuente: (Garet Evans, 1990)

RECOLECCIÓN DEL SEMEN





UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA



Fuente: Royal Veterinary College

RECOLECCIÓN DEL SEMEN

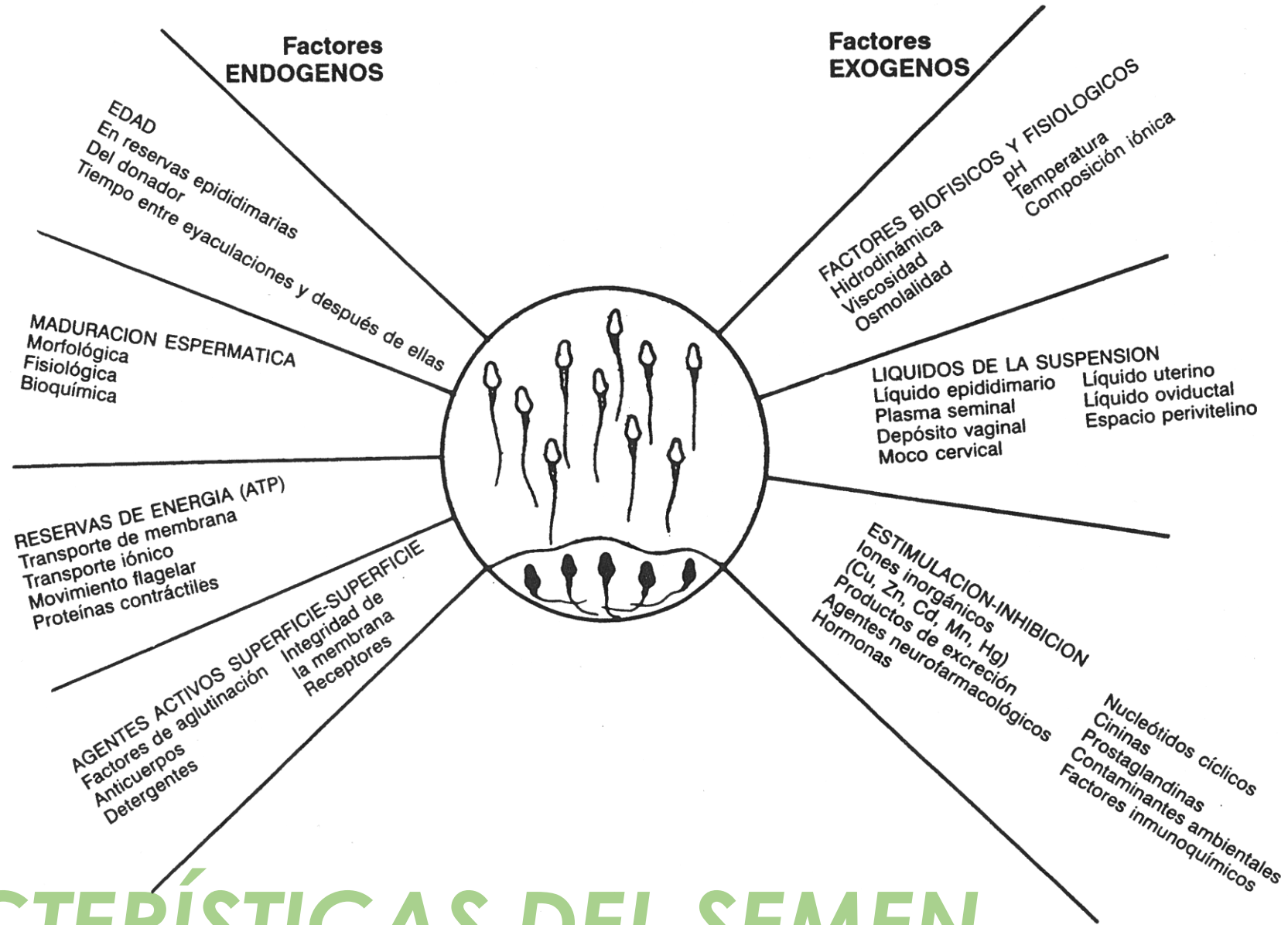


Vigilada MinEducación

www.ucundinamarca.edu.co



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA



CARACTERÍSTICAS DEL SEMEN

(Hafez & Hafez, 2002)



Normal



Sin cola
(decapitados)



Cabeza
agrandada



Cabeza
pequeña



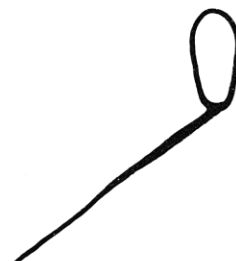
Cola
retorcida



Cabeza
adelgazada



Rotura del
cuello



Rotura de
pieza
intermedia

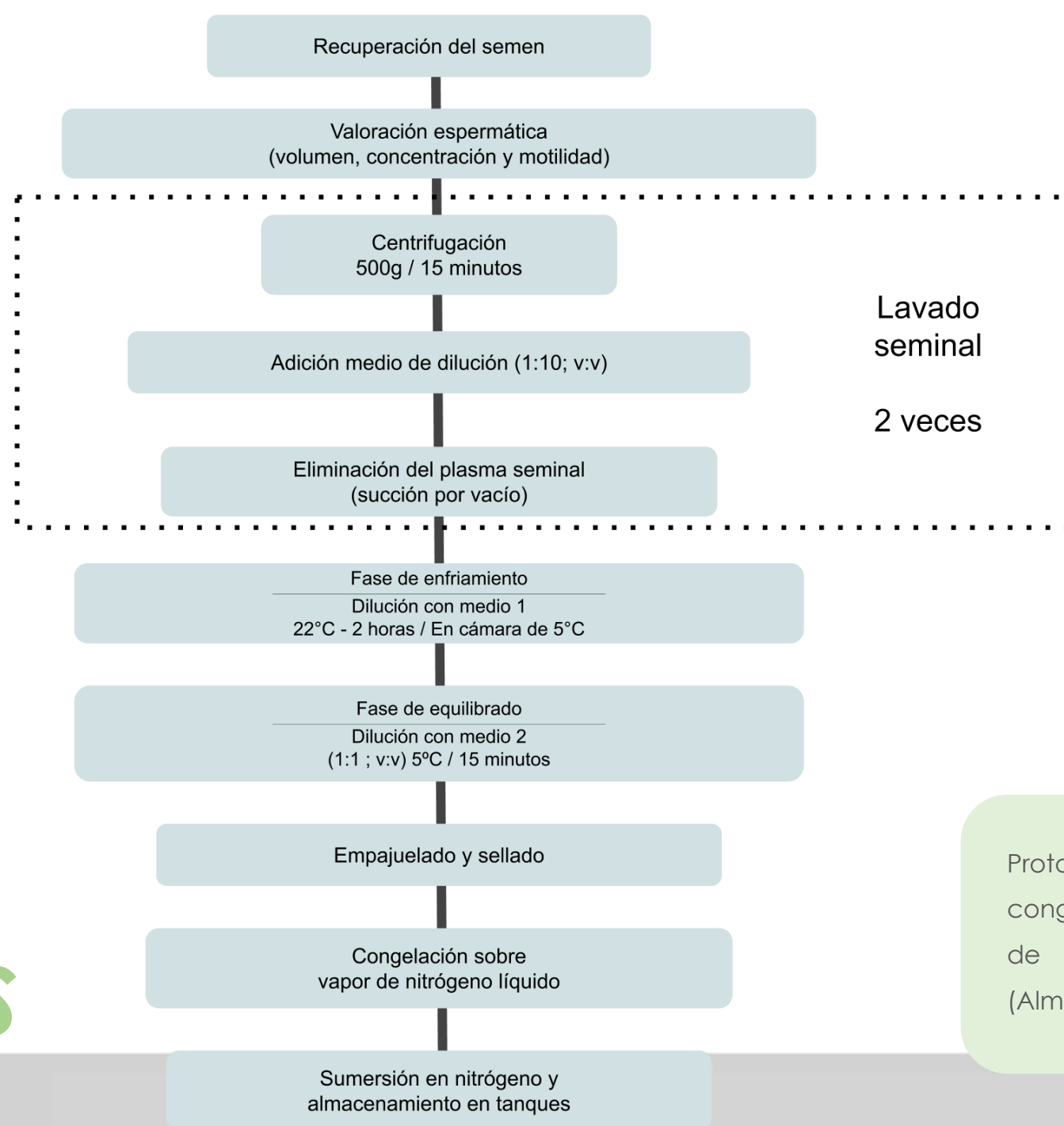


Acrosoma
anormal

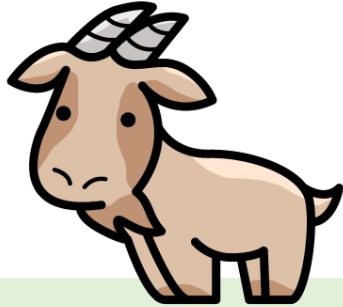


(Garet Evans, 1990)

MORFOLOGÍA DE LOS ESPERMATOZOIDES



Protocolo de recolección, congelación y empajillado de semen caprino (Almenar, 2007).



Los diluyentes utilizados para la crioconservación de semen deben reunir los siguientes requisitos:

- Componente tampón (Tris, citrato de sodio).
- Fuente energética (glucosa, fructosa).
- Crioprotector externo (leche, yema de huevo)
- Crioprotector interno (lactosa, glicerol).
- Antibiótico (penicilina, estreptomycin)

(Corredor, 2014)

Al no existir un diluyente universal se manejan varias fórmulas ya existentes en diferentes concentraciones para cada tipo de semen, encontrándose que los diluyentes principales en la criopreservación de semen caprino son los siguientes:

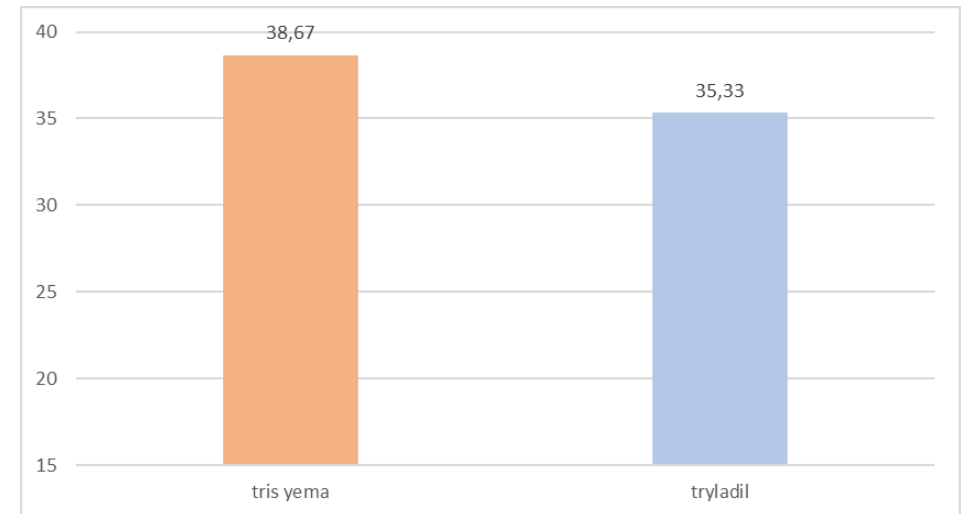
- Tris, fructosa o glucosa, yema de huevo, glicerol.
 - Tris, ácido cítrico, fructosa, yema de huevo, glicerol
 - Glucosa, leche descremada, glicerol.
 - Citrato de sodio, glucosa, yema de huevo, glicerol.
 - Citrato de sodio, agua de coco, yema de huevo, glicerol
- (Luzardo, 2010)

DILUYENTES DE SEMEN

TRIS es el nombre abreviado del compuesto orgánico conocido como tris(hidroximetil)aminometano, de fórmula $(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$. Se utiliza ampliamente en bioquímica y biología molecular. Empleándose, principalmente, como agente buffer en criopreservación de semen de toro, caprino y carnero

Tris	2.422g
Fructosa	1.0g
Ácido Cítrico	1.36g
Penicilina G	0.006g
Sulfato de Estreptomicina	0.100g
Yema de Huevo	2.5% del volumen total del diluyente
Glicerol	2.0% del volumen total del diluyente
pH	Entre 6.8-7.0

Para fabricar 100ml de diluyente a base de Tris, yema de huevo y glicerol (Agriculture, 2016)



Motilidad espermatocálica individual post-congelación de semen caprino congelado con dos diluyentes en base TRIS (Luzardo, 2010)

DILUYENTES: TRIS

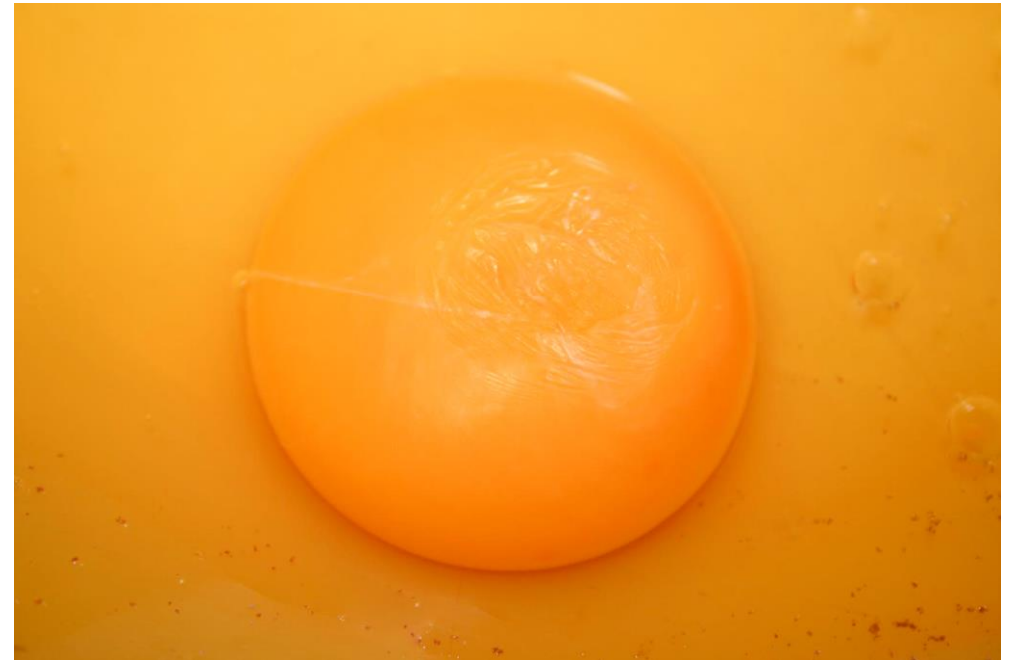


UDECA
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA



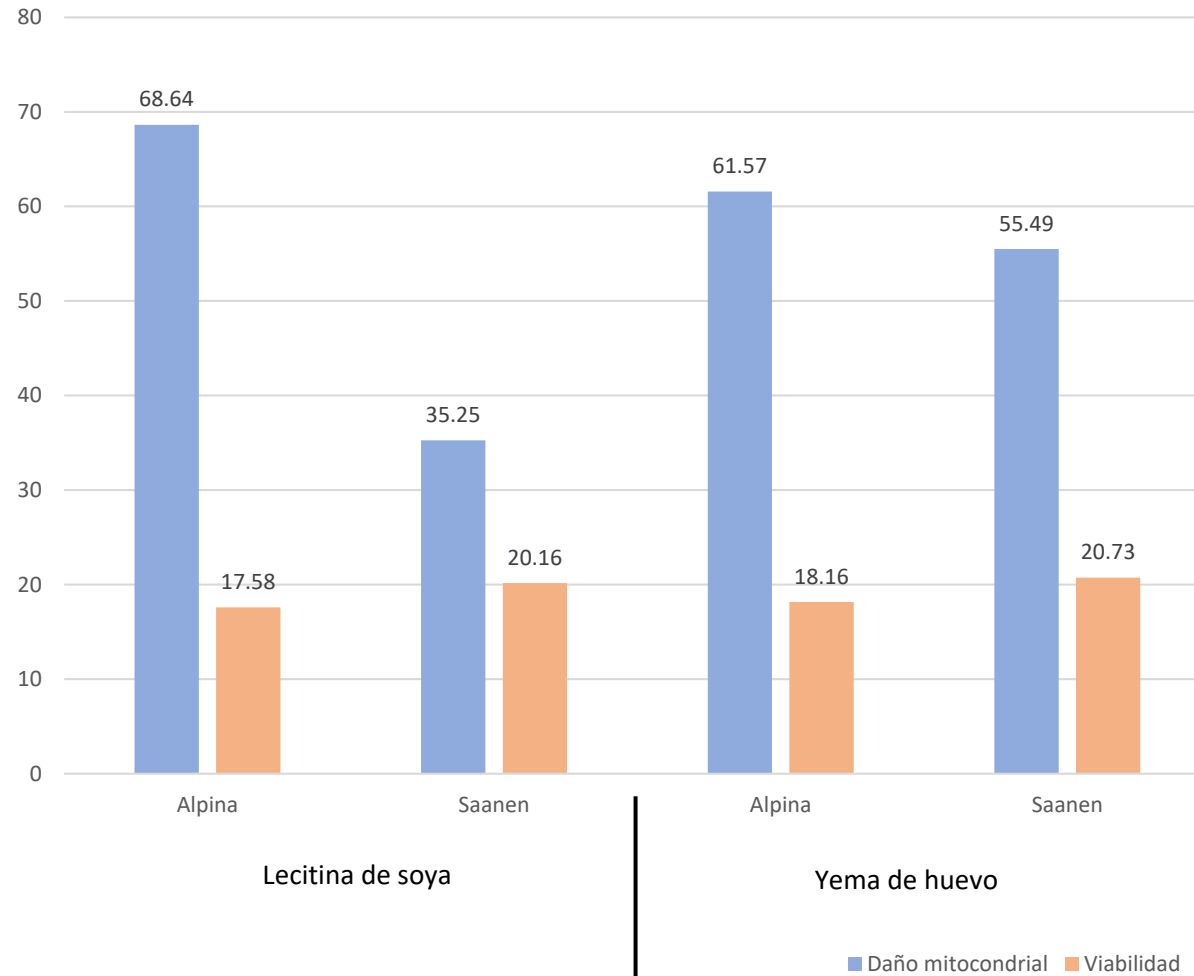
LECHE

YEMA DE HUEVO



DILUYENTES





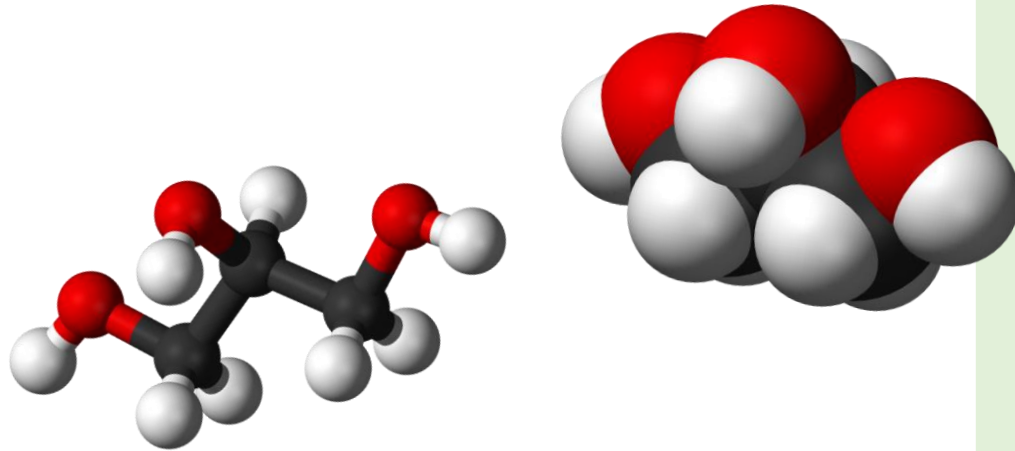
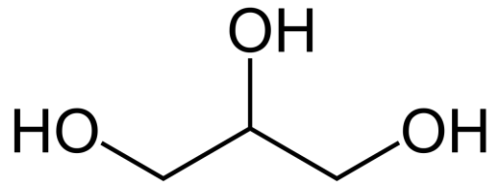
Daño mitocondrial y viabilidad espermáticas en semen congelado utilizando lecitina de soya y yema de huevo (Quintero et al, 2017).

La lecitina de soya es un crioprotector de origen vegetal y su uso está considerado como una alternativa a la yema de huevo para la criopreservación de espermatozoides de varias especies, especialmente caprinos, ya que contiene un alto contenido de LDL (García Vera, 2014).

DILUYENTES: LECITINA DE SOYA



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA



“El descubrimiento del glicerol como agente crioprotector se debe a [Christopher Polge] (1949). Esta sustancia ocupa simultáneamente la membrana y los compartimientos extra e intracelulares, sin embargo, Amman y Pickett (1987), así como Almid y Johnson (1988), sugieren que su principal efecto crioprotector se ejerce a nivel extracelular” (García Vera, 2014, pág. 34). Su función a este nivel consiste en aumentar el volumen del medio extracelular y la proporción de agua en estado de no-congelación (García Vera, 2014);

Se recomienda su uso en concentraciones entre 6% y 9%. Respecto a la temperatura a la que debe añadirse, alrededor de 5°C parece dar mejores resultados de supervivencia espermática que la adición a 30°C, ya que, a esta temperatura, la membrana espermática es más permeable y por lo tanto tiene un mayor efecto tóxico (García Vera, 2014).

DILUYENTES: GLICEROL



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA



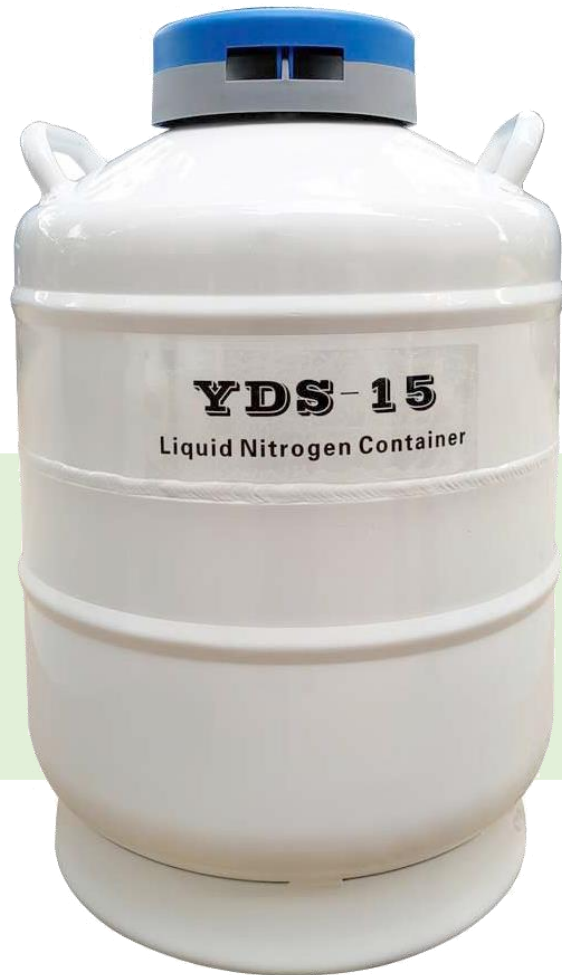
El congelamiento se puede realizar en pajuelas (vapores de nitrógeno) o pastillas (goteo, sobre un bloque de hielo seco) para posteriormente conservarlas en nitrógeno líquido. Esta última técnica es rápida, sencilla y se obtiene una mayor tasa de motilidad seminal post-descongelamiento, más no presenta una tasa significativamente alta en la fertilidad de estos (Gibbons, 2002).

MÉTODOS DE CONGELACIÓN





UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA



Según el estudio realizado por (Küçük, y otros, 2014) "El enfriamiento de los espermatozoides de 37°C a 4°C tiene un efecto negativo sobre la motilidad. Sin embargo, el equilibrio de los espermatozoides a 4°C durante dos horas parece tener muy poco efecto sobre las características del semen.

La congelación y la descongelación causan daños considerables a la motilidad, la integridad de la membrana plasmática, el acrosoma, la relación entre los espermatozoides vivos-muertos y la morfología de los espermatozoides. (Agossou Dehouegnon & Koluman, 2018).

MÉTODOS DE CONGELACIÓN



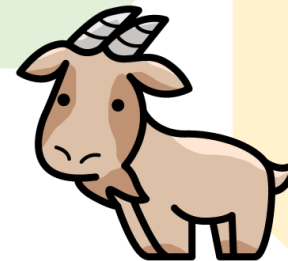
UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

Empacado de semen en pajillas

Es el más usado por su practicidad. Según su capacidad, hay pajillas de 0,25 ml y de 0,50 ml; siendo la más usada en caprinos la de 0,25 ml. Las pajillas deben ser identificadas con tinta indeleble, resistente a bajas temperaturas, señalando el laboratorio, la especie e identidad del animal, raza, fecha de envasado de la pajilla y las iniciales de la unidad de producción (Luzardo 2010).

Método de pellets

También conocido como método de pastilla. Para este método se requiere un bloque de hielo seco agujereado para formar pellets; estos agujeros son llenados por goteo, para ello se utiliza una pipeta fría (Luzardo, 2010).



MÉTODOS DE EMPACADO



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

Generalmente las pajillas se descongelan al baño maría, colocando especial atención a la temperatura y tiempo de permanencia durante el proceso. Hernández (2014) habla de colocar las pajillas a baño maría a 37°C durante 5 minutos. Luzardo (2010) menciona menores tiempos de permanencia en el baño maría, 37 a 39°C durante 15-30 segundos y de 30 a 35°C por 30 segundos, con el criterio de, cuanto más rápida sea la descongelación, más sincronizada es la descongelación del medio extracelular con la del medio intracelular.



MÉTODOS DE DESCONGELACIÓN

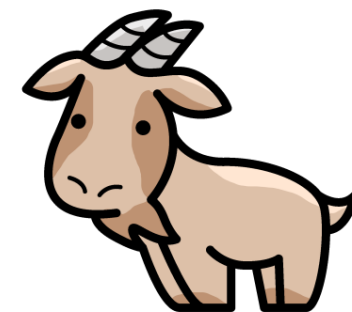


UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

Posibles daños del semen después del descongelamiento

La reducción de la fertilidad, asociada con la inseminación artificial con semen congelado, se atribuye a la aparición de daños en los espermatozoides durante la congelación y descongelación; causando cambios ultraestructurales, bioquímicos y funcionales que reducen la viabilidad de los espermatozoides (Trindade et al, 2011).

Tras descongelar el semen, la calidad del movimiento espermático se ve bastante deteriorada. En el caso del semen caprino, la calidad del semen descongelado suele quedar muy reducida comparada con el mismo semen en fresco; con valores registrados entre el 20-30% al 60-70%, siendo el estándar entre un 30% y un 60% (González Niño, 2013)



MÉTODOS DE DESCONGELACIÓN

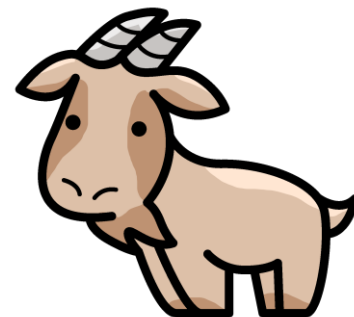


Luego se procederá a realizar la evaluación de la motilidad individual progresiva, estimándose como la velocidad de desplazamiento hacia adelante por parte del espermatozoide, en una escala subjetiva entre 0 y 5 (0 – mínimo, 5 - máximo) tomando en cuenta las siguientes apreciaciones:

- 0 - los espermatozoides no se mueven.
- 1 - los espermatozoides se mueven en el lugar, giran sobre si mismos.
- 2 - los espermatozoides se trasladan brevemente pero quedan relegados.
- 2.5 - los espermatozoides se trasladan, se puede seguir su trayectoria con la vista.
- 3 - los espermatozoides se desplazan, es difícil seguirlos con la vista.
- 4 - los espermatozoides se desplazan a gran velocidad, apenas se logran apreciar.
- 5 - los espermatozoides se desplazan tan velozmente que no se logran distinguir.

Para la aceptación de una tanda de pajillas o pellets, debe poseer (luego de 4 a 5 minutos de incubación a 36°C en baño maría) (Cueto et al, 2016). :

- Motilidad masal al descongelamiento.
- Un porcentaje de espermatozoides igual o superior al 30%.
- Motilidad individual progresiva igual o superior a 2.5

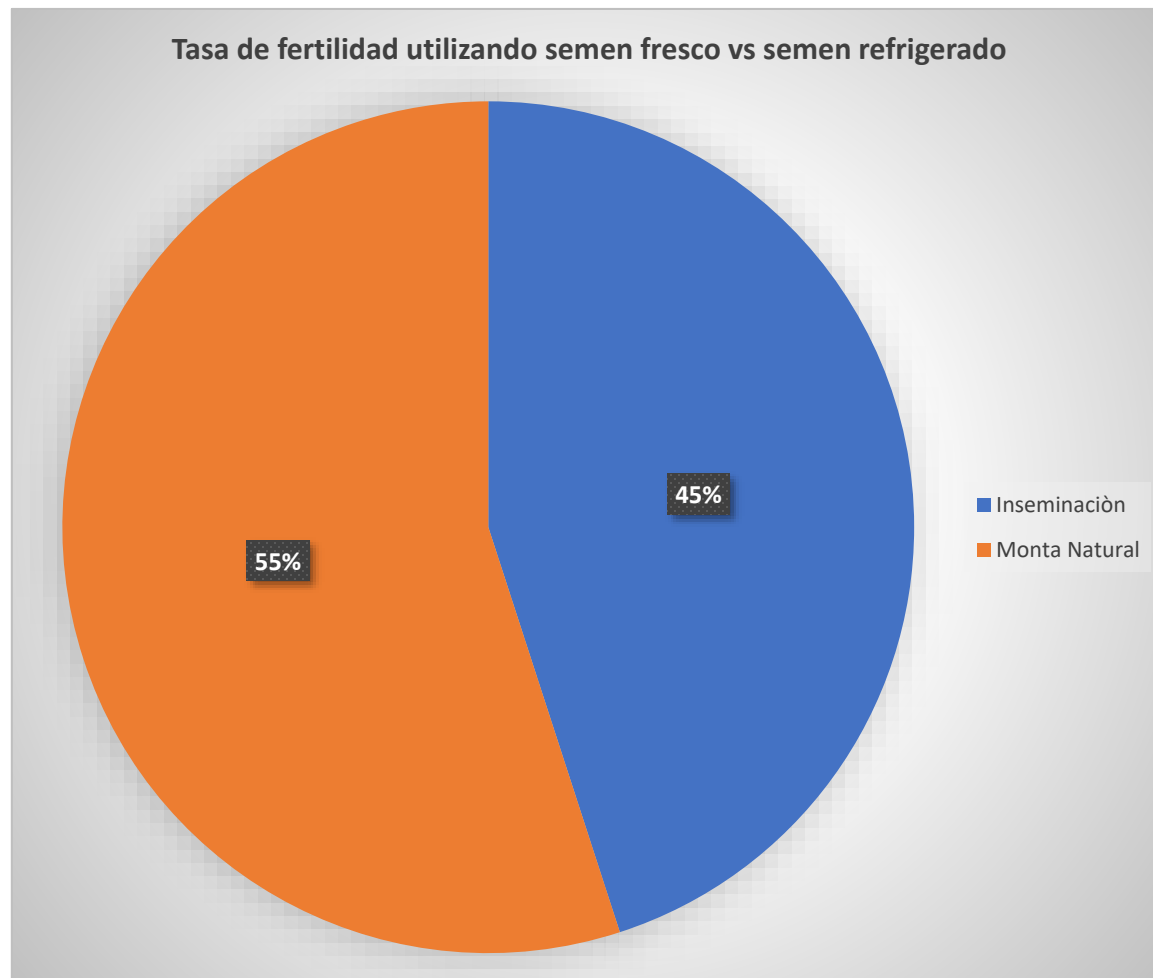


MÉTODOS DE DESCONGELACIÓN



RESULTADOS

Tasa de fertilidad entre semen fresco y semen refrigerado



(Martinez et al, 2006).

TASA DE EFECTIVIDAD



Comparación de métodos de extracción seminal

Método de extracción Seminal	Diluyente	Parámetro (%) / M ± EE				
		Vitalidad	Motilidad	Progresiva	No progresiva	Estáticos
Electroeyaculador	AndroMed®	61,83±9,03 ^a	33,06±9,01 ^a	11,66 ± 4,2 _a	21,43 ± 4,9 _a	66,91 ± 9 _b
	Triladyl®	64,33±6,74 ^a	36,52±8,95 ^a	12,41 ± 4,8 _a	24,11 ± 4,7 _{ab}	63,46 ± 8,9 _b
	Ovixcell®	45,50±15,04 ^b	19,60±5,59 _b	5,62 ± 2,1 _b	14 ± 3,5 _a	80,40 ± 5,5 _c
	Total	59,57±5,26 _B	31,86±5,24 _B	10,74 ± 2,6 _B	21,13 ± 2,8 _A	68,12 ± 5,24 _B
Vagina artificial	AndroMed®	66,87±4,11 ^b	36,58±5,37 ^b	11,42 ± 2,3 _b	25,30 ± 3,4 _{ab}	63,03 ± 5,3 _b
	Triladyl®	80,08±4,25 ^a	63,67±8,71 ^a	23,80 ± 4,7 _a	39,86 ± 4,5 _b	36,33 ± 8,7 _a
	Ovixcell®	66,83±11,64 ^b	48,55±15,55 ^{ab}	15,96 ± 6,3 _{ab}	32,56 ± 9,7 _b	51,46 ± 15,5 _b
	Total	72,96±3,62 _A	51,85±5,88 _A	18,13 ± 2,8 _A	33,70 ± 3,3 _B	48,04 ± 5,87 _A

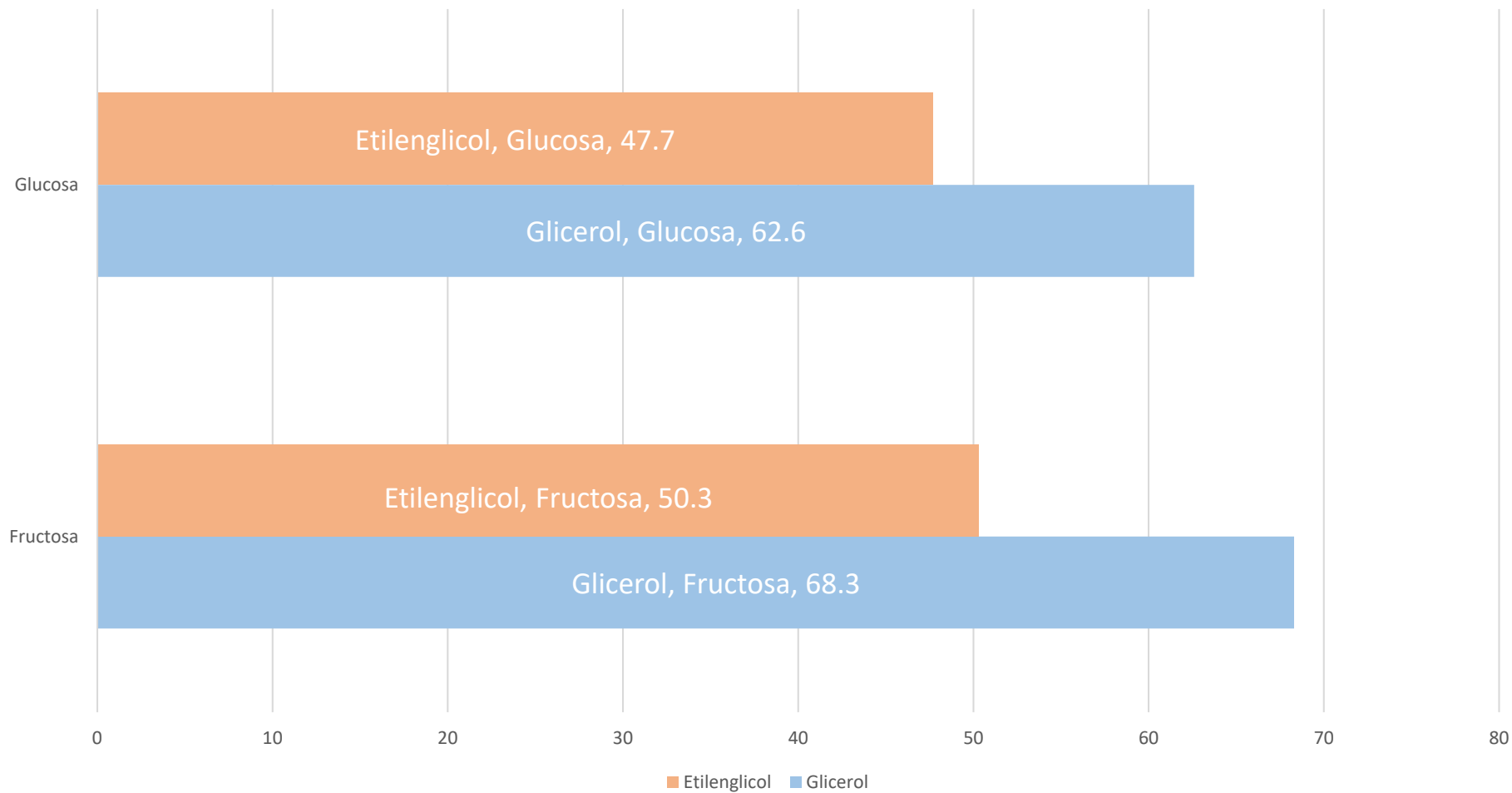
(a, b; A, B): Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (p<0,05)

Fuente: (Hernández et al, 2014)

TASA DE EFECTIVIDAD



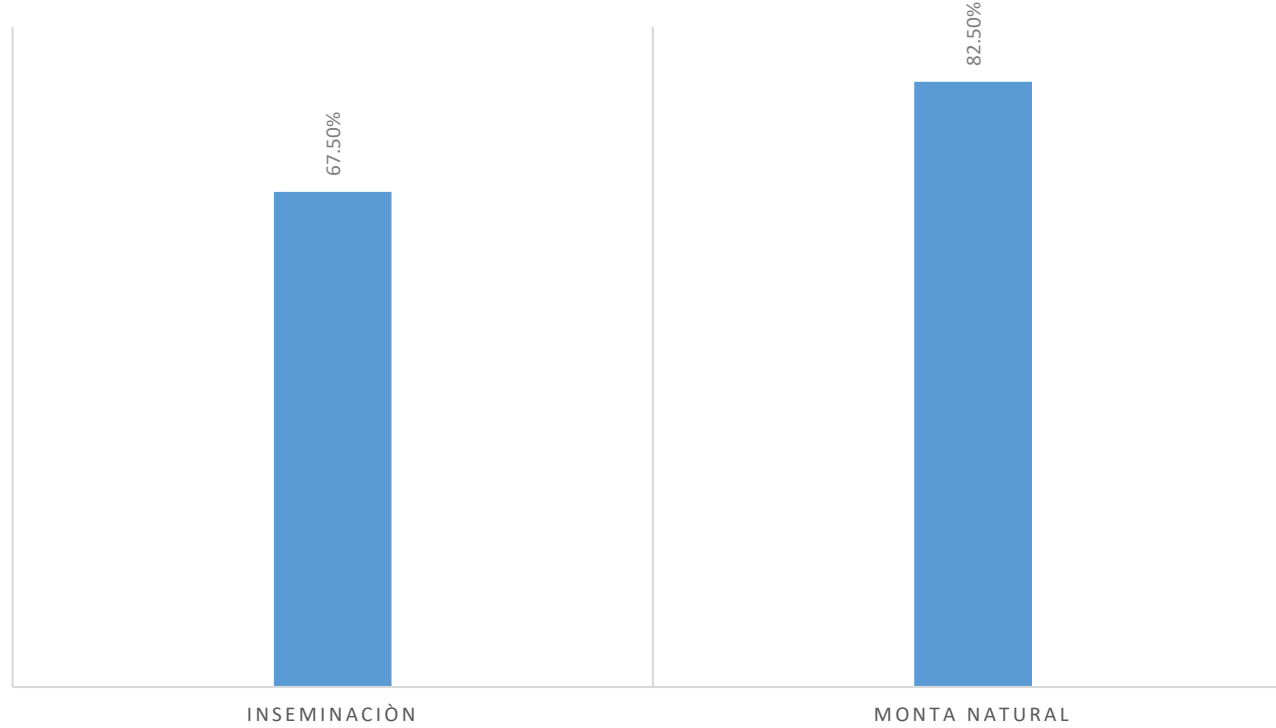
Porcentaje de motilidad progresiva luego del proceso de congelación-descongelación



Fuente: (Ruiz et al, 2015)

TASA DE EFECTIVIDAD

Comparación entre monta natural e inseminación artificial



Fuente Martínez et al, 2006

TASA DE EFECTIVIDAD

Método de extracción seminal	Diluyente	Parámetros medidos post-descongelación % (\pm EE)				
		Motilidad	Progresividad	Daño mitocondrial	Viabilidad	Coefficiente de Variación
Electroeyaculador	Lecitina de soya	15,34 _b (\pm 3,72)	5,00 _b (\pm 1,37)	96,0 _a (\pm 1,84)	0,035 _a (\pm 0,006)	40,30 _a (\pm 18,86)
	Yema de huevo	34,15 _a (\pm 6,28)	12,41 _a (\pm 2,82)	58,57 _b (\pm 10,43)	9,95 _b (\pm 0,006)	109 _a (\pm 14,33)
	LS (Bajo Glicerol)	11,55 _b (\pm 4,38)	3,69 _b (\pm 1,58)	95,65 _a (\pm 0,97)	0,09 _a (\pm 0,04)	75,98 _a (\pm 56,16)
	Total	20,35 _A (\pm 2,98)	7,03 _A (\pm 1,22)	83,40 _A (\pm 4,26)	3,36 _B (\pm 0,82)	75,14 _A (\pm 16,77)
Vagina Artificial	Lecitina de soya	55,07 _a (\pm 4,34)	21,42 _a (\pm 2,15)	84,25 _a (\pm 13,95)	0,09 _a (\pm 0,06)	126,0 _a (\pm 1,00)
	Yema de huevo	52,03 _a (\pm 6,82)	18,91 _a (\pm 3,56)	44,27 _b (\pm 11,11)	0,50 _b (\pm 0,21)	65,22 _a (\pm 13,10)
	LS (Bajo Glicerol)	36,97 _b (\pm 10),35)	11,83 _a (\pm 4,12)	86,37 _a (\pm 4,73)	0,06 _a (\pm 0,04)	52,10 _a (\pm 24,81)
	Total	47,41 _B (\pm 4,28)	16,01 _B (\pm 2,05)	71,63 _A (\pm 4,93)	0,21 _A (\pm 0,94)	81,10 _A (\pm 19,37)

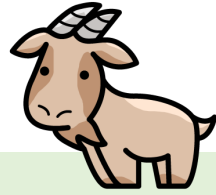
(a, b; A, B): Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

Fuente: (Quintero et al, 2017)

TASA DE EFECTIVIDAD



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA



Los métodos de criopreservación seminal en caprinos han sido importantes para el avance del mejoramiento genético en las diferentes producciones. Sin embargo, han existido factores que dificultan los procedimientos, como son los costos y la complejidad a nivel enzimático del semen caprino

Siendo una biotecnología más aplicada a otros especímenes, como bovinos, la información que se tiene es poca y enfocada a países en donde la producción del caprino se realiza a nivel intensivo

La criopreservación seminal ha tenido mejores resultados en porcentajes de motilidad progresiva del semen al incluir en el diluyente productos libres de proteínas de origen animal, evitando de este modo la interacción negativa entre el plasma seminal y la yema de huevo

Se logró evidenciar que la mejor forma de criopreservar el semen es incluyendo un bajo porcentaje de yema de huevo en el diluyente al semen previamente diluido para separar el plasma de los espermatozoides

En Colombia hay escasez de información que permita dar a conocer los diferentes protocolos de crioconservación del semen del caprino, dado que los estudios realizados en el país son más enfocados a la parte académica que a la productiva

Dados los diferentes porcentajes de los diversos estudios, se puede decir que para lograr mayores tasas de concepción se debe inseminar a hembras con semen refrigerado o congelado en pellets



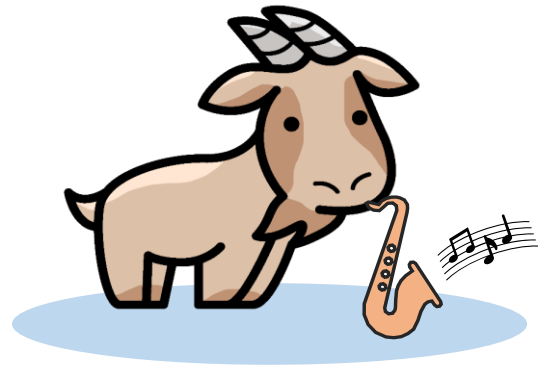
CONCLUSIONES



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

Debe tenerse en cuenta al momento de centrifugar el semen el tiempo y la velocidad, para así evitar la alta mortalidad de los espermatozoides

Deben evaluarse las condiciones reproductivas, alimenticias, corporales y medio ambientales para obtener buenos reproductores y por lo tanto obtener eyaculados de excelente calidad



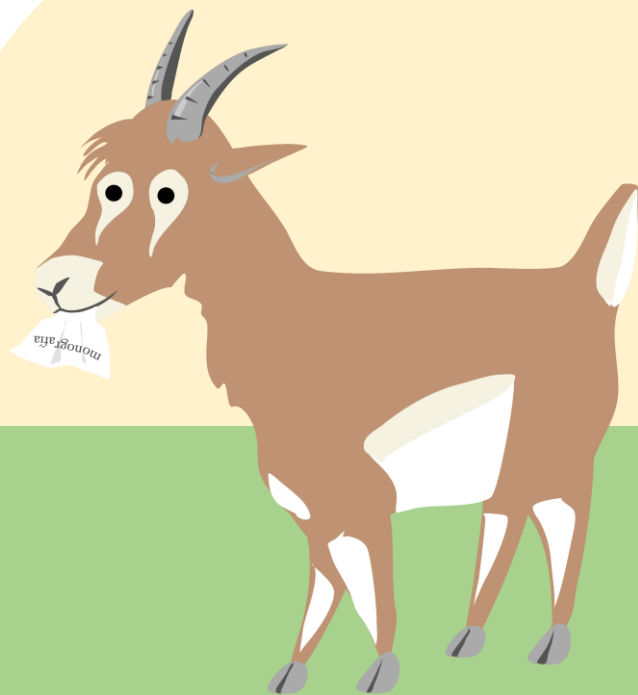
Se debe tomar en consideración el hecho de hacer una sustitución parcial de la yema de huevo como crioprotector externo, utilizándose otras fuentes de proteína de origen animal o en su defecto proteína de origen vegetal

RECOMENDACIONES



UDEC
UNIVERSIDAD DE
CUNDINAMARCA

ACTUALIZACIÓN EN LOS DIFERENTES PROTOCOLOS UTILIZADOS EN LA CRIOCONSERVACIÓN DEL SEMEN CAPRINO (*Capra aegagrus hircus*)



Marian Melo Quiroga

Directora

Karen Patricia Montoya Andrade

Universidad de Cundinamarca

Facultad Ciencias Agropecuarias

Programa de Zootecnia

Fusagasugá / 2019

gracias...

Imágenes tomadas de: commons.wikimedia.org / wellcomecollection.org - Royal Veterinary College / fotografías propias



Vigilada MinEducación

www.ucundinamarca.edu.co