

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO



USO DE YEMA DE HUEVO AL 5% EN UN DILUYENTE A BASE DE LECHE  
DESCREMADA CON SEMEN REFRIGERADO DURANTE LAS PRIMERAS  
48H DE REFRIGERACIÓN EN CAPRINO

Tesis

Que presenta SILVIA MIREYA CHÁVEZ PRIETO

como requisito parcial para obtener el Grado de  
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA

Torreón, Coahuila

Junio 2022

USO DE YEMA DE HUEVO AL 5% EN UN DILUYENTE A BASE DE LECHE DESCREMADA CON SEMEN REFRIGERADO DURANTE LAS PRIMERAS 48H DE REFRIGERACIÓN EN CAPRINO.

### Tesis

Elaborada por Silvia Mireya Chávez Prieto como requisito parcial para obtener el grado de Maestra en Ciencias en Producción Agropecuaria con la supervisión y aprobación del Comité de Asesoría



---

Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán  
Asesor principal



---

Dr. Oscar Ángel García  
Asesor



---

MC. Jaime I. Romero Paredes Rubio  
Asesor



---

Dr. Fernando Arellano Rodríguez  
Asesor



---

Dra. Leticia Romana Gaytán Alemán  
Jefe de Departamento de Postgrado



---

Dr. Marcelino Cabrera De La Fuente  
Subdirector de Postgrado

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna, y así mismo al Posgrado en ciencias en Producción Agropecuaria, por haberme permitido realizar mis estudios de nivel maestría.

Agradezco también, al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo brindado mediante el programa de becas CONACYT.

## **Contenido**

<b>RESUMEN .....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>v</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>Hipótesis .....</b>	<b>2</b>
<b>Objetivo general.....</b>	<b>2</b>
<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>2</b>
<b>II. REVISION DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Estacionalidad reproductiva .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2 Uso de las biotecnologías reproductivas .....</b>	<b>5</b>
<b>2.3 Estrategias; Uso de vagina artificial y Electro eyaculación.....</b>	<b>5</b>
<b>2.4 Uso del semen fresco y refrigerado.....</b>	<b>6</b>
<b>2.5 Ventajas y desventajas.....</b>	<b>7</b>
<b>2.6 Uso de la yema de huevo .....</b>	<b>7</b>
<b>2.7 Leche descremada .....</b>	<b>8</b>
<b>2.8 Ventajas y desventajas de los diluyentes de origen animal .....</b>	<b>8</b>
<b>2.9 Enzimas bulbouretrales que afectan el plasma seminal .....</b>	<b>9</b>
<b>III. MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 General.....</b>	<b>10</b>
<b>3.2 Localización .....</b>	<b>10</b>
<b>3.3 Grupos y tratamientos .....</b>	<b>10</b>
<b>3.4 Obtención y manejo del semen .....</b>	<b>11</b>
<b>3.5 Variables evaluadas .....</b>	<b>12</b>
<b>3.6 Análisis estadísticos .....</b>	<b>12</b>
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>13</b>
<b>4.1. Parámetros seminales .....</b>	<b>13</b>
<b>Tabla 1. Medias (<math>\pm</math>EEM) para la calidad del semen refrigerado .....</b>	<b>14</b>
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>15</b>
<b>VI. CONCLUSIÓN .....</b>	<b>17</b>
<b>VII. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>18</b>

## RESUMEN

USO DE YEMA DE HUEVO AL 5% EN UN DILUYENTE A BASE DE LECHE DESCREMADA CON SEMEN REFRIGERADO DURANTE LAS PRIMERAS 48H DE REFRIGERACIÓN EN CAPRINO.

Por: Silvia Mireya Chávez Prieto

Para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria  
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna

Director de tesis: Dra. Leticia Gaytán Alemán

### Resumen

La presencia de animales caprinos en zonas rurales de la Comarca Lagunera arroja índices importantes en la economía de los pequeños productores, en tal interés, es importante mantener una producción a pesar de la estacionalidad reproductiva que es característica en los caprinos. A continuación se presenta la evaluación de semen refrigerado con leche descremada y yema de huevo, durante 48 horas. En dicho experimento se trabajó con 4 machos cabríos adultos de la raza Granadino (n=4) de 2-4 años de edad, con la aplicación de dos tratamientos: Primer tratamiento (LS) diluyente a base extracto de leche descremada UHT (ultrapasteurizada) y 0.25 gr de estreptomicina. Segundo tratamiento (YHG) diluyente a base extracto de yema de huevo, con 75% de agua destilada, 5% de yema de huevo de gallina, 20 % de leche descremada y 0.25 gr de estreptomicina. Se realizó evaluación al semen fresco sin tratamientos y posteriormente a las 6, 12, 24, 36 y 48 horas respectivamente. Las variables a evaluar: Motilidad masal (MM; %), Motilidad individual (MI; %), Viabilidad espermática (VE) y La integridad de la membrana (HOS; %).

*Palabras clave: Espermatozoides, Caprinos, Diluyetes, Motilidad*

## ABSTRACT

Use of 5% egg yolk in a skim milk-based diluent with refrigerated semen during the first 48 hours of refrigeration in goats.

By: Silvia Mireya Chávez Prieto

To obtain the degree of “Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria”

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna

Thesis director: Dra. Leticia Gaytán Alemán

The presence of goat animals in rural areas of the lagoon region yields important indices in terms of production for small producers, in such interest, it is important to maintain production outside of seasonality. Below is the evaluation of refrigerated semen with semi-skimmed milk and egg yolk, for 48 hours. We worked with 4 adult male goats of the Granadino breed (n=4, 2-4 years old, with the application of two treatments: First treatment (LS) diluent based on UHT skimmed milk extract (ultrapasteurized) and 0.25 gr of streptomycin Second treatment (YHG) diluent based on egg yolk extract based on 75% distilled water, 5% chicken egg yolk, 20% skimmed milk and 0.25 g of streptomycin. Fresh semen was evaluated without treatments and letter at 6, 12, 24, 36 and 48 hours, respectively. The variables to be evaluated: Mass motility (MM; %), Individual motility (MI; %), Sperm Viability (VE) and Membrane integrity (HOS; %).

**Key word: Sperm, goats, Diluents, motility**

## I. INTRODUCCIÓN

Los caprinos se encuentran entre los mamíferos que tienen presencia a nivel mundial, esto se atribuye a que representan una alternativa para la agricultura sostenible al presentar características de alimentación poco exigentes y en cambio retribuyen con producción láctea y cárnica (Peris *et al.*, 2020). En México la producción pecuaria caprina tiene la finalidad de obtener animales en pie, carne y leche, en cuanto a la región Laguna y el Bajío se ha desarrollado la industria caprina con la finalidad de ser destinada a la producción de lácteos y confitería principalmente (SADER, 2017).

Desafortunadamente en esta zona la etapa de estacionalidad reproductiva de los machos cabríos presenta los niveles más bajos durante los primeros cuatro meses del año (Carrillo *et al.*, 2010; Valle-Moysen *et al.*, 2015), esta característica conocida como estacionalidad reproductiva, se ve reflejada también en la producción de productos y subproductos de la caprinocultura, al mantener un ritmo de producción estacional, se afecta a la cadena comercial; el hecho de que la producción varíe por temporadas, ocasiona que al momento de tener la mayor producción, los precios del mercado sean demasiado bajos, dañando directamente la economía del productor. Además, el resto del año los consumidores solo tienen acceso al producto mediante cadenas comerciales que realizan procesos de conservación, lo cual compromete la calidad del mismo (Chemineau *et al.*, 2007).

En busca de contrarrestar estas situaciones se ha llegado a la adopción de diferentes aplicaciones tecnológicas que se establecen como la ruta a seguir para mejorar el rendimiento de los sistemas que manejan los caprinocultores, contribuyendo al crecimiento de los mismos (Vázquez *et al.*, 2020). Por fortuna, la biotecnología reproductiva se mantiene a la vanguardia. Para ello la inseminación artificial y la conservación de semen frío es una técnica recurrente, ya que el uso de semen enfriado es relativamente común en caprinos (Sadeghi *et al.*, 2020).

Para realizar la inseminación en cabras, es posible usar dosis refrigeradas a 4°C, se deben agregar ingredientes que protejan a los espermias, algunos de ellos como la yema de huevo y la leche desnatada, que son diluyentes usados para evitar daños por frío (Mocé *et al.*, 2020).

Se menciona que el uso de la yema de huevo fue informada por primera vez en 1932 (Salamon y Maxwell, 2000). Dicha práctica se mantiene en la actualidad ya que busca mantener los parámetros de buena calidad de los espermias, esto pensando en las distancias desde el lugar de la colecta seminal hasta el lugar de la inseminación artificial (Gürler *et al.*, 2016).

Generalmente la inseminación artificial con semen refrigerado se realiza en las primeras 24 horas de almacenamiento (Sadeghi *et al.*, 2020). Tomando en cuenta que la estacionalidad en machos cabrios repercute en una producción menor de espermias (Flores *et al.*, 2020). Es importante mantener la motilidad de los espermatozoides durante el transporte desde el lugar de la eyaculación o inseminación hasta el lugar de la fertilización (Gürler *et al.*, 2016), es por ello que se sigue analizando el uso de diluyentes y sus proporciones.

### **Hipótesis**

El uso de diluyentes a base de leche descremada y/o yema de huevo será capaz de mantener la calidad del semen refrigerado por más tiempo en los caprinos.

### **Objetivo general**

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del uso de yema de huevo o leche descremada sobre la calidad seminal de machos cabrios durante el refrigerado de semen.

### **Objetivos específicos**

- Determinar la motilidad individual y masal a las 0, 6, 12, 24, 36 y 48h después de la dilución en machos cabrios.
- Determinar la viabilidad espermática a las 0, 6, 12, 24, 36 y 48h después de la dilución en machos cabrios.

- Determinar la integridad de la membrana a las 0, 6, 12, 24, 36 y 48h después de la dilución en machos cabríos.

## II. REVISION DE LITERATURA

### 2.1. Estacionalidad reproductiva

Una de las características que marca las pautas de la reproducción caprina que se desarrollan en las zonas subtropicales y templadas es la estacionalidad reproductiva (Karsch *et al.*, 1984). Varpe, (2017) describe como: "la ocurrencia de ciertos eventos bióticos y abióticos obvios o grupos de eventos dentro de un límite definido del período o períodos del calendario solar en el año". En otras palabras; las horas luz que el animal recibe y que le permiten regular su ciclo reproductivo a manera de optimizar los recursos que las estaciones del año aportarían para su alimentación y desarrollo, si estos llevaran su vida a campo abierto y sin la influencia de las prácticas de cría que impone el ser humano.

Existen varios factores que se han de tomar en cuenta a la hora de analizar el contexto en el que los caprinos tienden a reproducirse, las condiciones del ambiente; como la humedad, la temperatura, presencia y/o ausencia pluvial y la exposición a radiaciones solares, así como su alimentación e inclusive el rango social de la manada, son algunos de ellos (Balara *et al.*, 2019).

A nivel fisiológico el fotoperiodo desencadena diversas reacciones; se presenta una negativa en la retroalimentación de testosterona estradiol, lo cual se incrementa conforme pasan los días largos, estos cambios provocan que la hormona leutenizante secrete en menor cantidad, una vez que este proceso se concreta, solo queda ver la llegada de la etapa de anestro y el reposo en la actividad sexual (Karsch *et al.*, 1984).

La estacionalidad repercute no solo a nivel biológico, ya que además mantiene una estrecha relación con la economía de los productores (Varpe, 2017). En coacciones se vuelve difícil el salir adelante de las condiciones que este rasgo trae consigo, es por ello que se ha puesto énfasis en los estudios sobre el tema y paulatinamente se han logrado mejorías mediante el uso de nuevos avances en las tecnologías enfocadas a la reproducción (Luo *et al.*, 2019).

## **2.2 Uso de las biotecnologías reproductivas**

Con la finalidad de mejorar los sistemas de producción, se ha buscado integrar tecnologías de reproducción artificial que permiten un manejo controlado y eficiente de los procesos de reproducción del ganado, tomado en cuenta la finalidad del mismo; ya sea para la producción láctea o cárnica. Asegurando un avance genético y permitiendo un mayor número de crías en diferentes temporadas (Simões, 2021).

La inseminación artificial (IA) en cuanto mejora genética se refiere, es la que presenta mayor relevancia en cabras productoras de leche. En la actualidad es posible observar su uso en medios de producción extensivos (Luo *et al.*, 2019). En especies que presentan estacionalidad reproductiva se puede ver un impacto importante en la eficacia que pueden presentar las nuevas tecnologías de reproducción artificial (Souza-Fabjan 2021)

## **2.3 Estrategias; Uso de vagina artificial y Electro eyaculación**

En busca de reemplazar las técnicas de la vagina artificial, se ha recurrido a la técnica del electro eyaculador, volviéndose inclusive la favorita para reemplazar las técnicas de vagina artificial, uno de los argumentos es el hecho de que esta última requiere de realizar un entrenamiento previo en machos, por lo cual sería más tardada. En contraparte se han analizado las desventajas de la Electro eyaculación y se ha comprobado que presenta consecuencias dolorosas que hacen al animal entrar en estrés; esto representado por la presencia de un aumento cardiaco y respiratorio, así como cambios a nivel hematológico y bioquímico (Abril-Sánchez *et al.*, 2019, Ungerfeld *et al.*, 2021). En estudios posteriores, se encontraron indicadores de daños musculares y reacciones de dolor al utilizar la EE en machos, relacionándose incluso con niveles de baja calidad seminal (Ungerfeld *et al.*, 2021).

## 2.4 Uso del semen fresco y refrigerado

En la conservación de espermatozoides se producen cambios bioquímicos y de origen estructural lo cual puede desencadenar una menor integridad funcional, en tal caso estos espermatozoides pueden presentar mortandad y la incapacidad de mantenerse unidos al óvulo (Zhao *et al.*, 2021). Al llevar el semen fresco a un descenso de temperatura, se observan cambios en la fluidez de la membrana plasmática de las células. Llegando al punto de detener el metabolismo, presentándose un estado de inactividad celular. Este mecanismo es el que permite extender el tiempo de vida de los espermatozoides que han sido enfriados (Althouse, 2008). Los métodos que permiten almacenar el semen mediante enfriamiento y congelación son los principalmente empleados para la transferencia de espermatozoides. (Bustanii y Baiee, 2017). Es importante mencionar que recurrir al almacenamiento mediante el uso de semen congelado mantiene una baja capacidad en cuanto a la fertilidad (Jiménez-Rabadán *et al.*, 2016)

Como se ha mencionado, una de las estrategias que se pueden utilizar para la reproducción en especies de este tipo es el uso de semen fresco, utilizándolo para llevar a cabo la inseminación de manera artificial (Jiménez-Rabadán *et al.*, 2016), la idea es estabilizar la temperatura entre los 4-5 °C buscando mantener condiciones óptimas durante las 72 horas posteriores a su obtención (Bustanii y Baiee 2017) y es que como mínimo se debe mantener la calidad de semen por 24 horas, lo que en gran medida permitiría el transporte del mismo hasta los lugares en que se pretenda realizar la inseminación artificial (IA), este acto permitiría realizar un mayor número de inseminaciones en el menor tiempo posible (Benmoula *et al.*, 2017). El hecho de hacer énfasis en este tipo de reproducción asistida se apega a que la IA presenta ciertas ventajas, como el mejoramiento y preservación de la genética, mientras que también permite tener un mayor control sanitario, de la misma manera presenta ventajas económicas para el productor (Cseh *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015). Para lograr un proceso con eficacia es necesario poner especial atención en la primera etapa del proceso; la obtención de semen. Para ello, dos de los métodos favoritos son: el método de electro eyaculación y el método de vagina artificial (Jiménez-Rabadán

*et al.*, 2016). Si bien Milovanov fue quien diseñara la vagina artificial desde 1938, los modelos actuales conservan varias características de las características iniciales (Ombelet y Robays, 2015).

### **2.5 Ventajas y desventajas**

La inseminación artificial que se lleva a cabo con semen enfriado presenta mayor relevancia, esto se debe a que presenta costos más bajos que los requeridos para la congelación (Sadeghi *et al.*, 2020), al requerir una cantidad menor de dosis, el gasto en insumos es menor y hace que el proceso para la IA sea llevado a cabo de forma sencilla (Bustani y Baiee, 2021). Sin embargo, el semen enfriado presenta una vida útil corta, lo cual lo pone en desventaja (Sadeghi *et al.*, 2020) algunos autores mencionan que es posible observar un descenso drástico en la fertilidad a partir de las 12 horas posteriores a la refrigeración (Mocé *et al.*, 2020). Investigaciones realizadas desde hace años mencionan que luego de diluir el semen la recomendación es usarlo como máximo dentro de las 10 horas posteriores a su recolección, puesto que es posible observar una línea de descenso en cuanto a fertilidad; Por cada día que pasa almacenado la pérdida podría oscilar entre el 10 y 35%, de manera que los espermatozoides presentan una menor motilidad así como una disminución en la integración morfológica (Salamon y Maxwell, 2000; Cseh *et al.*, 2012).

### **2.6 Uso de la yema de huevo**

Los medios de dilución del semen mantienen el propósito de disminuir los daños a los parámetros de calidad seminal como la viabilidad espermática, la motilidad, y la morfología (Gravance *et al.*, 1997; Küçük *et al.*, 2014). En estos, los azúcares funcionan como agentes crioprotectores y proporcionan un medio osmótico adecuado. En el semen la energía se obtiene a partir de la fructosa, mientras que en la yema de huevo es la glucosa la que se encarga de dicha función (Raheja *et al.*, 2018). Además, la yema de huevo contiene lipoproteínas de

densidad baja, lo cual podría ser un impedimento para que proteínas contenidas en el plasma seminal se unan, impidiendo la expulsión de lípidos.

Comúnmente los diluyentes de semen para la raza caprina son utilizados en forma combinada, usando un diluyente capaz de penetrar y otro que no. En los crioprotectores que no penetran se encuentran la leche semidescremada y la yema de huevo y en efecto son estos dos los favoritos para el tratamiento de semen caprino (Küçük *et al.*, 2014).

### **2.7 Leche descremada**

La lactosa no es capaz de penetrar en la membrana plasmática, de manera que se crea una capa por medio de la presión osmótica, lo que impide que el descenso de temperaturas pueda afectar inclusive si se llega al punto de congelación. Los azúcares mantienen una relación con los fosfolípidos que se encuentran en la membrana plasmática y prolongan la vida de los espermatozoides (Aisen *et al.*, 2002).

El uso de leche entera ha sido empleada en la conservación desde hace muchos años, preferentemente la leche de vaca. Se presume actúa como barrera antes los cambios, protegiendo a los espermias de los cambios de temperatura y pH. En principio se utilizaba la leche bronca a la cual realizaban procesos previos de calentamiento y ebullición para neutralizar sustancias como la lacteína. A la par se recomienda la adición de antibióticos como la estreptomicina, evitando con ello el desarrollo de agentes microbianos. Luego de varios estudios se encontró que la utilización de leche semidescremada es igual de efectiva por lo que se convirtió en la que comúnmente se utiliza (Salamon y Maxwell, 2000).

### **2.8 Ventajas y desventajas de los diluyentes de origen animal**

En el terreno de la conservación de semen el principal objetivo es la prolongación de la vida útil de los espermias, sin embargo, al ser de origen animal, estas fuentes son aptos para el desarrollo de agentes patógenos como las bacterias,

lo que en definitiva pone en jaque el objetivo principal de estas prácticas. (Althouse, 2008).

Algunos aspectos negativos en el uso de la yema de huevo son las posibles diferencias que existen en los compuestos de este. Además de posibles enfermedades que pueda transferir, incluyendo infecciones bacterianas (Bustani y Baiee 2021). Es sabido que principalmente la composición del plasma seminal del macho cabrío es lo que lleva al descenso de la viabilidad de los espermatozoides. Presentándose una toxicidad entre la yema de huevo que contiene una enzima coagulante (EYCE) y la secreción de las glándulas bulbouretrales, provocando una reacción espermicida al coagular e hidrolizar los principales protectores que contiene la yema de huevo (Cseh *et al.*, 2012). Sin embargo, no es solo el contenido de los agentes diluyentes lo que podría infectar con bacterias el semen, algunas prácticas en la recolección y almacenamiento podrían causar una contaminación, es por ello que se recomienda tener especial cuidado en la obtención y manejo de las dosis. Existen manuales de cuidado a tomar en cuenta antes de realizar este tipo de trabajos. Una vez que una muestra ha sido contaminada difícilmente será útil. Las bacterias son capaces de adaptarse a cambios bruscos de temperatura gracias a su funcionamiento intracelular, inclusive si las condiciones logran matar a los espermatozoides, las bacterias seguirían latentes (Althouse, 2008).

### **2.9 Enzimas bulbouretrales que afectan el plasma seminal**

Las glándulas sexuales accesorias conocidas como vesícula seminal, próstata y glándulas bulbouretrales contribuyen con la mayor parte del volumen de la eyaculación y la secreción de vesícula seminal constituye la mayor parte del plasma seminal en los eyaculados de la mayoría de los rumiantes (Juyena y Stelletta, 2012).

En las glándulas bulbouretrales del macho cabrío se produce la fosfolipasa, mientras que la yema de huevo contiene lecitina, la interacción entre estas dos produce la lisolecitina; cuando esta enzima entra en contacto con los

espermatozoides es capaz de anular su motilidad. Cabe mencionar que este efecto tóxico solo se presenta en caprinos (Barbas *et al.*, 2018).

### **III. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1 General**

Todos los métodos y manejo de las unidades experimentales utilizadas en este estudio fueron en estricto acuerdo con los lineamientos para el uso ético, cuidado y bienestar de animales en investigación a nivel internacional (FASS, 2010) y nivel nacional (NAM, 2002) con número de referencia de aprobación institucional UAAAN-UL/ 38111-425501002-2431

#### **3.2 Localización**

El experimento se realizó en el norte de México, en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (26° de Latitud Norte y 104° de longitud Oeste), durante la época reproductiva. Se encuentra localizado en la región semi-desértica del norte de México a una altura de 1170 msnm, entre los paralelos 28° 11' y 28° 11' de latitud norte y los meridianos 105° 28' y 105° 28' de longitud oeste (INEGI, 2016). Cuenta con una precipitación media anual de 230 mm y con temperatura promedio de 24 °C, máxima de 41 °C en mayo y junio, y mínima de -1 °C en diciembre y enero (CONAGUA, 2015).

#### **3.3 Grupos y tratamientos**

Para evaluar el efecto del tipo de diluyente, se utilizaron machos cabríos adultos de la raza Granadino (n=4) de 2-4 años de edad, homogenizados en cuanto a peso y condición corporal (P.V; 70±0.40 Kg y CC; 4.0±0.30 unidades), con fertilidad probada. De los cuales se obtuvieron 4 muestras de semen mediante una vagina artificial adecuada para la especie. Cada muestra se dividió en dos, y cada una de ellas se sujetó un tratamiento: Primer tratamiento (LS) diluyente a

base extracto de leche descremada UHT (ultrapasteurizada) y 0.25 gr de estreptomicina; el semen del segundo tratamiento (YHG) diluyente a base extracto de yema de huevo, más 75% agua destilada, 5% de yema de huevo de gallina, 20 % de leche descremada y 0.25 gr de estreptomicina. Se determinó la calidad seminal al momento de la dilución y al refrigerado. Durante el periodo experimental, los machos se alimentaron dos veces al día (08:00 y 18:00 h), a libre acceso con una dieta a base de heno de alfalfa (16% PC, 1.95 EM) y 200 g de concentrado comercial (21% PC y 1.7 Mcal EM) en base a sus requerimientos nutricionales (NRC, 2007). Los machos tuvieron libre acceso a agua limpia y sales minerales.

#### **3.4 Obtención y manejo del semen**

Durante la mañana (08:00 – 10:00 hrs) la colecta fue cada 8 días por dos días consecutivos, siempre por el mismo personal técnico para evitar variabilidad. Los machos fueron inducidos mediante el olfateo y retiro en dos ocasiones a una hembra en celo. Al momento de la monta se colocó la vagina artificial estándar para ovinos y caprinos, la cual fue precalentada con agua a 40 °C. Fueron un total de 11 eyaculados, mismos que se colocaron baño maría a 37°C, en los siguientes 10 minutos para hacer el análisis macroscópico y microscópico, posteriormente se hizo la dilución.

La dilución que se hizo fue volumen 1:1, dejando reposar por 5 min, después de pasar los cinco minutos se adicionó el restante del diluyente (respecto a la operación antes mencionada). Para llevarlo a refrigerador, comenzando así una curva de enfriamiento por 4 horas, la temperatura inicial fue de 37 °C hasta descender a los 5 °C y posteriormente mantenerlo en refrigeración.

Todas las evaluaciones de los parámetros macroscópicos y microscópicos se hicieron en semen fresco inmediatamente después de su extracción (SF semen fresco), hora cero que es (cuando alcanzaba los 5°C), posteriormente un análisis microscópico, a la hora 0, 6,12, 24, 36 y 48 en refrigeración.

### **3.5 Variables evaluadas**

Motilidad masal (MM; %), se evaluó con el uso de una platina a 37°C, colocando una gota de semen concentrado (20 µL) sobre un portaobjetos en un microscopio con un objetivo de 10X y de acuerdo con el movimiento observado se asignó una escala de 1 a 5 (Mahsud *et al.*, 2013).

Motilidad individual (MI; %), se determinó en base a la proporción de espermatozoides progresivamente móviles, se colocó una gota (20 µL) sobre un portaobjetos en un microscopio con un objetivo de 10X y fue cubierta con una laminilla cubreobjetos; posteriormente se observó al microscopio con objetivo de 40X.

Viabilidad Espermatica (VE; %), se evaluó mediante el uso de técnica de tinción con eosina-nicrosina (Kafi *et al.*, 2004), se observaron al menos 200 espermatozoides por muestra mediante microscopio óptico, utilizando el objetivo 100X y se calculó el porcentaje de células vivas (sin teñir) y de células muertas (teñidas de color rosa). Todas las evaluaciones fueron realizadas siempre por el mismo evaluador calificado.

Integridad de la membrana (HOS; %): La integridad de la membrana se evaluó mediante la prueba HOST que consistió en tomar un volumen de 20 µL de semen y se añadió 1 ml de solución hiposmótica (100 mOsm/l) compuesta por fructuosa y citrato de sodio, se incubó a 37° C por 60 min. Después de la incubación se tomó una gota de la muestra y fue evaluado a través del microscopio (100X). Se contaron 200 células y se determinó el número de espermatozoides que reaccionaron a la prueba.

### **3.6 Análisis estadísticos**

Los datos de los parámetros seminales fueron comparados por medio de una prueba de t- student. Todos los datos se analizaron utilizando el paquete estadístico SAS V9.1 (SAS Institute Inc. Cary. NC. USA, V9.1). Las diferencias fueron consideradas significativas a un valor de  $P \leq 0.05$ .

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Parámetros seminales

En la tabla 1, se muestra los resultados de los diferentes parámetros evaluados para determinar la calidad de semen diluído con yema de huevo y leche descremada (YHG y LS). Todos los parámetros espermáticos (MM, MI, VE y HOS) fueron iguales entre los dos grupos comparados en cada tiempo ( $P>0.05$ ). Sin embargo, a través del tiempo cada grupo se comportó de manera diferente en cada parámetro. Referente a VE el grupo YHG prolongó su efecto hasta las 24h mientras que el grupo LS solo fue solamente hasta las 12h ( $P<0.05$ ).

**Tabla 1. Medias ( $\pm$ EEM) para la calidad del semen refrigerado hasta 48 hrs de machos cabríos con yema de huevo (YHG) y leche descremada (LS).**

a,b, = diferencia entre columnas ( grupo) difieren estadísticamente ( $P < 0.05$ ); A,B,C,B = diferencia entre filas difieren estadísticamente a través del tiempo ( $P < 0.05$ )

PARÁMETROS	Semen fresco	Tiempo de refrigeración (horas)					
		0	6	12	24	36	48
<b>MM (0-5)</b>							
LS	5 <sup>aA</sup>	3.7 <sup>Ab</sup>	3.4 <sup>aB</sup>	2.8 <sup>aB</sup>	1.9 <sup>aBC</sup>	1.5 <sup>aC</sup>	0.30 <sup>aD</sup>
YHG	5 <sup>aA</sup>	3.7 <sup>Ab</sup>	3.5 <sup>aB</sup>	2.7 <sup>aB*</sup>	2.2 <sup>aC</sup>	1.58 <sup>aC</sup>	0.41 <sup>aD</sup>
<b>VE (0-100)</b>							
LS	81 <sup>aA</sup>	74 <sup>aB</sup>	72 <sup>aB</sup>	58 <sup>aBC</sup>	46 <sup>aC</sup>	24 <sup>aC</sup>	7 <sup>aD</sup>
YHG	80 <sup>aA</sup>	75 <sup>aB</sup>	74 <sup>aB</sup>	52.5 <sup>aB</sup>	44.2 <sup>aBC</sup>	29.2 <sup>aC</sup>	10 <sup>aD</sup>
<b>MI (0-100)</b>							
LS	79 <sup>aA</sup>	68 <sup>aB</sup>	60 <sup>aB</sup>	52 <sup>aBC</sup>	42 <sup>aC</sup>	39 <sup>aC</sup>	7 <sup>aD</sup>
YHG	76 <sup>aA</sup>	63.3 <sup>aB</sup>	62 <sup>aB</sup>	48.3 <sup>aB</sup>	41.7 <sup>aBC</sup>	31.7 <sup>aC</sup>	0.4 <sup>aD</sup>
<b>HOS</b>							
LS	75.2 <sup>aA</sup>	49 <sup>aB</sup>	44.2 <sup>aB</sup>	41 <sup>aB</sup>	40.4 <sup>aB</sup>	27 <sup>aC</sup>	24 <sup>aC</sup>
YHG	74.2 <sup>aA</sup>	52.2 <sup>aAB</sup>	42.2 <sup>aB</sup>	42 <sup>aB</sup>	41.7 <sup>aB</sup>	39 <sup>aC</sup>	21.3 <sup>aD</sup>

## V. DISCUSIÓN

En los datos de nuestra investigación no se encontró diferencia entre el uso de yema de huevo (YHG) comparado con la leche descremada (LS). En este sentido, la leche descremada ha sido utilizada en los diluyentes de semen en caprinos. Esto dentro a las acciones protectoras que tiene la leche descremada se cita su acción proteica que actúa como buffer previniendo cambios de pH (Salomon y Maxwell, 2000), y protege del shock térmico debido a la caseína que contiene, mientras que la yema de huevo evita este problema por las lipoproteínas contenidas en el huevo (Cole y Cupps, 1997).

Estos datos parecen ser interesantes debido a que utilizar la leche descremada puede ser una alternativa para semen refrigerado. En este sentido, se ha observado que durante el manejo del semen refrigerado existe un efecto negativo sobre la viabilidad del espermatozoide que surge de la interacción del plasma seminal frente a diluyentes que contienen yema de huevo o leche. En efecto, se ha podido determinar daños en la capa lipídica y mitocondrias en rangos de temperatura de 15-5°C (Watson, 1995)

La viabilidad se reduce debido a dos enzimas secretadas por la glándula bulbouretral que reaccionan con la yema de huevo o con la leche presentes en los diluyentes. Estas enzimas poseen actividad hidrolítica sobre la lecitina y triglicéridos presentes en la yema de huevo y en la leche, cuya hidrólisis resulta en una alta toxicidad para los espermatozoides. Una alternativa descrita por Corteel (1974) en caprinos para diluyentes que contienen leche, fue quitar el plasma seminal luego de extraído el semen, mediante la centrifugación con una solución de lavado fisiológica. Sin embargo, en nuestra investigación no fue necesario realizar este lavado y tuvimos resultados similares entre los dos diluyentes. Ya que el agregado de yema de huevo o leche es utilizado debido a un efecto protector de los espermatozoides durante el enfriado hasta 5°C.

Sin embargo, si observamos un efecto al compararlos en cada uno de los diferentes tiempos. Y esto ha identificado que los cambios de temperatura al cual

sea puesto el espermatozoide pueden provocar daños en la célula, los cuales pueden influir en la generación de shock por frio (Watson, 1995).

Pudimos observar menores cambios a través del tiempo en la viabilidad del grupo de YHG esto probablemente por un menor daño generado al espermatozoide. La yema de huevo tiene un rol en la protección de la célula mediante la integridad de la membrana de las mitocondrias (Salomon y Maxwell, 1995).

## **VI. CONCLUSIÓN**

Los datos proporcionados por esta investigación sugieren que la utilización de la leche descremada puede tener aplicaciones importantes como diluyente de semen caprino. Mostrando buenos parámetros durante las primeras 12h de su utilización.

## VII. LITERATURA CITADA

Abril-Sánchez, S., Freitas-de-Melo, A., Giriboni, J., Santiago-Moreno, J., Ungerfeld, R. (2019). Sperm collection by electroejaculation in small ruminants: A review on welfare problems and alternative techniques. *Animal Reproduction Science*, 205: 1-9.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432019300648>

Aisen, E.G., Medina, V.H., Venturino, A. (2002). Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen frozen in different trehalose concentrations. *Theriogenology*. 57(7): 1801-1808.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X02006532>

Althouse, G.C. (2008). Procedimientos sanitarios para la producción de semen extendido. *Reproducción en animales domésticos*. 43: 374-378.  
[www.doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01187.x](http://www.doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01187.x)

Benmoula, A., Badi, A., El Fadili, EL Khalil, K.E., Allai, L., El Hilali, A., El Amiri, B. (2017). Effect of season on scrotal circumference, semen characteristics, seminal plasma composition and spermatozoa motility during liquid storage in INRA180 rams. *Animal Reproduction Science*. 180: 17-22.  
[www.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.02.008](http://www.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2017.02.008).

Balaro, MFA., de Mello, S.G.V., da Silva Santos, A., Cavalcanti, L.M., Almosny, N.R.P., Fonseca, J.F., Brandão, F.Z. (2019). Estacionalidad reproductiva en cabras Saanen mantenidas en condiciones tropicales. *Sanidad y producción animal tropical*. 51(2):345–353. [www.doi.org/10.1007/s11250-018-1696-2](http://www.doi.org/10.1007/s11250-018-1696-2).

Barbas, J.P., Mascarenhas, R.D. (2009). Criopreservación de espermatozoides de animales domésticos. *Cell and Tissue Banking*. 10(1):49–62.  
[www.doi.org/10.1007/s10561-008-9081-4](http://www.doi.org/10.1007/s10561-008-9081-4).

Barbas, J.P., Leahy, T., Horta, A.E., García-Herreros, M. (2018). Sperm kinematics and subpopulational responses during the cryopreservation process

in caprine ejaculates. *Cryobiology*. 82: 137–147.  
[www.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2018.03.005](http://www.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2018.03.005).

Bustani, G.S., Baiee, F.H. (2021). Semen extenders: An evaluative overview of preservative mechanisms of semen and semen extenders. *Veterinary world*. 14(5): 1220–1233. [www.doi.org/10.14202/vetworld.2021.1220-1233](http://www.doi.org/10.14202/vetworld.2021.1220-1233)

Carrillo, E., Meza-Herrera, C.A., Véliz, F. G. (2010). Estacionalidad reproductiva de los machos cabríos de la raza Alpino-Francés adaptados al subtrópico Mexicano. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 1(2): 169-178.  
<http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v1n2/v1n2a8.pdf>

Chemineau, P., Malpoux, B., Brillard, J. P., & Fostier, A. (2007). Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*, 1(3), 419-432. <https://www.cambridge.org/core/journals/animal/article/seasonality-of-reproduction-and-production-in-farm-fishes-birds-and-mammals/7ABD72F7B1E0CB65671D3B40A45C9FF0>

Cseh, S., Faigl, V., & Amiridis, G. S. (2012). Procesamiento de semen e inseminación artificial en el manejo sanitario de pequeños rumiantes. *Ciencia de la reproducción animal*, 130(3-4), 187–192.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432012000401?via%3Dihub>

FASS. 2010. Guide for the Care and Use of Agricultural Animal sin Agricultural Research and Teaching. Federation Animal Science Society. Savoy. IL. USA. ISBN:978-956-14-21615.

<https://books.google.com.mx/books?id=EA1QDwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=Guide+for+the+Care+and+Use+of+Agricultural+Animals+in+Agricultural+Research+and+Teaching&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwi8svistjrAhUIW60KHUttBHMq6AEwAnoECAUQAq#v=onepage&q=Guide%20for%20the%20Care%20and%20Use%20of%20Agricultural%20Animals%20in%20Agricultural%20Research%20and%20Teaching&f=false>

Ferrera-Vázquez, I.C., Cervantes-Escoto, F., Palacios-Rangel, M.I., Martínez-González, E.G., Luna-Olea, R.A. (2020). Factores que inciden en la utilidad económica de los caprinocultores de la laguna, Durango, México. *Revista Bio Ciencias*, 7, 16. <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e933>

Flores, N.M.J., Rosales, N.C.A., Vélez, M.L.I., Chávez, S.A.U. (2020). Influencia del nivel nutricional sobre la calidad seminal y el comportamiento sexual de los machos cabríos tratados con días largos artificiales. *Biocencia*. 23(1):36-43. <http://www.scielo.org.mx/pdf/biotech/v23n1/1665-1456-biotech-23-01-36.pdf>

Garde, J.J., del Olmo, A., Soler, A.J., Espeso, G., Gomendio, M., Roldan, E.R.S. (2008). Effect of egg yolk, cryoprotectant, and various sugars on semen cryopreservation in endangered Cuvier's gazelle (*Gazella cuvieri*). *Animal Reproduction Science*. 108(3-4): 384–401. [www.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.09.010](http://www.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2007.09.010)

Gravance, C.G., White, C., Robertson, K.R., Champion, Z.J., Casey, P.J. (1997). The effects of cryopreservation on the morphometric dimensions of caprine sperm heads. *Animal Reproduction Science*. 49(1): 37-43. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432097000535>

Gürler, H., Malama, E., Heppelmann, M., Calisici, O., Leiding, C., Kastelic, J.P., Bollwein, H. (2016). Effects of cryopreservation on sperm viability, synthesis of reactive oxygen species, and DNA damage of bovine sperm. *Theriogenology*, 86(2), 562-571. [www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X16000686](http://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0093691X16000686).

Juyena N.S, Stelletta C. (2012). Seminal plasma: an essential attribute to spermatozoa. *Journal of Andrology*. 33:536–551. [www.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2164/jandrol.110.012583](http://www.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2164/jandrol.110.012583).

Kafi, M., Safdarian, M., Hashemi, M. (2004). Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. *Small Ruminant Research*. 53(1-2):133-139. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921448803002876>

Karsch, F.J., Bittman, E.L., Foster, D.L., Goodman, R.L., Legan, S.J., Robinson, J.E. (1984). Neuroendocrine basis of seasonal reproduction. In Proceedings of the 1983 Laurentian Hormone Conference (pp. 185-232). Academic Press.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780125711401500104>

Küçük, N., Aksoy, M., Uçan, U., Ahmad, E., Naseer, Z., Ceylan, A., Serin, I. (2014). Comparison of two different cryopreservation protocols for freezing goat semen. *Cryobiology*, 68(3): 327–331.

[www.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.04.009](http://www.doi.org/10.1016/j.cryobiol.2014.04.009).

Luo, J., Wang, W., Sun, S. (2019). Research advances in reproduction for dairy goats. *Animal Bioscience*. 32(8):1284–1295. [www.doi.org/10.5713/ajas.19.0486](http://www.doi.org/10.5713/ajas.19.0486).

Mahsud, T., Jamil, H., Qureshi, Z.I., Asi, M.N., Lodhi, L.A., Waqas, M.S., Ahmad, A. (2013). Semen quality parameters and selected bio-chemical constituents level in plasma of Lohi rams. *Small Ruminant Research*. 113(1): 175-178.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0921448813001326>

Mocé, E., Lozano-Palazón, S.A., Martínez-Granell, M.M., Mocé, M, L., Gómez, E.A. (2020). Effect of the refrigeration system on in vitro quality and in vivo fertility of goat guck sperm. *Animals*. MDPI, 10(12): 2399.

[www.doi.org/10.3390/ani10122399](http://www.doi.org/10.3390/ani10122399)

NAM. 2002. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Coproduced by the National Academy of Medicine. Mexico and the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International. 1sted. Harlan Mexico,DF,Mexico.ISBN:978-0-309-15400.

[www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/)

NRC. National Research Council. of the National Academes (2017).

[https://books.google.com.mx/books?id=GyxkAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=Guide+for+the+Care+and+Use+of+Laboratory+Animals.+ISBN&hl=es&sa=X&redir\\_esc=y#v=onepage&q=Guide%20for%20the%20Care%20and%20Use%20of%20Laboratory%20Animals.%20ISBN&f=false](https://books.google.com.mx/books?id=GyxkAgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=Guide+for+the+Care+and+Use+of+Laboratory+Animals.+ISBN&hl=es&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=Guide%20for%20the%20Care%20and%20Use%20of%20Laboratory%20Animals.%20ISBN&f=false)

Ombelet, W., Van Robays, J. (2015). Artificial insemination history: hurdles and milestones. *Facts, view y vision in ObGyn*, 7(2):137–143. [https://scholar.google.com/scholar?hl=es&as\\_sdt=0%2C5&q=Ombelet%2C+W.%2C+y+Van+Robays%2C+J.+%282015%29.+&btnG=](https://scholar.google.com/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=Ombelet%2C+W.%2C+y+Van+Robays%2C+J.+%282015%29.+&btnG=)

Peris-Frau, P., Soler, A.J., Iniesta-Cuerda, M., Martín-Maestro, A., Sánchez-Ajofrín, I., Medina-Chávez, D.A., Fernández-Santos, M.R., García-Alvarez, O., Maroto-Morales, O., Montoro, V., Garde, J.J. (2020). Sperm cryodamage in Ruminants: Understanding the molecular changes induced by the cryopreservation process to optimize sperm quality. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(8): 2781. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/8/2781>

Raheja, N., Choudhary, S., Grewal, S., Sharma, N., Kumar, N. (2018). A review on semen extenders and additives used in cattle and buffalo bull semen preservation. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 6(3): 239-245. [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/56583678/A\\_review\\_on\\_semen\\_extenders\\_and\\_additives-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1653812221&Signature=YqtbVfjyRvS3a3zE02SJuuH6a~y2-dupUWbKpTqQUXjtWFbT4az0A4VpVp4QCIATP4k4gMW1IL82R0~CyAM9KaUyY3rITJvBDdQZ0kBL9Ha9dEb4bzRVJFBhZ7RmJGsFrPc09jeWuBgvqzDKyN8GUycTTWdfij4eDQebURpSprWnM42RgGh5yhpjmJqsGHq1v1qU96j-iYCi2kMRyud-vV4jIV0mCLwYa~e91~gtKI~-wQ4A2pCIVp84qYhlu4yVIEe1fNk6Vx4ewnXgAaLnd2YAQHXLtGL83FnlGJt3juxJs-JfNFIZzuydD2dpl2WBqkzoWCmA6h5vPg0VLJwA\\_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/56583678/A_review_on_semen_extenders_and_additives-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1653812221&Signature=YqtbVfjyRvS3a3zE02SJuuH6a~y2-dupUWbKpTqQUXjtWFbT4az0A4VpVp4QCIATP4k4gMW1IL82R0~CyAM9KaUyY3rITJvBDdQZ0kBL9Ha9dEb4bzRVJFBhZ7RmJGsFrPc09jeWuBgvqzDKyN8GUycTTWdfij4eDQebURpSprWnM42RgGh5yhpjmJqsGHq1v1qU96j-iYCi2kMRyud-vV4jIV0mCLwYa~e91~gtKI~-wQ4A2pCIVp84qYhlu4yVIEe1fNk6Vx4ewnXgAaLnd2YAQHXLtGL83FnlGJt3juxJs-JfNFIZzuydD2dpl2WBqkzoWCmA6h5vPg0VLJwA_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA)

Simões, J., Abecia, J.A., Cannas, A., Delgadillo, J.A., Lacasta, D., Voigt, K., Chemineau, P. (2021). Review: Managing sheep and goats for sustainable high yield production, *Animal*. 100293. <https://doi.org/10.1016/j.animal.2021.100293>.

Sadeghi, S., Del Gallego, R., García-Colomer, B., Gómez, E.A., Yániz, J.L., Gosálvez, J., López-Fernández, C., Silvestre, M.A. (2020). Effect of Sperm Concentration and Storage Temperature on Goat Spermatozoa during Liquid Storage. *Biology*, 9(9):300. <https://www.mdpi.com/2079-7737/9/9/300>

SADER 2017. La Caprinocultura en México. Consulta: 10 abril 2021. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/la-caprinocultura-en-mexico>.

Salamon, S., Maxwell, W.M.C. (2000). Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*. 62:(1-3):77–111. [https://doi.org/10.1016/s0378-4320\(00\)00155-x](https://doi.org/10.1016/s0378-4320(00)00155-x)

Jimenez-Rabadán, P., Soler, A.J., Ramón, M., García-Alvarez, O., Maroto-Morales, A., Iniesta-Cuerda, M., Garde, J.J. (2016). Influence of semen collection method on sperm cryoresistance in small ruminants. *Animal Reproduction Science* 167:103–108.

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378432016300537>

Souza-Fabjan, J.M., Correia, L.F., Batista, R.I., Locatelli, Y., Freitas, V.J., Mermillod, P. (2021). Reproductive seasonality affects in vitro embryo production outcomes in adult goats. *Animals*. 11(3): 873.

<https://doi.org/10.3390/ani11030873>

Ungerfeld, R., Viera, M.N., Freitas-de-Melo, A., Giriboni, J., Casuriaga, D., Silveira, P. (2021). Seasonality of the stress response in goat bucks when there is use of electroejaculation for semen collection. *Animal Reproduction Science*. 226, 106719. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106719>

Varpe Ø. (2017). Life History Adaptations to Seasonality. *Integrative and comparative biology*. 57(5): 943–960. <https://doi.org/10.1093/icb/ix123>

Valle-Moysen, E.D., Vélez-Monroy, L.I., Ángel-García, Ó., Gaytán-Alemán, L.R., De Santiago, M.D.L.Á. (2018). Influencia de la condición corporal sobre la respuesta reproductiva de machos cabríos tratados con testosterona en el norte de México. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 17(1): 15-25. [https://chapingo-cori.mx/zonas\\_aridas/zonas\\_aridas/article/view/r.rchsza.2017.12.015](https://chapingo-cori.mx/zonas_aridas/zonas_aridas/article/view/r.rchsza.2017.12.015)

Wang, W., Luo, J., Sun, S., Xi, L., Gao, Q., Haile, A.B., Shi, H., Zhang, W., Shi, H. (2015). The effect of season on spermatozoa motility, plasma membrane and acrosome integrity in fresh and frozen-thawed semen from Xinong Saanen bucks.

Reproduction in domestic animals. 50(1): 23–28.  
<https://doi.org/10.1111/rda.12444>

Zhao, J.Q., Xiao, G.L., Zhu, W.L., Fang, D., Li, N., Han, C.M., & Gao, Q. H. (2021).  
Ram semen preserved at 0°C with soybean lecithin Tris-based extender  
substituted for egg yolk. *Animal Bioscience*. 34(2): 192–197.  
<https://doi.org/10.5713/ajas.20.0118>