

# TÉCNICAS EN LA EVALUACIÓN DE SEMEN, COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS USADOS EN LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN<sup>1</sup>

M.V.Z. JUAN M. CUEVAS CORREA<sup>2</sup>  
M.V.Z. M.S. ROBERTO Ruíz Díaz<sup>3</sup>  
M.V.Z. M.S., Ph. D. JOSÉ M. BERRUECOS<sup>4</sup>

## Resumen

Se evaluó el procedimiento del hemocitómetro (Cámara de Spencer) en la cuenta espermática, utilizando para esto 54 muestras de semen de bovino. Los resultados indican que con un mínimo de 5 cuadros, es suficiente para realizar la evaluación. Se encontró mayor variabilidad en las muestras de mayor concentración por lo que se sugiere, para estos casos, usar muestras diluidas.

La evaluación del potencial reproductor del toro incluye el examen físico, el cual a su vez consta de palpación rectal de las vesículas seminales, ampulla eyaculatoria y conductos deferentes. Obviamente, también incluye la evaluación del semen, donde las cuatro características de calificación más importantes son: la concentración de espermatozoides, su grado de vigor, el porcentaje de motilidad progresiva y la morfología.

La determinación de la concentración de los espermatozoides es una de las pruebas más importantes de la calidad del semen y una de las características para seleccionar el potencial de fertilidad. Una vez conocida la concentración de espermatozoides en el semen, así como el volumen del eyaculado, se podrá determinar el grado de dilución y el número de dosis. En esta forma, se asegura un número mínimo adecuado de espermatozoides vivos por dosis de semen, para lograr niveles óptimos de fertilidad.

De acuerdo con Pickett *et al.* (1964) la determinación exacta de la concentración del semen tiene una gran importancia económica, ya que en esta forma se puede aprovechar al máximo el semen de los toros tratando de asegurar de que, al momento de la insemina-

ción artificial, cada dosis tenga por lo menos 10 millones de espermatozoides vivos.

Además, la concentración está relacionada con la actividad testicular, ya que de acuerdo con Hill (1956), la disminución de la concentración en un grado severo va a menudo acompañada de otros signos de patología testicular.

Lo anterior indica la importancia que tiene la evaluación correcta de la concentración espermática. En el presente trabajo se evalúa el método tradicional del hemocitómetro para la determinación de la concentración de espermatozoides de un volumen conocido. Se correlaciona el número y posición de los cuadros contados, con la exactitud en la determinación de la concentración de células espermáticas en la muestra analizada.

## Material y métodos

En este trabajo se evaluó la concentración de 54 muestras de semen bovino, siguiendo el procedimiento utilizado para determinar el número de glóbulos rojos, modificado por Bratton, Foote y Shipman (1956).

Se preparó una solución de citrato de sodio al 2.9% de la que se depositaron 7.9 ml en un tubo de ensayo. A éste se le agregó 0.1 ml de la muestra de semen para obtener una dilución de 1:80.

De la solución original (1:80) se tomó 1 ml y se depositó en un tubo de ensayo que contenía 1.5 ml de rosa de bengala homogeneizándola por inversión. En este momento, la muestra de semen quedó diluida 1:200. Con una pipeta para contar glóbulos rojos se

Recibido para su publicación el 18 de mayo de 1973.

<sup>1</sup> Presentado en la IX Reunión Anual del I.N.I.P., S.A.G. Tesis profesional del primer autor.

<sup>2</sup> Dirección actual: Lab. de Patología Animal, Flores Magón 7, Santiago Tuxtla, Ver.

<sup>3</sup> Depto. de Reproducción; dirección actual: Apartado Postal No. 2, Garbo, Son.

<sup>4</sup> Depto. de Genética Animal. I.N.I.P., S.A.G. km. 15.5 Carretera México-Toluca.

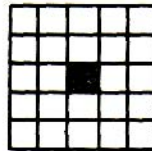
CUADRO I

ESQUEMA DEL MUESTREO UTILIZADO

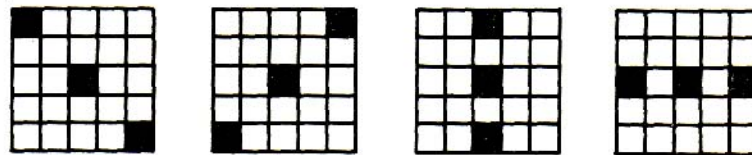
CUENTA TOTAL



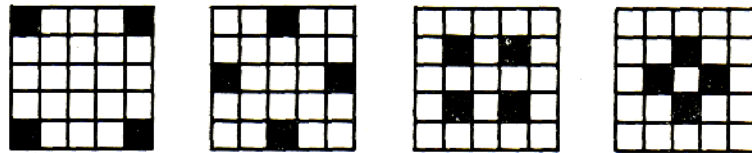
EN BASE A:  
1 CUADRO



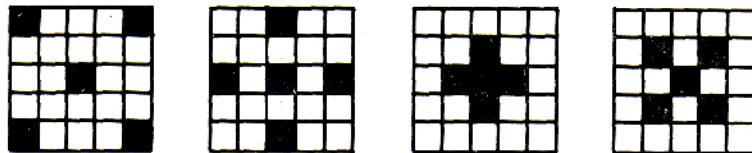
3 CUADROS



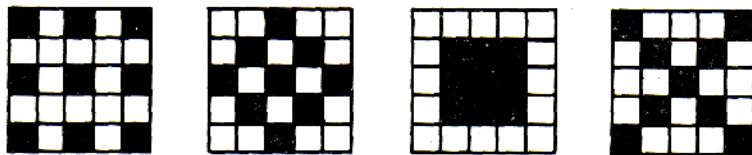
4 CUADROS



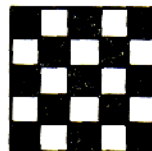
5 CUADROS



9 CUADROS



13 CUADROS



tomó de esta solución la cantidad suficiente hasta llegar a la marca 101 y se colocó la pipeta en un agitador eléctrico durante 90 segundos. En seguida se descartaron las tres primeras gotas para asegurar que se realizara el conteo en una parte representativa de la solución contenida en la pipeta. En seguida, se depositó una gota en el hemocitómetro, dejándola correr debajo del cubreobjeto sin sobrellenar la cámara del hemocitómetro. Se dejó reposar por espacio de 5 minutos, después de lo cual se procedió al conteo total de los 25 cuadros de la cámara. Para evitar contar los espermatozoides dos veces, se contaron sólo aquellos comprendidos dentro de cada cuadro y los comprendidos en sus líneas limitantes superior e izquierda.

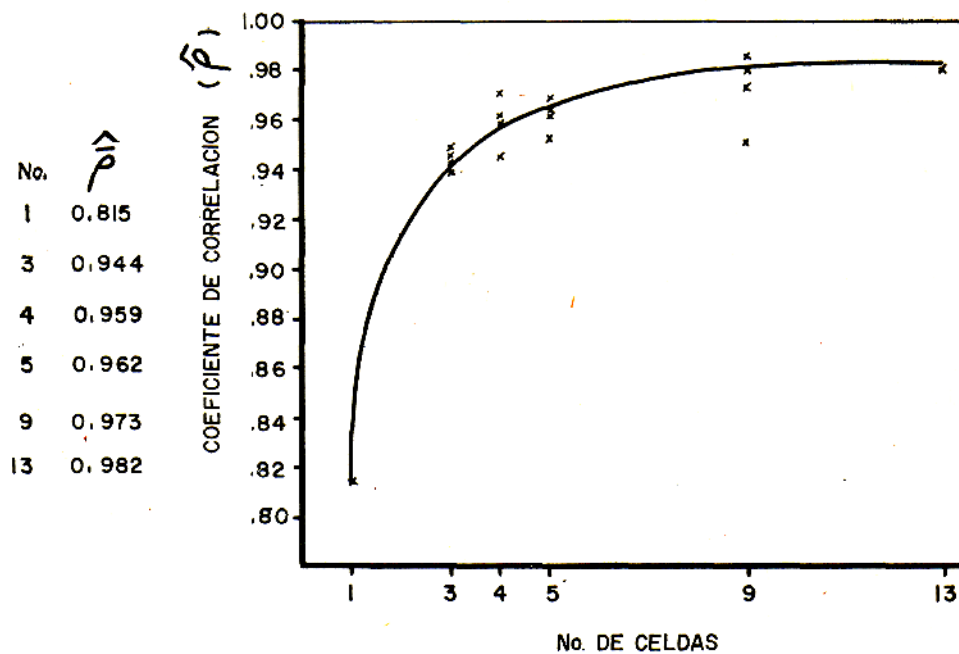
Se diseñaron 18 arreglos de cuadros en base a número y posición de éstos, con objeto de correlacionar el número de espermatozoides obtenidos en la cuenta de cada uno de los 18 arreglos, con la cuenta total obtenida de los 25 cuadros del hemocitómetro (Cuadro 1). De esta forma, se determinó el efecto que

guardan la posición y el número mínimo de cuadros del hemocitómetro que se deben contar para obtener una estimación lo más exacta posible, del número de espermatozoides en la muestra analizada. El análisis estadístico se realizó de acuerdo a Steel y Torrie (1960) y Fryer (1966).

### Resultados y discusión

Los resultados obtenidos al correlacionar el número de cuadros contados en la determinación de la concentración en la muestra de semen analizada, se presentan en el Cuadro 2 y en la Gráfica No. 1. De los resultados se puede apreciar que cuando se cuentan 9 o más cuadros de la cámara, la curva de los coeficientes de correlación sigue una tendencia asintótica. Este coeficiente (0.98) puede considerarse bastante alto. Las cifras obtenidas cuando se contaron 5 o 9 cuadros, tuvieron un coeficiente de correlación de 0.96 y 0.98. Esto nos indica que con sólo determinar el número de espermatozoides contenidos en

GRAFICA 1  
CORRELACION ENTRE EL N° DE CELDAS  
CONTADAS Y EL CONTEO TOTAL



5 cuadros podemos obtener una estimación muy precisa del número de espermatozoides contenidos en la muestra en evaluación. En forma similar Bratton, Foote y Shipman (1956) encontraron un valor de 0.98 para el coeficiente de correlación en el conteo de 5 cuadros. No existió gran variabilidad del coeficiente de correlación en relación al número de cuadros contados en las 42 muestras analizadas.

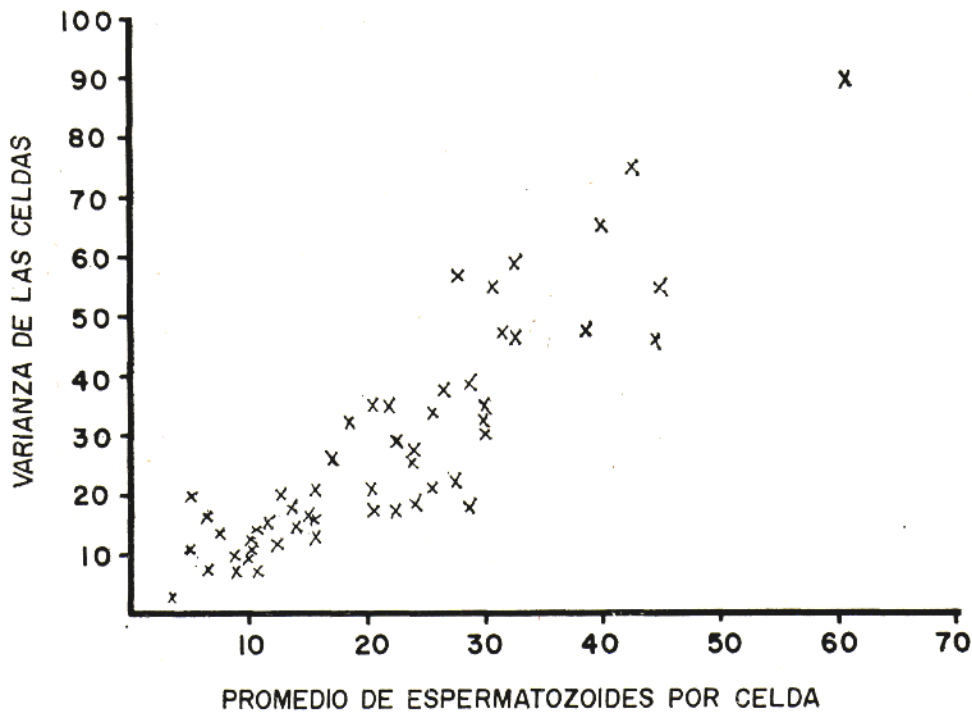
La posición de los cuadros contados parece no influir en el coeficiente de correlación, ya que se obtuvieron coeficientes muy similares en los diferentes arreglos de cada número de cuadros contados (gráfica 1). Al efectuar el análisis de varianza del número promedio de espermatozoides contados por cuadro, se observó que aquellas muestras con altas concentraciones presentan mayor variabilidad que aquellas con baja concentración (gráfica 2).

En esta gráfica se puede observar que a medida que aumenta el promedio de concentración, aumenta la varianza casi en forma lineal. Esto sugiere que quizá sea conveniente separar el método de evaluación en aquellas muestras cuya concentración sea alta. Es decir, la evaluación podría hacerse en base a diferentes diluciones.

En otros trabajos se ha considerado que el error aleatorio en la determinación de la concentración de espermatozoides en el semen, se incrementa conforme aumenta la concentración de éstos debido probablemente, a que a mayor concentración es mayor el efecto de la distribución heterogénea del semen no diluido y de errores de medición aleatorios. El error aleatorio existente en la determinación de la concentración de espermatozoides en el semen, se minimiza homogeneizando la muestra cuidadosamente y realizando el pi-

GRAFICA 2

RELACION ENTRE PROMEDIO Y VARIANZA  
DEL NUMERO DE ESPERMATOZOIDES



peteo con gran cuidado (Bane, 1952), ya que la distribución del semen en el plasma es altamente heterogéneo. De ahí que cuando se miden pequeñas cantidades de semen a partir del mismo eyaculado, se debe esperar un aumento en la variación del número de espermatozoides.

Como conclusiones se puede indicar que se determinó que con el conteo de un mínimo de 5 cuadros en el hemocitómetro se puede obtener una evaluación adecuada de la concentración de espermatozoides en el

CUADRO 2

Valores del coeficiente de correlación para cada uno de los arreglos sistemáticos

No. de cuadros	Arreglos	r	Promedio de r
1	1	0.8150	0.815
3	1	0.9500	0.944
	2	0.9440	
	3	0.9439	
4	4	0.9399	0.959
	1	0.9720	
	2	0.9620	
	3	0.9599	
5	4	0.9430	0.962
	1	0.9700	
	2	0.9610	
	3	0.9620	
9	4	0.9570	0.973
	1	0.9830	
	2	0.9800	
	3	0.9730	
13	4	0.9560	0.982
	1	0.9820	

semen; la variación en la posición y distribución de los cuadros elegidos en la cámara del hemocitómetro, demostró no tener influencia en los resultados obtenidos; además se encontró gran variabilidad en las muestras con mayor concentración de espermatozoides, lo que sugiere desarrollar métodos de evaluación, basados en diluciones.

### Summary

54 Samples of bovine semen were utilized in the evaluation of the Spencer's chamber method to determine semen concentration. The results shows that counting a minimum of 5 squares is enough to make an effective evaluation. Greater variability was found in samples with greater concentrations; for this reason, it is suggested the use of diluted samples.

### Literatura citada

- BANE, A., 1952, A study on the technique of hemocytometric determination of sperm motility and sperm concentration in bull semen, *The Cornell Veterinarian*, 24: 518-530.
- BRATTON, R. W., R. H. FOOTE and K. SHIPMAN, 1956, Procedure for counting bovine sperm with a hemocytometer. and the calibration and operational use of a photometer to estimate sperm count by optical density, Routine Lab. Procedure No. 4, *Animal Husbandry Department*, Cornell University, Ithaca, N. Y.
- FRYER, H. C., 1966, Concepts and Methods of Experimental Statistics, *Allyn and Bacon, Inc.*, Boston.
- HILL, H. J., 1956, Morfología del semen bovino y su importancia relativa en la evaluación de la capacidad reproductora, *J. Am. Vet. Soc. for Study of Breeding Soundness*, 6: 2. Revisado por E. J. Carroll y L. C. Faulkner. Colorado State University, Col. Enero 1959.
- PICKETT, B. W., R. C. HALL JR., J. J. LUCAS and E. W. GIBSON, 1964, Influence of sperm number on fertility of frozen bovine semen, *J. Dairy Sci.* 47: 916.
- STEEL, R. G. D. and J. H. Torrie, 1960, Principles and procedures of Statistics, *McGraw Hill Book Co.*, New York.