

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TÉCNICAS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN OVINOS

MONOGRAFIA

POR

ANDRÉS PÉREZ GÓMEZ

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREON, COAHUILA; MEXICO.

SEPTIEMBRE 2011

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TÉCNICAS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN OVINOS

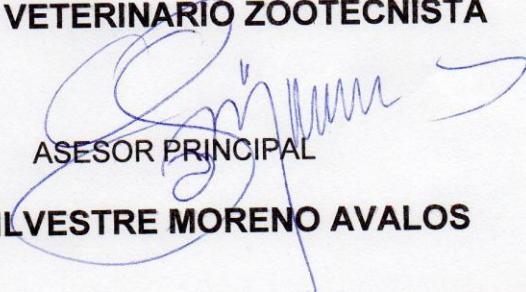
MONOGRAFIA

POR

ANDRÉS PÉREZ GÓMEZ

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA


ASESOR PRINCIPAL

MVZ. SILVESTRE MORENO AVALOS

TORREON, COAHUILA; MEXICO.

SEPTIEMBRE 2011

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TÉCNICAS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN OVINOS

MONOGRAFIA

POR

ANDRÉS PÉREZ GÓMEZ

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR:

MVZ. SILVESTRE MORENO AVALOS
ASESOR PRINCIPAL



MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO
COORDINADOR DE LA DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

**Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal**

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISION REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



TÉCNICAS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN OVINOS

MONOGRAFIA

POR

ANDRÉS PÉREZ GÓMEZ

QUE SE SOMETE A CONSIDERACION DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADO POR:



MVZ. SILVESTRE MORENO AVALOS
PRESIDENTE



MVZ. CARLOS RAUL RASCON DIAZ
VOCAL



MVZ. DAVID VILLAREAL REYES
VOCAL



MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMON ALONSO
VOCAL SUPLENTE

DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

SR. ANTONIO PEREZ HERNANDEZ Y SRA. PETRONA GOMEZ GOMEZ.

POR TODO EL APOYO INCONDICIONAL QUE ME BRINARON DURANTE LA CARRERA Y QUE GRACIAS A ELLOS HE CULMINADO UNA CARRERA Y AHORA SE PUEDEN SENTIR ORGULLOSOS POR VERME CONVERTIDO EN TODO UN PROFESIONISTA.

GRACIAS DE TODO CORAZON PAPAS POR TODO EL APOYO QUE ME BRINDARON.

A MIS HERMANOS:

POR TODO SU APOYO Y SOBRE TODO POR LOS MOMENTOS QUE HEMOS PASADOS JUNTOS POR LOS MOMENTOS DE ALEGRIAS, DE TRISTEZA Y SOBRE TODO POR SUS CONSEJOS QUE ME DABAN FUERZA PARA SALIR ADELANTE Y NO DARME POR VENCIDO NUNCA, LOS QUIERO MUCHO:

JUAN

MARIA

LUCAS

FRANCISCO

MICAELA

AGRADECIMIENTOS

A MI PADRE DIOS POR HABERME DADO LA FUERZA, VALOR Y ESPERANZA DE HABER TERMINADO MI CARRERA.

A MIS PADRES POR HABERME DADO LOS MEDIOS Y LA CONFIANZA POR HABERME APOYADO EN LOS MOMENTOS DIFICILES DURANTE TODA MI CARRERA.

A TODOS MIS HERMANOS PORQUE CREYERON EN MI.

A TODOS MIS MAESTROS QUE ME INSTRUYERON DURANTE TODA MI CARRERA.

Y EN ESPECIAL A MI ALMA MATER POR LOS 5 AÑOS QUE ME COBIJO Y ME BRINDO LOS SERVICIOS CON LOS QUE CONTABA.

CONTENIDO

RESUMEN

| | |
|---|----|
| I.- INTRODUCCION..... | 1 |
| II.- ANTECEDENTES DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL..... | 2 |
| III.- VENTAJAS DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL | |
| 3.1.- Mejora genética..... | 8 |
| 3.2.- Fácil transporte de material genético..... | 10 |
| 3.3.- Conservación prolongada de semen..... | 10 |
| 3.4.- Aumento de la eficacia reproductiva..... | 11 |
| 3.5.- Reducción o eliminación de sementales de la ganadería..... | 11 |
| 3.6.- Prevención y control de enfermedades..... | 11 |
| 3.7.- Utilización de machos incapacitados..... | 11 |
| 3.8.- Mantenimiento de registros seguros..... | 12 |
| IV.- DESVENTAJAS DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL | |
| 4.1.- Consanguinidad..... | 12 |
| 4.2.- Reproducción insegura..... | 13 |
| 4.3.- Propagación de enfermedades..... | 13 |
| 4.4.- Fertilidad reducida..... | 13 |
| 4.5.- Costos..... | 14 |
| V.- PREPARACION DE LAS HEMBRAS PARA LA INSEMINACION ARTIFICIAL..... | 14 |
| VI.- EPOCA DEL AÑO PARA PRACTICAR LA INSEMINACION..... | 15 |
| VII.- SELECCION Y PREPARACION DE LOS MACHOS PARA LOS PROGRAMAS DE INSEMINACION ARTIFICIAL..... | 15 |
| VIII.- PREPARACION DE LOS MACHOS..... | 17 |
| IX.- ENTRENAMIENTO DE LOS MACHOS PARA LA RECOLECCION DE SEMEN..... | 18 |
| X.- RECOLECCION DEL SEMEN | |
| 10.1.- Recolección de semen por vagina artificial..... | 19 |
| 10.2.- Recolección de semen por estímulo eléctrico..... | 21 |
| XI.- MANEJO Y VALORACION DEL SEMEN | |
| 11.1.- Dilución del semen..... | 22 |
| 11.2.- Razones técnicas..... | 22 |
| 11.3.- Razones biológicas..... | 23 |
| XII.- DILUYENTES PARA UTILIZAR SEMEN EN FRESCO..... | 23 |
| 12.1.- Diluyentes sintéticos..... | 23 |
| 12.2.- Diluyentes para utilizar en inseminación artificial intrauterina (quirúrgica)..... | 24 |

| | |
|--|----|
| 12.3.- Diluyente natural..... | 24 |
| XIII.- METODOS DE DILUCION..... | 25 |
| XIV.- VOLUMENES DE INSEMINADO..... | 25 |
| XV.- EQUIPOS PARA LA INSEMINACION ARTIFICIAL | |
| 15.1.- Equipo para inseminación artificial vaginal o cervical..... | 26 |
| 15.2.- Equipo para inseminación artificial intrauterina..... | 27 |
| XVI.- DESCONGELACION DE LAS PAJILLAS DE SEMEN..... | 28 |
| XVII.- SUJECION DE OVEJAS..... | 28 |
| 17.1.- Sujeción de hembras para inseminación vaginal o cervical..... | 28 |
| 17.2.- Sujeción de las hembras para inseminación intrauterina..... | 29 |
| XVIII.- INSEMINACION ARTIFICIAL..... | 29 |
| 18.1.- Inseminación vaginal..... | 31 |
| 18.2.- Inseminación cervical..... | 33 |
| 18.3.- Inseminación intrauterina por laparotomía..... | 36 |
| 18.4.- Inseminación intrauterina por laparoscopia..... | 36 |
| XIX.- MOMENTO DE LA INSEMINACION..... | 39 |
| 19.1.- Momento de inseminar a hembras con estro natural | |
| 19.1.1.- Inseminación artificial cervical o vaginal..... | 39 |
| 19.2.- Momento de inseminación en estro sincronizado..... | 40 |
| 19.3.- Inseminación cervical..... | 41 |
| 19.4.- Inseminación intrauterina..... | 41 |
| XX.- NUMERO DE INSEMINACIONES POR ESTRO..... | 43 |
| XXI.- DOSIS DE INSEMINADO..... | 43 |
| XXII.- LITERATURA CITADA..... | 44 |

INDICE DE IMAGENES

| | |
|--|----|
| IMAGEN 1.- Hato iniciando con mejoramiento genético..... | 9 |
| IMAGEN 2.- Se muestra el momento del depósito de semen por vía vaginal..... | 32 |
| IMAGEN 3.- Depósito del semen con ayuda de un espéculo con luz..... | 36 |
| IMAGEN 4.- Depósito del semen mediante una pequeña incisión y vista al interior..... | 38 |
| IMAGEN 5.- Técnicas de inseminación artificial por laparoscopia..... | 38 |
| IMAGEN 6.- Vista de una práctica en la clínica de ovinos de la unam..... | 38 |
| IMAGEN 7.- Forma de sincronización en las ovejas..... | 41 |
| IMAGEN 8.- Muestra la forma de inseminación intrauterina..... | 42 |
| IMAGEN 9.- Inseminación intrauterina..... | 42 |

INDICE DE TABLAS

TABLA 1.- Volúmenes recomendados para la inseminación.....26

**TABLA 2.- Número mínimo de seguridad de espermatozoides móviles en
inseminado para practicar la inseminación en las diferentes técnicas (número
expresado en millones).....44**

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue hacer una revisión de literatura sobre las técnicas actuales de inseminación artificial en ovinos. En él se aborda lo relacionado a las ventajas y desventajas de la inseminación artificial, preparación de las hembras para la inseminación artificial, época del año para practicar la inseminación, selección y preparación de los machos para los programas de inseminación artificial, preparación de los machos entrenamiento de los machos para la recogida de semen, recogida del semen, manejo y valoración del semen, dilución del semen, diluyentes para utilizar semen en fresco, método de dilución, volumen de inseminado, equipo para la inseminación artificial, descongelación de las pajuelas de semen, sujeción de ovejas inseminación cervical, inseminación intrauterina por laparotomía, inseminación intrauterina por laparoscopia, tiempo de la inseminación, número de inseminaciones por estro, dosis de inseminado, así como al manejo de las ovejas después de la inseminación.

Se concluye que el conocimiento de la reproducción animal en la actualidad, incluye una serie de áreas temáticas diversas que van desde los temas básicos de fisiología hasta la manipulación de los gametos, sin olvidar los aspectos aplicables a la mejora del rendimiento reproductivo de una unidad pecuaria.

Todo esto ha evolucionado en los últimos años con el incremento de la tecnología aplicada en dos líneas principales: el estudio de la endocrinología y el control del ciclo sexual utilizando tratamientos hormonales hasta culminar con la inseminación artificial.

PALABRAS CLAVES: INSEMINACION ARTIFICIAL, ENDOCRINOLOGIA, HORMONAS, LAPAROSCOPIA, SEMEN, DILUYENTES, CERVICO UTERINO.

I.- INTRODUCCION

El presente trabajo hace referencia sobre las técnicas de inseminación artificial en ovinos las cuales son de suma importancia en la explotación y reproducción de ovinos, por su elevado porcentaje de efectividad como un medio de reproducción.

La inseminación artificial es un método de reproducción asistida en el que se obtiene el semen del macho para introducirlo posteriormente en el aparato reproductor de la hembra de forma manual y por medio de instrumentos especiales. En este sistema no existe contacto directo entre el macho y la hembra.

De tal forma se incluyen diferentes técnicas para llevar a cabo la inseminación artificial, la cual puede ser la vaginal la cual consiste en depositar el semen fresco o diluido descongelado en la vagina.

La inseminación artificial cervical es a la fecha la más utilizada, la deposición del semen se realiza dentro de los primeros pliegues cervicales, los cuales son visibles con la ayuda de un espéculo y fuente de luz, esta técnica se convierte en transcervical ó intrauterina cuando se logra atravesar por completo el cuerpo de la cérvix y depositar el semen intrauterinamente, la técnica implica la sujeción y retracción del cérvix por la vagina para permitir la introducción del instrumento inseminatorio en el canal cervical.

La inseminación artificial intrauterina por laparotomía exploratoria es aún más invasiva ya que la técnica incluye una ligera sedación del animal para permitir la laparotomía la cual incluye la exposición de ambos cuernos para la deposición del semen fresco o congelado/descongelado con un trocar o catéter.

La técnica de inseminación artificial intrauterina por laparoscopia se asemeja a la técnica por laparotomía pero en este caso no hay laparotomía en sí, sólo se practican dos incisiones en la región ventro caudal delante de la ubre en los cuales se introduce laparoscopia para visualizar los cuernos, en esta técnica también se utilizan los trocar para puncionar los cuernos uterinos previo a esto

se insufla la cavidad con O₂ oxígeno o gas para lograr visualizar ambos cuernos.

El objetivo del presente trabajo fue hacer una revisión de literatura sobre las técnicas de inseminación artificial en ovinos. Por lo que pretende constituirse como un medio de consulta para las personas interesadas en el tema.

II.- ANTECEDENTES DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL

La inseminación artificial (IA) es la práctica de manejo más valiosa para el productor de ganado. En el procedimiento se hace uso eficaz de la generosa dotación de espermatozoides disponibles de un macho, de manera que se incrementa considerablemente el progreso genético y se mejora en muchas ocasiones la eficiencia de la reproducción (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

Muchos toros producen semen en tales cantidades que los espermatozoides son suficientes como para dar 40,000 unidades de reproducción al año. Por lo general, cuando un toro llega a los 4 años ya se ha evaluado su calidad genética y cuando llega a los 10 años de edad puede producir hasta 300,000 unidades reproductoras de semen. También el semen de los verracos puede ser congelado y utilizado más eficazmente. En ovejas y caballos, la inseminación artificial se practica en forma más limitada.

La eficiencia de la reproducción usando inseminación artificial por lo menos es tan buena como el apareamiento natural cuando no hay enfermedades. Cuando aparecen éstas, especialmente venéreas, la inseminación artificial representa un importante factor de control (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

Aunque las técnicas de congelación y descongelación no son lo suficientemente adecuadas como para uso comercial, se ha usado inseminación artificial en otras especies de granja que no son ni los cerdos ni los bovinos. Los investigadores han hecho algunos progresos en la congelación

de semen de garañones, pero el progreso ha sido escaso en el caso del semen de borregos. Los procedimientos para identificar plasma germinal superior en cerdos, ovejas y caballos. No ha sido tan bien desarrollado como en el caso de los bovinos.

Aunque no se documentó, el primer informe del uso de inseminación artificial fue en el año de 1300, por un criador árabe de caballos. Los jefes de tribus rivales se robaban entre sí el semen de garañones para cargar a sus propias yeguas.

El primer comunicado escrito del uso de inseminación artificial con éxito fue hecho por un fisiólogo italiano, Lázaro Spallanzani, en 1780. Después de su éxito con varios anfibios, decidió experimentar con un perro. Usó semen a temperatura corporal para inseminar una perra que tenía en su casa. Sesenta y dos días después parió 3 cachorros. En 1782, Rossi y un profesor llamado Branchi repitieron con éxito el experimento de Spallanzani (Bearden y Fuquay, 1982; Hafez y Hafez, 2000; Foote, 2002).

Spallanzani demostró más tarde que el componente fertilizante del semen podía filtrarse y retenerse aparte del líquido seminal. El líquido filtrado era estéril, en tanto que el resto era altamente fértil. En 1803, Spallanzani informó que el espermatozoide enfriado con nieve no moría sino que sólo se tornaba inmóvil hasta que se le exponía al calor, después de lo cual seguía móvil por varias horas.

Sus investigaciones estimularon la experimentación de las células sexuales y el proceso de fertilización, pero no hubo comunicados adicionales sobre inseminación artificial hasta finales del siglo. Everett Milais, un criador de perros, inseminó 19 perras entre 1884 y 1887 y 15 quedaron preñadas. Walter Heape en Inglaterra, escribió en 1897 sobre inseminación artificial y concluyó que era fácil y que la concepción era tan buena como en el servicio natural. También sugirió que un eyaculado podía ser utilizado por varias perras y que la inseminación artificial podría ser un arma para estudiar factores genéticos.

Aproximadamente en 1900, los científicos en Rusia empezaron a estudiar con animales de granja. Ivanoff empezó a trabajar con caballos, sin embargo, fue el primero en inseminar con éxito a los bovinos y a los ovinos. El éxito de Ivanoff

estimuló suficiente interés como para que se estableciera una sección de fisiología específicamente dedicada al estudio de la fertilidad en el Ministerio de Agricultura. Aquí se entrenaban veterinarios en las técnicas de inseminación artificial. El trabajo en los caballos se inició en Japón en 1913.

La primera asociación cooperativa de inseminación artificial se formó en Dinamarca en 1936. Con ayuda del estado, los criadores daneses continúan como líderes en el porcentaje de vacas cargadas con inseminación artificial. El profesor Perry de la Universidad de Rutgers fue uno de los pioneros en Estados Unidos. En 1938 organizó la primera cooperativa de inseminación artificial en este país, con 102 miembros, y cargó 1050 vacas el primer año. El profesor Perry conoció los criaderos de Dinamarca y posteriormente estableció el de New Jersey. Se organizaron otras cooperativas en los siguientes 2 años. Ya se había establecido bien la inseminación artificial y empezó con muchos bríos (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

Es importante mencionar varios descubrimientos. Cada uno eleva la inseminación artificial a una nueva plataforma.

La primera vagina artificial que se usó fue para colectar semen de perros y la diseñó Amantea, un profesor de fisiología humana de la Universidad de Roma. Amantea empezó sus investigaciones en semen de perro en 1914. Después los científicos rusos diseñaron vaginas artificiales para garañones, toros y borregos.

El desarrollo de la vagina artificial para grandes especies puede muy bien ser el desarrollo más importante en la historia de la inseminación artificial y aún se prefiere la vagina artificial cuando se colecta semen de toros, borregos o garañones en forma regular. El electroeyaculador se desarrolló a finales de los años cuarenta. Ha sido una innovación útil para la colección en toros y borregos que se muestran renuentes.

Los investigadores y muchos criadores reconocieron a finales de los años 30 que la inseminación artificial representa un tremendo apoyo para el progreso genético. Una limitación era que el semen tenía que ser utilizado para que diera buenos resultados. Cuando Phillips y Lardy de la Universidad de Wisconsin

descubrieron un medio nutritivo amortiguador para diluir el eyaculado, se dio el primer paso para corregir el problema (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

Ellos desarrollaron un diluyente fosfatado de yema que protegía a los espermatozoides durante el enfriamiento a temperaturas de 5°C, los proveía de una fuente de energía para su metabolismo y prevenía el cambio de pH. Con este diluyente los espermatozoides permanecían viables y capaces de fertilizar óvulos por tres o cuatro días. Salisbury y colaboradores mejoraron este diluyente al substituir el citrato de sodio por los fosfatos usados por Phillips y Lardy.

La ventaja del diluyente de citrato-yema era la visibilidad del espermatozoide bajo el microscopio, permitiendo una determinación más exacta de la motilidad después de la dilución.

El problema de la diseminación de enfermedades aún persiste. Se hicieron esfuerzos para coleccionar semen de toros sanos; sin embargo, ocurrieron varios brotes de enfermedades de la reproducción. La enfermedad que se transmitía más comunmente era la Vibriosis. Después de la segunda guerra mundial ya había penicilina disponible para la industria ganadera. Almquist, de la Universidad Estatal de Pensylvania, fue el primero en comunicar el uso de esta " droga maravilla" para el control de los contaminantes bacterianos del semen. La industria de la inseminación artificial. La adoptó casi inmediatamente, con una marcada mejoría en los índices de concepción (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

Las primeras inseminaciones se llevaron a cabo simplemente depositando el semen en la vagina. La técnica se refinó más tarde con el uso de un espéculo y un tubo de vidrio para inseminación. El espéculo se colocaba dentro de la vagina y con una fuente de luz (primero una lámpara de pilas en la cabeza y más tarde una lámpara del tamaño de una pluma) se hacía visible la parte posterior de la cérvix.

El tubo de inseminación se insertaba en la apertura y se depositaba el semen aproximadamente 2 cm. dentro de la cérvix. En 1937, los veterinarios daneses desarrollaron el método de inseminación rectovaginal (o de fijación cervical). Se introduce una mano en el recto para manipular la cérvix, en tanto que se inserta

un tubo de inseminación por la vagina y se pasa a través de la cervix. Luego se puede depositar el semen en la cervix anterior, en el cuerpo del útero o en ambos sitios. Esta técnica aún se usa en la actualidad (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

A finales de 1940, había muchas organizaciones de inseminación artificial que servían a vacas en todo el país. Se tenía que enviar al técnico una dotación fresca de semen cada 2 ó 3 días, pero la inseminación artificial se estaba utilizando con buenos resultados. Dos ingleses fueron responsables del siguiente descubrimiento de importancia. Parkes y Polges desarrollaron un exitoso método para congelar y almacenar espermatozoides a temperaturas muy bajas (Bearden y Fuquay, 1982; Hafez y Hafez, 2000; Foote, 2002).

Descubrieron que el glicerol protegía los espermatozoides del gallo durante los procesos de congelación y descongelación. Inicialmente este método no tuvo éxito con los espermatozoides de mamíferos. Sin embargo, encontraron que si se permitía a la mezcla de espermatozoides con glicerol permanecer sin proceso por una noche antes de la congelación, el método funcionaba (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

A este periodo se le conoce en la actualidad como de equilibrio y en este tiempo los espermatozoides absorben parte del glicerol para reemplazar cierta cantidad de agua en la célula. El glicerol actúa como anticongelante para evitar la formación de cristales de agua durante la congelación. Estos investigadores utilizaron hielo seco como refrigerante y almacenaron los espermatozoides a -79°C (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

En 1957, el Servicio de Reproductores Americanos inició el uso de nitrógeno líquido como refrigerante para la congelación y almacenaje de semen (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

La Corporación Lende fabricó grandes tanques al vacío de acero inoxidable. Esto hizo práctico el transporte de semen a largas distancias y su almacenamiento en la granja. Los tanques disponibles en la actualidad necesitan ser rellenados de nitrógeno líquido sólo cada 60 ó 90 días (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

El Centro de Procesamiento de Registros de la Leche de la USDA empezó a recopilar y publicar resúmenes sobre progenitores en 1961, los cuales ayudaron a evaluar el potencial genético de dichos progenitores. Antes de esa fecha, algunos estados y cada semental en particular tenían su propio procedimiento de recopilación de información genética (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

La introducción de la pipeta, que es un tubo de plástico de menor diámetro y que sirve para almacenar el semen en congelación, no es el último capítulo en la historia de la inseminación artificial, pero probablemente sí sea el último desarrollo de importancia.

Sorensen introdujo el uso de las pipetas de plástico para el almacenamiento de semen, en 1940. Los informes sobre semen congelado en pajillas, por Pares en 1953 y más tarde por Friis Lakobson en 1956, con algunas mejoras de Adler en 1959 y en 1961, han creado el suficiente interés como para mantener activos a los investigadores.

Se da crédito a los Cassous de L' Aigle, padre e hijo, en Francia, por el desarrollo de pipetas para la aplicación en tres etapas. La primera fue en 1964, con 1.2 ml. de semen, y mostraba una alentadora mejora con respecto a la ampollita de vidrio de 1 ml. Al darse cuenta que el coeficiente de congelación de la superficie era el principal factor que determinaba la supervivencia, los Cassous cambiaron la pipeta por una de la mitad del diámetro, y con capacidad de 0.5 ml (Bearden y Fuquay, 1982).

Esta pipeta dio excelentes resultados y se le ha llamado "pipeta intermedia". Es el tipo de pipeta que se usa casi exclusivamente en Estados Unidos. Los Cassous desarrollaron en 1968 una pipeta aún más pequeña, con capacidad de 0.25 ml, lo que significó un mejoramiento de la supervivencia de los espermatozoides. A esta pipeta se le llamó la "minipipeta" (Bearden y Fuquay, 1982; Salomón, 1990)

Las organizaciones y los investigadores sobre inseminación artificial en Estados Unidos empezaron a realizar algunas pruebas con esa pipeta a finales de la década de 1960. Estas organizaciones cambiaron de ampollitas de vidrio a pipetas, alrededor de 1972. La mayor parte del semen que se produce en

Estados Unidos se almacena en pipetas. Además de lograr una mayor supervivencia de espermatozoides, las pipetas requieren sólo un tercio del espacio para almacenamiento.

Esto ha hecho que se rediseñen los tanques de almacenamiento de nitrógeno líquido logrando unidades únicas de campo que requieren menos nitrógeno y retienen por más tiempo el nitrógeno. La congelación de semen de verraco se hizo una realidad en 1975 (Bearden y Fuquay, 1982; Foote, 2002).

III.- VENTAJAS DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

3.1.- Mejora genética

Los ganaderos, por lo general, están muy interesados en el mejorar las producciones de sus rebaños y para ello seleccionan los animales de calidad superior. Como un macho produce más crías que una hembra se hace especial hincapié en la selección de aquellos (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991; Hafez y Hafez, 2000; Foote, 2002).

La utilización de sementales superiores puede tener un beneficio directo sobre la producción de la progenie resultante y esto puede que sea todo lo que el ganadero precise. También existe un efecto a más largo plazo sobre la producción de las generaciones futuras si esos programas se continúan. Naturalmente, los progresos genéticos se aceleran al utilizar sementales mas superiores siempre y cuando se evite el que aparezcan problemas de consaguinidad (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991; Hafez y Hafez, 2000; Foote, 2002).

Con el uso de la inseminación artificial se puede incrementar el número de crías por semental al año. Utilizando un sistema de cruce convencional, en un rebaño normal puede cubrir de 50 a 100 hembras por año. Cuando se utiliza semen fresco diluido, con inseminación cervical, un semental de ovino o caprino puede ser utilizado para inseminar más de 1000 hembras en un

periodo de 2-3 semanas (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Hafez y Hafez, 2000; Foote, 2002).

Depositando intrauterinamente semen conservado mediante congelación se pueden inseminar bastantes ovejas con el semen recogido de un sólo semental, en un año. Aunque se tenga en cuenta la baja de fertilidad que se observa, en ocasiones, utilizando inseminación artificial, el número de crías por semental supera con creces al que se obtiene mediante la inseminación natural (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Hafez y Hafez, 2000; Foote, 2002).

Otro uso de la inseminación artificial es el cruzar nuevas estirpes o genotipos de animales. Un ejemplo de esto es el uso de sementales de Angora en rebaños de cabras salvajes. Esto se obtiene por cruce de cada generación de hembras con sementales de pura raza Angora. La utilización de sementales destacados tiene un campo de aplicación más amplio con la inseminación artificial permite un uso más amplio de sementales selectos con el propósito a los requisitos del mercado (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Hafez y Hafez, 2000; Foote, 2002).



IMAGEN 1.- Hato iniciando con mejoramiento genético

3.2.- Fácil transporte de material genético

A menudo, los criadores desean introducir sangre nueva en sus rebaños y el transportar el semen es mucho más barato que transportar a los sementales y, de esta forma, se evita también el riesgo de extender posibles enfermedades. La inseminación artificial ha posibilitado la importación de nuevos genes, procedentes de otros continentes, a países que no permiten la entrada de animales vivos.

Es suma, la inseminación artificial ha hecho posible el intercambio internacional de semen. La utilización de semen congelado ha facilitado, también la operación de producción cooperativa y el uso de esquemas de sementales de referencia por cuanto los mejores sementales, de esta forma, pueden mantenerse en los centros de reproducción desde los cuales se envía el semen a los dueños de los rebaños. . (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991; Hafez y Hafez, 2000).

3.3.- Conservación prolongada de semen

El semen procedente de sementales valiosos se puede conservar para utilizarlo en años venideros, incluso después de muerto aquel. Algunos ganaderos conservan el semen de sus mejores sementales para prevenir el trastorno que ocasionaría una muerte temprana de los mismos. Los bancos de semen se pueden utilizar también para conservar semen control en los programas de selección a largo plazo. En este caso, el semen se conserva para uso futuro. Con lo que los animales producidos después de varios años de selección se pueden comprar con los animales básicos como monitores de los progresos genéticos (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991; Hafez y Hafez, 2000).

3.4.- Aumento de la eficacia reproductiva

Los carneros subfértiles pueden identificarse con facilidad y eliminarlos del grupo de sementales. La inseminación artificial puede asegurar el que se inseminen todas las hembras, evitándose así problemas relacionados con las preferencias macho-hembra que a menudo se manifiestan en algunos estros de hembras. Si se utilizan inseminaciones secuenciales, las hembras podrán cubrirse así cuando no presenten comportamiento estral (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Hafez y Hafez, 2000).

3.5.- Reducción o eliminación de sementales de la ganadería

Los pequeños ganaderos no precisan mantener sementales en sus explotaciones siempre que puedan obtener el semen de otros lugares. El costo y los inconvenientes de mantener los sementales quedan eliminados. Por otro lado, existen razones de tipo estético ya que en los rebaños de cabras no es necesario mantener a los machos malolientes, sobre todo en aquellos rebaños que estén próximos a zonas urbanas (Salamón, 1990; Hafez y Hafez, 2000).

3.6.- Prevención y control de enfermedades

La inseminación artificial elimina el contacto directo macho-hembra con lo que se controla o previene el propagar enfermedades venéreas u otras enfermedades. Es conveniente advertir que la inseminación artificial es una medida profiláctica, pero no curativa, de la enfermedad (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Hafez y Hafez, 2000).

3.7.- Utilización de machos incapacitados

En muchas ocasiones machos de estimable valor no pueden ser utilizados para cubrir por sufrir lesiones o por razones de edad. Si su semen es de calidad

suficiente con la inseminación artificial se pueden seguir utilizando (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Hafez y Hafez, 2000).

3.8.- Mantenimiento de registros seguros

La utilización de la inseminación artificial permite mantener unos registros de reproducción muy seguros. Estos registros se pueden utilizar para aumentar la seguridad de la selección o para eliminar caracteres indeseables en un rebaño (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Hafez y Hafez, 2000).

IV.- DESVENTAJAS DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

4.1.- Consanguinidad

Cuando la intensidad de la selección es muy alta pueden surgir problemas de consanguinidad. De hecho en la industria lechera, ha sucedido lo contrario. La utilización de inseminación artificial ha permitido el uso de más machos, sin parentesco con lo que el nivel de consanguinidad ha descendido.

La naturaleza extensiva de las ovejas y las cabras nos asegura del mantenimiento de una gran masa genética con lo que es poco probable que la consanguinidad sea un problema. A pesar de todo, se debe poner especial atención cuando se utilice la inseminación artificial en rebaños pequeños y/o próximos desde el punto de vista del parentesco (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Noakes y Pearson, 1991; Hafez y Hafez, 2000).

4.2.- Reproducción insegura

Cuando se emplee la inseminación artificial existen 2 posibilidades de inseguridad: 1) cuando se utilice semen fresco o congelado de sementales individuales y no se haya puesto especial atención a su etiquetado pueden surgir errores accidentales, sobre todo cuando se utilicen simultáneamente varios sementales, y 2) cuando el valor de los sementales se ha sobrestimado o determinado incorrectamente. Esto nos puede acarrear más pérdidas que ganancias. El uso de sementales con defectos inapreciables puede producir una rápida propagación de tales defectos (Salamón, 1990).

4.3.- Propagación de enfermedades

Si los sementales no han sido controlados en lo que a enfermedades venéreas se refiere la inseminación artificial puede extender la enfermedad más rápidamente que la inseminación natural (Salamón, 1990; Hafez y Hafez, 2000).

4.4.- Fertilidad reducida

En comparación con la inseminación natural, la inseminación artificial puede, bajo ciertas circunstancias, reducir la fertilidad, particularmente cuando no se empleen, apropiadamente, métodos de controlar el estío o en casos de poco cuidado por parte del personal auxiliar o por negligencias cuando se maneje el semen (Salamón, 1990).

4.5.- Costos

Como con cualquier otra tecnología, han de tenerse en cuenta los costos a la hora de utilizar la inseminación artificial. Entre los costos se incluyen el empleo de los técnicos, equipo, fármacos y hormonas, registros y la compra de semen o selección y mantenimiento de sementales (Salamón, 1990).

V.- PREPARACIÓN DE LAS HEMBRAS PARA LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

Varias semanas antes de que comience un programa de inseminación artificial se debe poner especial atención al estado de las hembras y su preparación para la inseminación. El éxito del programa depende de la fertilidad de las hembras así como de la calidad del semen utilizado en la inseminación (BonDurant, 1979; Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991; Noakes y Pearson, 1991; Hafez y Hafez, 2000).

La inseminación artificial sólo tendrá éxito si se practica en un determinado tiempo, con relación a la ovulación, o la aparición del estro. Por ello es necesario detectar el estro en las hembras que naturalmente sean cíclicas y controlar o sincronizar, el estro con el fin de que aparezca en un tiempo predeterminado. Algunos de los métodos de sincronización del estro están relacionados con un cierto descenso de la fertilidad y algunos son costosos en términos de material o laboriosidad; por ello, tiene ciertas ventajas el detectar el estro por métodos naturales.

Sin embargo, la sincronización de estro tiene la ventaja de acortar el tiempo necesario para inseminar a rebaños enteros y facilitar el manejo durante la gestación y el parto. Por otro lado, el control del estro hace posible el estímulo de la ovulación artificialmente, incrementándose la fertilidad (numero de hembras que conciben) y la fecundidad (numero de crías por hembra) (Quezada *et al.*, 2004; Jiménez *et al.*, 2004).

Cuando se utilizan gonadotropinas exógenas para estimular la ovulación existe la ventaja adicional de que el tiempo en el que ocurre la ovulación disminuye, esto es, el tratamiento aumenta la sincronía de la ovulación y de ahí el éxito de las inseminaciones a tiempo fijo. La estimulación del estro y ovulación pueden también ser efectivo en la estación no reproductiva, permitiéndose la reproducción fuera de estación (Salamón, 1990).

VI.- EPOCA DEL AÑO PARA PRACTICAR LA INSEMINACION

Las ovejas y las cabras suelen ser juntadas o inseminadas durante la época natural de reproducción. Sin embargo, cuando se induce el estro y la ovulación las ovejas se pueden inseminar en cualquier época del año, siempre y cuando se disponga de semen de calidad suficiente. Para obtener semen fresco de buena calidad en época no reproductiva hay que acudir a los rebaños que presenten menos estacionalidad y en algunos es imposible tenerlo. No obstante, se puede recoger semen de buena calidad en la estación reproductiva y conservarlo congelado, para su posterior uso (BonDurant, 1979; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991; Noakes y Pearson, 1991; Cambell *et al.*, 1996; Jiménez *et al.*, 2004).

VII.- SELECCION Y PREPARACION DE LOS MACHOS PARA LOS PROGRAMAS DE INSEMINACION ARTIFICIAL

El objetivo de un programa de inseminación artificial para ovejas es mejorar las características de producción, principalmente la cantidad o calidad de la lana o pelo, leche o carne. La consecución de este objetivo depende de la capacidad reproductora de los sementales que se utilicen. Una estimulación del valor de un semental puede sacarse de su propia producción y de las descendencias que haya tenido, comparándolas con sus contemporáneos. Se debe poner especial atención al seleccionar los sementales para los programas de inseminación artificial. Los productores deben ser genéticamente mejores que sus congéneres.

Aparte de los criterios genéticos existen otros factores que se deben considerar al seleccionar los machos para un programa de inseminación artificial. Entre estos encontramos el estado de salud y el buen estado de carnes, sin engarzamiento. No deben padecer ningún tipo de enfermedad. Los machos, particularmente los recién comprados o introducidos en el rebaño, se deben someter a un examen físico y controlar su estado de salud con el fin de asegurarnos que esté exento de anomalías o enfermedades (Bearden y Fuquay, 1982; De Alba, 1985; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991; Wallance, 1992; Smith y Sherman, 1994; Hafez y Hafez, 2000).

También se deben examinar los órganos reproductores poniendo especial atención en el tamaño y forma de los testículos y epidídimos, órganos que pueden ser palpados a través del escroto. Los testículos deben ser firmes y elásticos, carentes de lesiones y deformidades y moverse libremente dentro del saco escrotal. La cola del epidídimo se debe palpar con facilidad y tener igual tamaño y forma en ambos testículos. Si alguna parte del epidídimo se encuentra endurecida o alargada se debe sospechar la existencia de epididimitis.

También se debe poner atención a la integridad del conducto deferente, en el cuello del escroto, debe estar duro y fácilmente palpable. Finalmente, también se deben inspeccionar las posibles anomalías en prepucio, pene y, particularmente, en el proceso uretral, que puede lesionarse fácilmente al expulsarse algún cálculo urinario. Los animales con defectos, tales como criptorquidismo, hipoplasia testicular, espermiostasis o varicoceles (dilatación de la vena espermática) deben ser excluidos de los programas de inseminación.

Una cuestión que a menudo se olvida al seleccionar los sementales es su capacidad de servicio y su vigor sexual, que se puede controlar mediante una prueba de servicio, en la que el macho se expone a una serie de hembras en estro. La falta de voluntad a montarlas puede que sea debida a un trauma físico, posiblemente como causa de artritis, mal de pezuñas o lesiones en el pene. Por otra parte, los machos difieren en cuanto a su temperamento y conducta sexual, lo que, sin duda, afecta a su capacidad de servicio.

Es importante que el macho seleccionado posea semen de buena calidad y en cantidad. Este factor se debe controlar inmediatamente antes de comenzar el programa de inseminación artificial, aun cuando se haya controlado anteriormente, por ejemplo, antes de comprarlo (BonDurant, 1979; Bearden y Fuquay, 1982; De Alba, 1985; Maxwell, 1986; Haibel, 1990; Salamón, 1990; Cambell *et al.*, 1996; Ishwar y Momon, 1996).

VIII.- PREPARACIÓN DE LOS MACHOS

Los machos pueden mostrar esterilidad transitoria como consecuencia de condiciones estresantes, por ejemplo, altas temperaturas o humedad, cambio de ambiente o de dieta, molestias por las moscas, enfermedades y otros factores. Por ello, se recomiendan tratamientos adecuados, unas 6-8 semanas antes del comienzo de los programas de inseminación. Adviértase que muchos de los manejos rutinarios que reciben los machos pueden causar estrés como, por ejemplo, el recortar las pezuñas, administrar purgantes, esquileo y baño.

Se ha demostrado que las raciones con alto contenido en proteína pueden incrementar la producción de espermatozoides por el testículo y al no ser que se trate de machos en óptimas condiciones, se aconseja mejorar las raciones unas 6-8 semanas antes de comenzar la colección del semen. Los suplementos nutritivos se suelen administrar en el campo, aunque si se les administra en los cobijos puede que se familiaricen con otros ambientes, buenos desde el punto de vista de la adaptación para recoger el semen (Salamón, 1990).

Por ello, se aconseja planear los programas de inseminación coincidiendo con la estación reproductiva natural. Si se precisa utilizar semen fuera de estación y conservarlo congelado hasta precisarlo. Se han realizado varios intentos de manipular la estación reproductiva de los machos utilizando luz artificial. Estos métodos han obtenido algunos éxitos, pero en la práctica son impredecibles y no se logra mantener un alto nivel de calidad del semen, a lo largo del año (BonDurant, 1979; De Alba, 1985; Salamón, 1990; Haibel, 1990).

IX.- ENTRENAMIENTO DE LOS MACHOS PARA LA RECOLECCION DE SEMEN

El método preferido es el de recoger el semen mediante la vagina artificial. Los carneros seleccionados, deben de ser entrenados para eyacular dentro de la vagina artificial, comenzando unas 2-3 semanas antes del inicio del programa de inseminación. Con esto se permite un amplio margen para el entrenamiento, se asegura una buena calidad del semen y, quizá, se pueden reemplazar los sementales que no satisfagan nuestras necesidades. El entrenamiento es mejor hacerlo durante la estación reproductiva, cuando el deseo sexual es más manifiesto y cuando se dispone de hembras en estro que sirven como maniqués. Una vez entrenados a eyacular en la vagina artificial, los machos reaprenden rápidamente cuando son requeridos en el futuro para recolectar semen de nuevo (Salamón, 1990; Bearden y Fuquay, 1982; De Alba, 1985; BonDurant, 1979; Chemineau *et al.*, 1991).

El entrenamiento consiste en desarrollar y reforzar los reflejos condicionados del semental para servir a una hembra, en un recinto cerrado y en presencia de una persona. Al mismo tiempo esta persona llegará a familiarizarse con el temperamento y conducta de los sementales.

A menudo la recogida de semen se suele hacer en el cobertizo de esquila, aunque cualquier lugar cubierto puede ser bueno para realizarla. El cobertizo debe tener espacio suficiente y lugar para situar la hembra maniquí y que el personal pueda desenvolverse cómodamente. La visión así como el olfato, son muy importantes en el estímulo sexual, con lo que es importante que el entrenamiento de los machos se haga de tal forma que puedan ver a la hembra e incluso que vean como la montan otros machos.

Para los propósitos del entrenamiento se precisa una hembra en estro, que puede ser cualquiera de las señaladas por los recelas en el rebaño o que presente estro sincronizado. Alternativamente, el estro se puede inducir en hembras por la inyección intramuscular de 50 mg. de benzoato de estradiol en 1-2 ml. de aceite de cacahuate. Las hembras tratadas mostrarán síntomas de estro a los 1-2 días, pero el tratamiento no debe persistir más de 5 días. Una vez los carneros y machos cabríos estén entrenados, las hembras maniquís no

necesitan estar en estro, ya que los sementales están condicionados a montar a cualquier hembra que esté colocada en el aparato sujetador del cobertizo. Es aconsejable seleccionar hembras maniquís apacibles, ya que los machos pueden distraerse por aquellas hembras que no se estén completamente quietas (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Arthur *et al.*, 1991; Chemineau *et al.*, 1991; Wallance, 1992; Cambell *et al.*, 1996; Ishwar y Momon, 1996).

X.- RECOLECCION DEL SEMEN

10.1.- Recolección de semen por vagina artificial

La vagina artificial es una imitación de la vagina de la oveja, que proporciona el estímulo térmico y mecánico para la erección del pene del macho y que son, igualmente, necesarios para producir la eyaculación.

La vagina artificial utilizada para carneros es similar a la usada para toros. Consiste de una caperuza externa (de 20 x 5,5 cm. para el carnero y 15 x 5,5 cm. para el macho cabrío) fabricada con goma fuerte, plástico u otro material sintético que tenga propiedades aislantes, y un conducto interno fabricado de goma o material sintético apropiado. El tamaño de la vagina artificial está en relación con la longitud del pene, el del macho cabrío es mas corto. El conducto interno suele tener unos 2-3 cm. más que la caperuza externa con el fin de poderse plegar sobre ésta, sujetándolo con sendas bandas de goma, para formar una especie de depósito para el agua.

La vagina deberá estar limpia, seca y estéril, una misma vagina, sin limpiar, no se debe utilizar para distintas recogidas de semen. Después de cada uso se debe lavar, enjuagar con agua destilada y secarla profundamente; si se pasa, por el interior, una delgada película de alcohol al 70% en agua destilada, se secará, luego, mejor. A continuación se llena la mitad del depósito con agua a 48-50°, a través del tampón colocado en el lateral y con la ayuda de un embudo o jeringa de 100 ml (el calor del agua contribuirá a evaporar el alcohol). Si se llena demasiado de agua, se saldrá, cuando se deje la vagina en posición vertical. Evitar, en todo momento, que el agua penetre en el tubo interno ya que

puede ser la causa de mortalidad de los espermatozoides (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Arthur *et al.*, 1991; Chemineau *et al.*, 1991; Wallance, 1992; Cambell *et al.*, 1996; Ishwar y Momon, 1996).

Uno de los extremos del conducto interno se debe lubricar ligeramente con vaselina, en una extensión de no más de 3 cm. utilizando una varilla de plástico o de vidrio. En el otro extremo se debe colocar el tubo de vidrio estéril y calibrado, para recoger el semen, insertándolo 1,5-2,0 cm. Mientras se coloca el tubo se debe insuflar aire, por el extremo abierto, y luego se cierra, todo ello con el fin de que el tubo quede perfectamente acoplado. La insuflación debe ser de tal magnitud que ejerza presión pero que permita una fácil penetración del pene. La presión óptima para algunos machos sólo puede conocerse a través de la experiencia (Salamón, 1990).

La temperatura de la vagina artificial, inmediatamente antes de recoger el semen, deberá ser de 42-45 °C, lo que se puede controlar mediante la inserción de un termómetro limpio. Si la vagina se encuentra demasiado fría, se debe rellenar con agua más caliente, que la que se utilizó con anterioridad. Con el fin de evitar el shock por frío, de los espermatozoides, los vidrios de recolección se deben calentar a 30-37 °C. En los climas fríos, donde sea difícil mantener la temperatura de la vagina a 42-45°C, puede calentarse, durante un corto tiempo, en una estufa de cultivo a 37 ° C antes de añadir al agua. Sin embargo, la exposición prolongada a estas temperaturas, producirá cierto deterioro del tubo interior (Rishen y Rise, 1999).

El semen se debe recoger en un ambiente libre de polvo. Antes de la recogida de semen, se debe limpiar, cuidadosamente, el prepucio del macho, para evitar cualquier contaminación de aquel.

Los movimientos vigorosos hacia arriba y hacia delante significan que se ha producido la eyaculación. Se debe dejar que el macho retire el pene de la vagina antes de intentar retirar esta (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

Inmediatamente después de la recogida la vagina se cambia de posición, quedando el tubo de vidrio en la parte inferior, a la vez que se sujeta este con la mano. Se quita la presión al abrir la espita, teniendo la precaución de que no salpique agua cerca del tubo de recogida de semen. Luego se quita el polvo, se

etiqueta, se tapa y se coloca en un baño a 30 °C (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

10.2.- Recolección de semen por estímulo eléctrico

Existen diferentes tipos de estimuladores eléctricos, los mas corrientes son los que tienen un electrodo bipolar para el recto. El aparato mas comúnmente utilizado, en Australia y Nueva Zelanda, es el Ruakura Ram Probe. Se trata de un estimulador accionado por baterías que proporciona una salida de 10 ó 15 voltios. Cuando el recto del macho está seco se recomienda utilizar los 15 voltios. Experimentalmente se ha utilizado estimuladores más automáticos (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).

Para la colección de semen, el macho se debe colocar en decúbito lateral, sobre una mesa o en el suelo, siempre que esté limpio. Se deben cortar el pelo o lana que bordee la vaina y el prepucio se debe limpiar correctamente. La sonda se humedece o lubrica con vaselina y se inserta en el recto a una profundidad de 15-20 cm. procurando no lesionar la mucosa (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).

El pene se debe extender por enderezamiento de la flexura sigmoidea de tal forma que el glande del pene se pueda sujetar con la mano, limpia, y liberar el pene del prepucio. Por detrás del glande se coloca una pieza de gasa y se introduce el glande y el proceso uretral en un tubo de ensayo estéril. Lo mejor es sujetar el pene y el tubo de ensayo con la misma mano dejando la otra libre para dar masaje en el pene en dirección hacia delante entre para cada estímulo eléctrico (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).

Un ayudante debe presionar sobre la sonda hacia el suelo de la pelvis, aplicándose luego cortos estímulos (3-8 segundos) a intervalos de 15-20 segundos. Después de unos cuantos estímulos fluirá la secreción de las glándulas accesorias y luego el semen. Cuando se obtenga inicialmente grandes cantidades de líquido claro, se deben desechar para evitar diluciones innecesarias del semen (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).

Existe una amplia variedad entre los estímulos que necesitan los diferentes sementales hasta producir un eyaculado satisfactorio. Sin embargo, si se exceptúa lo poco confortable que debe resultar y las contracciones musculares que aparecen al aplicar la corriente, no existen efectos nocivos achacables a esta técnica (Bearden y Fuquay 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).

XI.- MANEJO Y VALORACION DEL SEMEN

11.1- Dilución del semen

La dilución del semen se realiza por razones técnicas y biológicas.

11.2.- Razones técnicas

Una de las mayores ventajas del uso de la inseminación artificial es que los sementales de gran valor pueden utilizarse para inseminar muchas más hembras que las que podrían cubrir por monta natural. En la inseminación natural el carnero deposita miles de millones de espermatozoides en la vagina de la hembra.

Sin embargo, de ese gran número solamente unos 100-140 millones atraviesan el cérvix. Cuando se utiliza la inseminación artificial en ovejas, tanto el volumen de inseminación como el número de espermatozoides que contiene se deducen sustancialmente al compararlo con la inseminación natural. El límite inferior, generalmente aceptado como resultante de un buen índice de fertilización, tras la inseminación artificial cervical, es de 100 millones de espermatozoides por dosis inseminada. De esta forma se puede inseminar un gran número de hembras con un eyaculado (Bearden y Fuquay 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).

Un volumen adecuado para utilizar tanto en inseminación cervical como intrauterina es el de 0,05-0,20-0,5 ml; para inseminación vaginal se debe

utilizar un volumen mayor. El disminuir el volumen de inseminado, por debajo de 0,05 ml, no es práctico dada la dificultad de manejar y depositar, cantidades tan pequeñas, en la cérvix o útero de la cabra. Si se utilizara semen sin diluir, este volumen contendría un número de espermatozoides. El problema es reducir el número de espermatozoides a la dosis requerida, manteniendo un superior al límite mínimo de seguridad, lo que resultaría en un método poco económico.

Volumen adecuado, se soluciona mediante la dilución de semen (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).

11.3.- Razones biológicas

Los diluyentes apropiados proporcionan a los espermatozoides nutrientes, sistema amortiguador a los cambios de pH y un ambiente isotónico. Además, protegen a los espermatozoides del shock por frío cuando se enfrían y conservan así o contra las injurias de la congelación cuando se congela el semen (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).

XII.- DILUYENTES PARA UTILIZAR SEMEN EN FRESCO

Los medios más comúnmente usados para diluir el semen de carnero y, que se vaya a utilizar en fresco se clasifican en sintéticos o naturales.

12.1.- Diluyentes sintéticos

Los diluyentes sintéticos más comúnmente usados para diluir semen de carnero, para inseminación artificial vaginal o cervical, contienen como amortiguador el tris o citrato, glucosa o fructosa como fuente de energía y yema de huevo para proteger a la membrana del espermatozoide contra el shock por frío (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

Estos diluyentes también se utilizan para el semen del macho cabrío, aunque con menor cantidad de yema de huevo, para evitar que se ponga de manifiesto

una reacción enzimática, como consecuencia de que coagula la yema de huevo. La concentración de la enzima varía entre los diferentes machos cabríos y es más alta cuando se obtiene el semen mediante electroeyaculación.

El problema se puede resolver por: 1) utilizando menor concentración de yema de huevo en el diluyente, 2) utilizando un medio que no contenga yema de huevo (leche) y, 3) descartando el plasma del semen por centrifugación, con lo que se eliminará la enzima (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

12.2.- Diluyentes para utilizar en inseminación artificial intrauterina (quirúrgica)

Cuando en los programas de transferencia de embriones, se deban inseminar ovejas directamente en el útero, con espermatozoides frescos, se recomienda utilizar como diluyente, a fin de aumentar el volumen real de semen fresco, solución salina de fosfato tamponada (PBS), con antibióticos, una forma comercial de este diluyente es el Dulbecco PBS, a la que se recomienda adicionar 1.000 UI de penicilina G sódica y 1 mg de sulfato de estreptomicina por ml de solución. Si el diluyente se adquiere en forma de polvo se debe reconstituir, con mucho cuidado, con agua destilada y esterilizar haciendo pasar por un filtro m (Bearden y Fuquay, 1982; μ de 0.22 Salamón, 1990).

12.3.- Diluyente natural

En condiciones de campo el diluyente del semen más fácilmente aceptable es la leche de vaca, que se puede utilizar tanto entera como descremada o en polvo para reconstituir, siempre que se vaya a proceder a la inseminación artificial cervical o vaginal. En algunos lugares también se utiliza leche UHT (tratada a temperatura muy alta), que tiene la propiedad de conservarse mejor. Este producto es estéril, no precisa esterilización y, a diferencia de otras formas de leche, se puede utilizar directamente como diluyente. Sólo se precisa abrir

cada día un nuevo envase de leche UHT (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón 1990; Arthur *et al.*, 1991).

Si se utiliza leche completa, descremada o en polvo se debe calentar a 92-95 °C, en baño de agua, durante 8-10 minutos, para inactivar los factores tóxicos de su función proteica (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990)

XIII.- METODOS DE DILUCION

La dilución del semen se debe hacer tan pronto como se pueda una vez recolectado y analizado de forma rutinaria. Tanto el semen como el diluyente se colocan en baño de agua a 30 °C para que en el momento de la dilución tenga la misma temperatura. El diluyente se debe colocar en el baño antes que el semen (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

La dilución de diluyente frío al semen puede ocasionar el shock por el frío con la consiguiente reducción de la fertilidad. Para la dilución se debe utilizar una pipeta calibrada o la misma pipeta de inseminación unida a una jeringa de 1,0 ml. La pipeta que se utilice debe estar estéril y seca. La dilución se realiza pipetando una cantidad adecuada de diluyente y adicionándola lentamente al recipiente dónde se encuentre el semen. Siempre adicionar el diluyente al semen, nunca al contrario, ya que pueden alterarse los espermatozoides con lo que se reducirá su mortalidad. Después de adicionar el diluyente se agita todo convenientemente y se examina al microscopio para comprobar la mortalidad de los espermatozoides (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

XIV.- VOLUMENES DE INSEMINADO

El volumen de inseminado puede variar ligeramente dentro de ciertos límites. El límite inferior viene determinado por el volumen mínimo que se puede manejar convenientemente y con cierta seguridad.

El límite superior está determinado por la capacidad de órgano o lugar de la inseminación para retener el semen. Así, por ejemplo, la colocación de más de 0,2 ml de semen dentro del cérvix de la oveja no ofrece ninguna ventaja ya que

rebasaría dentro de la vagina (Tabla 1) (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

TABLA 1.- Volúmenes recomendados para la inseminación

| Técnica | Volumen |
|--|----------------|
| Para inseminación vaginal | 0.30-0.50 ml |
| Para inseminación cervical | 0.05-0.10 ml |
| Para inseminación intrauterina (Por cada cuerno) | 0.05-0.10 ml |

Fuente: Salamón, 1990.

XV.- EQUIPOS PARA LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

15.1.- Equipo para inseminación artificial vaginal o cervical

El equipo utilizado para la inseminación vaginal está formado simplemente por una pipeta de plástico rígido conectada a una jeringa de 1,0 ml. Es similar, en todos sus aspectos, al utilizado en inseminación cervical. Excepto que la punta es rígida (Bearden y Fuquay 1982; Salamón, 1990; Arthur *et al.*, 1991; Chemineau *et al.*, 1991).

El equipo básico para la inseminación cervical consiste de una lámpara de cabeza, un espéculo y una pipeta. El espéculo tipo pico de pato es preferible al tipo tubular ya que permite una mejor visibilidad y localización del cérvix y más fácil de limpiar (por dentro y por fuera). Algunos espéculos llevan lámpara incorporada. Sin embargo, es más práctico utilizar una lámpara que se coloca en la cabeza del técnico y que lleva una batería de 6 voltios (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Arthur *et al.*, 1991; Chemineau *et al.*, 1991).

Para la inseminación cervical se utilizan varios tipos de pipetas o pistolas de inseminación, pero las más populares son las pipetas de un sólo uso, de plástico, que están fabricadas con plástico robusto interno de 2,5 mm, mientras que el extremo es de 5,5 mm, para utilizar en ovejas, la punta 1 cm. está

ligeramente doblada en un ángulo de 30°; estas pipetas también se pueden utilizar en la cabra, aunque la penetración en cérvix suele ser más fácil si no están dobladas por la punta. El extremo opuesto se conecta a una jeringa de 10 ml y cada vez que se accionan sólo pueden liberar una dosis (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Arthur *et al.*, 1991; Chemineau *et al.*, 1991).

Los aparatos de inseminación semi-automáticos no suelen utilizarse por su dificultad en limpiarlos y porque es difícil de mantener la temperatura ideal del semen, en ellos, antes de practicar la inseminación. Para la aplicación de semen contenido en pajuelas (en forma líquida o congelada) se utiliza un aparato llamado pistola de inseminación o pistoleta (Bearden y Fuquay, 1982; Salomón, 1990; Arthur *et al.*, 1991; Chemineau *et al.*, 1991; Guayanés, 1992; Cambell *et al.*, 1996; Ishwar y Momon, 1996).

15.2.- Equipo para inseminación artificial intrauterina

Está formado por un telescopio, dos equipos de trocar-cánula, uno para el telescopio con una conducción de gas y llave de dos vías para este y el otro para la pipeta de inseminación 5 mm con la válvula del gas quitada; una fuente de luz y cable de fibra óptica; una bomba de gas (dióxido de carbono o aire) con regulador y una línea de conducción de ese gas (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

Las pipetas de inseminación pueden ser de vidrio o de plástico. Tienen un diámetro interno de 2 mm, el externo es de 4,5 mm y tienen unos 30 cm. de longitud. Si se utilizan pipetas de vidrio deben tener un diámetro externo de 0,04 mm. superior. Las pipetas de plástico van provistas de una aguja hipodérmica de 5 mm, calibre 24. El otro extremo de la pipeta se une a una jeringa de 10 ml para permitir la aspiración y expulsión de semen (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

XVI.- DESCONGELACION DE LAS PAJILLAS DE SEMEN

El semen de carnero congelado en pajillas se puede descongelar retirando las pajillas del nitrógeno líquido y metiéndolas en agua a 37 °C durante 2-3 minutos. Las pajillas, una vez descongelada, se seca y corta por un extremo. Las pajillas deben usarse en los siguientes 15 minutos y después se coloca en la pistola diseñada para estas especies.

XVII.- SUJECION DE OVEJAS

La inseminación debe practicarse en un lugar dónde existan varios apartaderos o rediles para facilitar el manejo de las hembras en grupo. También es aconsejable disponer de un redil para guardar las hembras inseminadas. Las ovejas deben sujetarse y presentarlas para la inseminación de tal forma que se haga en el menor tiempo posible y con el mínimo de trabajo, sin que se produzca estrés innecesario en los animales y que permita la rápida y fácil localización del lugar de la inseminación para la deposición del semen.

El método de sujetar las hembras dependerá de las disponibilidades que se tengan y del método de inseminación que se vaya a utilizar. En la práctica, cuando mejor sea el método de sujetar y presentar la hembra para la inseminación mayor será el número de animales inseminados (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991; Hafez y Hafez, 2000).

17.1.- Sujeción de hembras para inseminación vaginal o cervical

Para inseminación vaginal, el mejor sistema para sujetar a las hembras es en posición de pie, empujando contra la pared del propio cercado o redil. El método que permite una presentación más conveniente para la inseminación cervical de ovejas es el denominado sobre barrera, en el que el animal se inclina con la cabeza hacia abajo, colocando su parte posterior sobre la barrera del redil. Para las cabras puede ser más conveniente utilizar un redil adecuado si es difícil confinarlas en un corral. Una caja de embalaje portátil puede ser útil

para cabras, para cuando hay pocas ovejas que inseminar o cuando no se disponga de otros medios (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991).

El diseño de un corral de inseminación debe tener en cuenta la raza y tamaño de los animales. Se precisa de un corral más grande y una barra más alta para las hembras de raza más grande. Como norma general, una altura conveniente de la barra, para utilizarla en ovejas, puede ser de 85-90 cm. con un ancho de 60-65 cm. y una longitud de 6-8 metros para un total de 15-25 ovejas (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991).

Este tipo de corral se puede construir a nivel del suelo o algo más elevado, a conveniencia del inseminador. En este caso la elevación de los primeros travesaños no debe ser superior a los 50 cm. La posición deberá ser tal que la luz de las ventanas no se proyecte de frente del inseminador (Salamón 1990).

Las hembras para inseminación cervical son sujetadas por un ayudante que, desde el interior de este corral, mantiene los cuartos traseros sobre la barra del mismo mientras las patas delanteras quedan apoyadas en el suelo (Salamón, 1990).

17.2.- Sujeción de las hembras para inseminación intrauterina

Para practicar la laparoscopía a las ovejas se utiliza un carrillo especial. Este carrillo está provisto de elementos para sujetar las patas de los animales y de una especie de charnelas para poder elevar sus cuartos traseros. Es muy conveniente disponer de dos carrillos y mejor si están provistos de ruedas, pues así los animales pueden ser preparados para la inseminación en un área e inseminados en otra (Salamón, 1990).

XVIII.- INSEMINACION ARTIFICIAL

La inseminación de la oveja puede ser vaginal, cervical transcervical ó intrauterina. Los métodos difieren en cuanto a su complejidad y expectativas de éxito.

La inseminación vaginal es el método más simple y más rápido cuando se realiza semen fresco diluido pero requiere una dosis de semen generalmente mayor que si se utiliza alguno de los otros métodos (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; del Pino, 2000; Hafez y Hafez, 2000).

Aunque no se pueda recomendar de una forma general, la inseminación vaginal puede ser útil cuando el tiempo y las disponibilidades sean factores limitantes o para inseminar hembras vírgenes en las que la estrechez de la parte vestibular no permite la penetración del espéculo (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; del Pino, 2000; Hafez y Hafez, 2000).

El método más comúnmente utilizado para ovejas es la inseminación cervical utilizando semen fresco. Cuando se practica adecuadamente, la inseminación cervical de semen fresco o semen sin diluir da por resultado una alta fertilidad, comparable a la obtenida en rebaños con monta natural. Este es el método generalmente recomendado de inseminación cuando se utiliza semen fresco diluido o sin diluir (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; Hafez y Hafez, 2000).

El porcentaje de éxitos de la inseminación cervical utilizando semen de carnero congelado-descongelado ha sido relativamente bajo, pero se pueden obtener resultados satisfactorios al practicar la inseminación intrauterina que lleva implícito una cirugía menor (laparotomía exploratoria) (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; Hafez y Hafez, 2000).

En algunas cabras se puede practicar la inseminación intrauterina, vía cérvix. La inseminación intrauterina con semen fresco diluido se utiliza para inseminar hembras superovuladas en los programas de transferencia de embriones (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; Hafez y Hafez, 2000).

En la oveja, la inseminación cervical artificial a tiempo fijo resultados del estro hormona el transporte de espermatozoides ha reducido en la cérvix y disminuyó la fertilidad. Estos resultados están en contraste con la inseminación intrauterina que evita la cérvix y resultados en las proporciones de gestaciones altas e

indica eso durante inseminación artificial que la cérvix ovina no permite al pasaje libre de semen (Mitchell *et al.*, 2002).

Varios marcadores de inflamación, incluso, prostaglandinas y el interleucina 8 (IL-8) están presentes en la cérvix y es parte de la cascada inflamatoria que lleva a la contratación eventual de neutrofilos, descargo de la enzima y avería del tejido. Las respuestas inflamatorias ocurren el funcionando normal de varios órganos reproductores, incluso el ovario y el útero, así como la cérvix (Mitchell *et al.*, 2002).

La proporción de fertilización está sumamente alta en las ovejas después de la monta natural en un estro espontáneo, indicando una diferencia en la función cervical entre las ovejas inseminadas naturalmente y las ovejas inseminadas artificialmente (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; Hafez y Hafez, 2000).

La fertilidad del estro inducido por un progestágeno sólo o con gonadotropina es más bajo que en las ovejas cíclicas. Aumenta la fertilidad con las concentraciones mayores de progestágeno probablemente es el resultado del desarrollo folicular más apropiado, cronometrando la oleada de LH, y transporte de esperma, la proporción de ovulación es baja durante el anestro pero se aumentó por el eCG (gonadotropina coriónica equina) o por FSH al retiro del progestágeno (Knights *et al.*, 2001).

18.1.- Inseminación vaginal

La inseminación vaginal consiste en la deposición del semen fresco diluido dentro de la vagina anterior sin el uso del espéculo ni el intento de localizar el cérvix. Con frecuencia se hace referencia a esta técnica como disparo en la oscuridad (DELO o método SID shot in the dark por sus siglas en ingles) (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; del Pino, 2000; Hafez y Hafez, 2000).

Precisamente por los malos resultados obtenidos, esta técnica se reemplaza por la cervical y sólo se utiliza cuando la segunda es imposible de realizarse.

La vulva de la hembra se debe limpiar con un poco de algodón para evitar la contaminación de la vagina al introducir la pipeta, esta se carga primero con un poco de aire, hasta la división 0.2 ml, y luego con la dosis requerida de semen, cogida del tubo que se mantiene en baño a 30 °C. El aire tiene la misión de ayudar a que se expulse toda la cantidad de semen contenida en la jeringa.

La pipeta se debe introducir, con sumo cuidado, lo más lejos posible en la vagina, deslizando su punta por la parte superior de esta, evitándose así su introducción accidental en la uretra, que está en el piso de la vagina. Como por lo general no se utiliza espéculo, la introducción de la pipeta libre y tratando de mover de un lado a otro, con suavidad, la pipeta para que penetre mejor. Se aprieta, una vez en su sitio, el émbolo de la jeringa y se retira la pipeta (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; del Pino, 2000; Hafez y Hafez, 2000).

La pipeta de inseminación se puede utilizar varias veces siempre que se limpie concienzudamente, después de utilizarla. Si se contamina cualquier pipeta se debe desechar. Para asegurarnos de que las pipetas están limpias y secas adecuadamente y que no interfieran el proceso de la inseminación se debe encargar a una única persona de este cometido.

Es muy importante que el éxito de la inseminación no se vea empañado por prisas indebidas (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; del Pino, 2000; Hafez y Hafez, 2000).



IMAGEN 2.- Se muestra el momento del depósito de semen por vía vaginal

18.2.- Inseminación cervical

A la fecha es la práctica más comúnmente utilizada. La deposición del semen se realiza dentro de los primeros pliegues cervicales, los cuales son visibles con la ayuda de un espéculo con fuente de luz. El método, barato y relativamente fácil, regularmente utiliza semen fresco el cual puede o no ser refrigerado. La utilización de semen congelado ha resultado en rangos poco aceptables de fertilización, pudiendo ser de hasta 10-30% en ovejas.

En cabras el uso del semen congelado resulta en mayores tasas de concepciones (hasta 70%). Lo anterior probablemente refleja la diferencia en la profundidad de inseminación alcanzada en ambas especies (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991; Mejia y Hernández, 1996; del Pino, 2000; Hafez y Hafez, 2000).

La anatomía de la cervix permite una penetración completa dentro del cuerpo del útero en un 30-60% de las hembras adultas (con lo cual la técnica se convierte en una inseminación intrauterina no quirúrgica). Así, el rango de concepción se encuentra aparentemente correlacionado de una forma positiva con la profundidad de inseminación dentro del cervix, incrementándose aproximadamente un 10% por cada centímetro de avance (Bearden y Fuquay 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; del Pino, 2000).

La técnica cervical se convierte en intrauterina ó transcervical cuando se logra atravesar por completo el cuello del cervix y depositar el semen intrauterinamente. Recientemente, se ha evaluado una modificación en el método transcervical en ovejas. Dicha modificación implica la sujeción y retracción del cervix por la vagina con un par de pinzas para permitir introducción del instrumento inseminatorio en el canal cervical. En condiciones de prueba el tiempo recurrido para lograr la retracción del cervix y la penetración uterina suele ser, en promedio, de 2.6 minutos por oveja (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Chemineau *et al.*, 1991; Mejia y Hernández, 1996; Hafez y Hafez, 2000).

La utilización en campo de esta técnica es limitada, aun cuando se logran fertilidades aceptables. El procedimiento envuelve un alto grado de

manipulación y cualquier sangrado accidental de la vagina podría causar adherencias y comprometer la habilidad fuera de concebir naturalmente. Los resultados de concepción pueden ser tan bajos como 18% y tan buenos como 90%, sin embargo, no hay datos disponibles de su eficacia en usos repetidos (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; Hafez y Hafez, 2000).

Para la inseminación cervical se suele emplear la técnica de sobre la barra. La vulva de la hembra, se limpia con algodón. Los genitales externos suelen estar limpios, de todas formas la introducción del espéculo será más sencilla si el animal carece de pelo o lana en la región (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Hafez y Hafez, 2000).

Si se utiliza un espéculo tipo, pico de pato, se debe introducir en la vagina con las valvas cerradas y paralelo a los labios de la vulva. Se debe evitar el tratar de introducir el espéculo por fuerza, ya que esto puede ocasionar lesiones en los tejidos. Después de insertado unos 10-13 cm., el espéculo, puede rotar unos 90° (arriba o abajo) o abrir sus valvas. Se dirige, entonces, el haz de luz de la bombilla hacia la vagina anterior, a través del espéculo hacia los lados.

Las valvas del espéculo no deben permanecer abiertas mucho tiempo para evitar que molesten al animal. Si se hace difícil la colocación del cérvix, es aconsejable mover la postura de sujeción del animal (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Hafez y Hafez, 2000).

Algunas hembras, particularmente las que no son susceptibles de estrés o las que se manejan con poco cuidado, pueden orinar cuando se las coloca en posición de inseminar. Si la orina se acumula en la vagina se debe drenar de inmediato y lavar la vagina con solución salina, leche u otro diluyente o dejarla en recinto aparte para inseminarla más tarde (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; Hafez y Hafez, 2000).

La pipeta de inseminación debe ser cargada por un ayudante. Para realizar esto se tira del émbolo hasta la marca 0.2 ml y luego se introduce la punta de la pipeta en el tubo, inmerso en el baño a 30 °C, que contiene el semen y se aspira la cantidad necesaria (Salamón, 1990).

El inseminador intentará introducir la pipeta lo más profundamente posible dentro del cérvix, pero sin utilizar la fuerza. Si la pipeta penetra el cérvix, el semen puede depositarse dentro del útero al empujar el émbolo de la jeringa, esa retirada del espéculo permite el cierre de la vagina anterior lo que impide el reflujo del semen. Después de depositado el semen se retiran, primero la pipeta y luego el espéculo (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

La posición y forma de los pliegues de la entrada del cérvix varía considerablemente de unos animales a otros y en algunas hembras se puede introducir la pipeta dentro del cérvix manipulando, cuidadosamente, sus pliegues. La utilización de pipetas con la punta angulada ayuda a este proceder. Se necesita un tanto de práctica para localizar la cérvix e introducir la pipeta lo más profundamente posible.

En las cabras suele ser necesario introducir la pipeta como si se tratara de la rosca de un tornillo. Si no hay resistencia la penetración de la pipeta suele ser muy fácil, pero también habrá que tener cuidado, en estos casos, de no introducirla demasiado ya que se podría lesionar la pared del útero (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

Se ha demostrado, que cuanto más profundamente se deposite el semen mayor es el índice de fertilidad. En la oveja, con frecuencia es posible practicar la deposición de semen con más profundidad de 1 cm. en el canal cervical debido a la estructura anatómica del cérvix (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

Un método de inseminación artificial transcervical factible para la oveja debe incluir un método por cubrir con los desafíos anatómicos de la cérvix sin inducir el trauma. El método es incluir oxitocina (OT) el tratamiento indujo la dilatación cervical y disminuyó la dificultad de pasar un catéter a través de la cérvix y en el útero. A pesar de eso, hay varios factores desconocidos asociados con este tratamiento. Aunque la oxitocina no afectó la proporción de fertilización, los efectos de manipulación cervical o efectos del tratamiento global no se ha evaluado (Stellflug *et al.*, 2001).



IMAGEN 3.- Depósito del semen con ayuda de un espéculo con luz

18.3.- Inseminación intrauterina por laparotomía

Inicialmente, para depositar el semen directamente en el útero se realizaba una laparotomía media-ventral. Lo anterior hacía que la técnica sólo tuviera uso para propósito de investigación. El método se empezó a asociar con bajos índices de recuperación y sobrevivencia de embriones. Para 1982, se empezó a modificar la técnica y a realizarse mediante laparoscopia (Bearden y Fuquay, 1982; Maxwell, 1986; Salamón, 1990).

18.4.- Inseminación intrauterina por laparoscopia

La deposición del semen directamente dentro del lumen uterino, evitando la barrera natural del cérvix, ha mejorado de una forma radical la fertilidad. Se les suprime el agua y alimento por 12-16 horas, antes de practicar la operación esta medida reduce el contenido de la vejiga y el rúmen, lo que da por resultado una más fácil localización del útero y evita asimismo, la regurgitación del contenido ruminal durante la laparoscopia, se rasura y esteriliza la piel del área anterior de la ubre, se anestesia localmente en un espacio de 5-7 cm. delante de la ubre y 3-4 cm. de cada lado de esa línea (Bearden y Fuquay,

1982; Maxwell, 1986; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; del Pino, 2000).

A continuación se anestesia localmente por ejemplo 2-4 ml de clorhidrato de lidocaína al 2% inyectada por vía subcutánea, 5-7 cm. anteriores a la ubre y 3-4 cm. laterales a la línea alba. Poner especial cuidado para evitar lesionar vasos sanguíneos al poner la anestesia. Se hacen dos pequeñas incisiones para permitir la entrada del laparoscopio (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; del Pino, 2000).

La cavidad es insuflada con oxígeno o gas para facilitar la localización y manipulación del útero al que se le encuentra anterior a la vejiga. La pipeta inseminatoria (aguja hipodérmica) es introducida vía una segunda cánula y se inserta en la pared del útero hasta el lumen liberándose el semen.

Normalmente se inseminan ambos cuernos uterinos antes de retirar el aparato. El tiempo tomado por hembra para la inseminación con esta técnica es de 1-2 minutos dependiendo de la habilidad del operador. Cuando se utiliza semen fresco con este método se logran fertilizaciones mayores del 80%, con semen congelado los rangos alcanzados van desde 50 hasta 80% de concepción (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

La inseminación intrauterina por laparoscopía tiene su mayor utilidad en programas de transferencia de embriones, en dónde la utilización de otras técnicas tiene algunas desventajas que son rebasadas por la deposición del semen intrauterinamente (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Ishwar y Momon, 1996; Mejia y Hernández, 1996 Jiménez *et al.*, 2004, Quezada *et al.*, 2004.



IMAGEN 4.- Depósito del semen mediante una pequeña incisión y vista al interior



IMAGEN 5.- Técnicas de inseminación artificial por laparoscopia



IMAGEN 6.- Vista de una práctica en la clínica de ovinos de la unam

XIX.- MOMENTO DE LA INSEMINACION

La estacionalidad reproductiva de la oveja es poliéstrica estacional de días cortos y la duración del estro en la oveja es de 17 días y la ovulación es espontánea de 24 a 27 horas después del estro (Mejia y Hernández, 1996).

Para obtener buenos éxitos con la inseminación artificial se precisa algún conocimiento sobre la duración del estro y el tiempo de la ovulación, para ajustar la práctica de la inseminación al momento más propicio (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990).

Tanto los cambios de volumen como el espacio físico del mucus-vagino-cervical, que acontecen a lo largo del estro, se pueden utilizar como una guía para determinar el estadio del estro y el tiempo más conveniente para la inseminación. Se ha encontrado una correlación entre estado del mucus y fertilidad, siendo el tiempo óptimo para la inseminación cuando el mucus es copioso y claro o ligeramente nebuloso. Sin embargo, es muy problemático en la práctica determinar con certeza el tiempo de aparición del estro y el momento adecuado para la inseminación. La sincronización del estro hace que el tiempo de la ovulación sea predecible (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).

El tiempo de inseminación varía según el método de inseminación que se vaya a utilizar. En general, la inseminación vaginal es utilizada para hembras con estro natural o sincronizado, siendo necesaria la sincronización para la inseminación intrauterina (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990, Mejia y Hernández, 1996).

19.1.- Momento de inseminar a hembras con estro natural

19.1.1.- Inseminación artificial cervical o vaginal

Cuando se deba inseminar artificialmente, por vía vaginal o cervical, se obtendrán mejores resultados si la inseminación se hace antes de la ovulación, pero muy próximo a ella. En general, el momento óptimo para inseminar ovejas

es 12-18 horas después de la aparición del estro (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; Hafez y Hafez, 2000).

Si se van a inseminar hembras con estro natural, este normalmente se detecta con la ayuda de los recelas marcadores. El contacto con machos puede alterar la duración del estro, que están continuamente con machos.

Una vez marcadas las hembras en estro, por los recelas, deben ser inseminadas lo más pronto posible si sólo se utilizan los recelas una vez al día; pero en el caso de emplearlos dos veces mañana y tarde, las hembras marcadas por la tarde se inseminarán a primera hora del día siguiente y luego, algo más tarde, las señaladas por la mañana.

La utilización de recelas dos veces al día aumenta considerablemente (15-20%) el número de estros detectados con lo que la inseminación se puede sincronizar mejor, con relación a la ovulación (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996; Hafez y Hafez, 2000).

19.2.- Momento de inseminación en estro sincronizado

Cuando se sincroniza el estro no hay necesidad alguna de detectarlo, la sincronización se debe realizar a un tiempo preferido en relación con la aplicación del tratamiento sincronizador. El tiempo de ovulación varía ligeramente entre las diferentes hembras, según las estaciones climatológicas y con el uso de PMSG o el efecto macho para estimular dentro de unos márgenes relativamente estrechos, entre los diferentes individuos. Si junto a la PMSG se utilizan progestágenos, en forma de pesarios, y un 5-10% de recelas, el estro aparecerá, en la mayoría de las hembras, a las 36-48 horas después de retirar el pesario y ovularán unas 60 horas después. Los tiempos de sincronización (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).



IMAGEN 7.- Forma de sincronización en las ovejas

19.3.- Inseminación cervical

Como sucede en las hembras con estro natural, la inseminación suele hacerse antes, pero muy cerca, de la ovulación. El tiempo óptimo para inseminar está entre 48 y 58 horas (por lo general, una sola inseminación a las 55 horas) después de retirado el pesario (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejía y Hernández, 1996).

19.4.- Inseminación intrauterina

La manipulación del aparato genital, cerca del momento de la ovulación, puede interferir al transporte de los oocitos desde el ovario al oviducto, con lo que en ese tiempo no se debe practicar la inseminación intrauterina (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejía y Hernández, 1996).

Para la inseminación intrauterina se suele utilizar semen de carnero congelado-descongelado. En este caso, el tiempo óptimo para la deposición del semen, en

ovejas, es de 60-66 horas después de retirar el pesario (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).

Las hembras superovuladas y tratadas relativamente altas de gonadotropina, ovulan más temprano que las normales. Estas hembras se deben inseminar con dosis altas de espermatozoides frescos (por lo menos 100 millones de espermatozoides móviles). En este caso la inseminación intrauterina puede realizarse 36-48 horas, después de retirados los pesarios. Cuando se utiliza semen congelado-descongelado en hembras superovuladas, la inseminación intrauterina se debe hacer 44-48 horas después de haber quitado los pesarios (Tabla 2) (Amoha y Gelaye, 1989; Amoha y Gelaye, 1990).



IMAGEN 8.- Muestra la forma de inseminación intrauterina



IMAGEN 9.- Inseminación intrauterina

XX.- NUMERO DE INSEMINACIONES POR ESTRO

En condiciones de campo, las hembras sólo se inseminan una vez por cada estro. Si se quiere aumentar la fertilidad se debe practicar dos inseminaciones por estro. El efecto de la doble inseminación varía según al tiempo de haber practicado la primera con relación a la ovulación (o momento de retirar la esponja).

Para ovejas, con estro natural, el efecto de la doble inseminación es más manifiesto cuando la primera inseminación se practica al principio del estro, que cuando se hace en el medio o final de éste. En la práctica, la doble inseminación previene de la posibilidad de que una inseminación se practique demasiado temprana, en relación con la ovulación. Para hembras con estro sincronizado, la doble inseminación se realiza 48-50 y 58-60 horas después de retirar el pesario. Cuando las hembras están en estro natural, la primera inseminación se realiza tan pronto aparecen marcadas por los recelas y la segunda 8-12 horas después (Rishen y Rise, 1999).

Se debe indicar que, en circunstancias particulares, el aumento (6-10%) de corderos por la inseminación doble no garantiza el esfuerzo extra que se realiza. Sin embargo, se recomienda la doble inseminación, en un estro, cuando se utiliza semen conservado o congelado y se emplea la inseminación cervical. Si se practica la inseminación intrauterina, la doble inseminación no está recomendada (Salamón, 1990).

XXI.- DOSIS DE INSEMINADO

El número total debe repartirse, por igual, en cada cuerno cuando se practica la inseminación intrauterina por laparoscopia. Aún cuando los espermatozoides depositados en un cuerno uterino son capaces de fertilizar los oocitos desprendidos en el ovario contralateral, se ha observado un ligero aumento de la fertilidad cuando el total del inseminado se reparte entre ambos cuernos. Cuando se realiza la doble inseminación, vaginal o cervical, las dosis recomendadas son para cada inseminación (Bearden y Fuquay, 1982; Salamón, 1990; Mejia y Hernández, 1996).

TABLA 2.- Número mínimo de seguridad de espermatozoides móviles en inseminado para practicar la inseminación en las diferentes técnicas (número expresado en millones)

| TECNICA | TIPO DE SEMEN | | |
|---|---------------|-----------------------|-------------|
| | FRESCO | LIQUIDO CONSERVADO | CONGELADO |
| INSEMINACION VAGINAL | 300 | NO EFECTIVO | NO EFECTIVO |
| INSEMINACION CERVICAL | 100 | 150 | 180 |
| INSEMINACION INTRAUTERINA VIA CERVIX (CABRA) | 60 | 60 | 60 |
| VIA LAPAROSCOPIA (N° TOTAL EN AMBOS CUERNOS) | 20 | 20 | 20 |

22.- LITERATURA CITADA

- 1.- Arthur, G. H., Noakes, D. E. y Pearson, H. 1991. Reproducción y obstetricia en veterinaria. 6ª ed. Interamericana McGraw-Hill. España.
- 2.- Amoha, E. A. y Gelaye, S. 1989. Breeding using exogenous hormones. J. dairy goat. 67 (8): 34-37.
- 3.- Amoha, E. A. y Gelaye, S. 1990. Superovulation, Synchronization and Breeding of Does. Small Rumin Res. 3: 63-72.
- 4.- Bearden, H. J. y J. Fuquay. 1982. Reproducción animal aplicada. Manual Moderno. México D. F. pp. 135-250.
- 5.- BonDurant, B. 1979. Pregnancy diagnosis in sheep and goats: A clinical syllabus. Department of Reproduction. School of Veterinary Medicine. University of Davis, California Vet. No. 1.

- 6.- Buckrell, B. 2000. Reproductive Technologies Proceedings of the 6th Great Lakes Dairy Sheep Symposium, Guelph, Ontario, Canada. November 2000. pp.77-93.
- 7.- Cambell, W. J., Havey, G.T., Mc Donald, F.M. y Sparkman, I.R. 1996. Transcervical insemination in sheep: an anatomical evaluation. Theriogenology 45: 1535-1544.
- 8.- Chemineau, P., Cagnie, Y., Guerin, Yorgueur, P. y Vallet, J. C. 1991. Training Manual on Artificial Insemination in Sheep and Goats. Food and agriculture organization of the United Nations (FAO). Roma.
- 9.- De Alba, J. 1985. Reproducción animal. La Prensa Medica Mexicana. México.
- 10.- Foote, R. H. 2002 The history of artificial insemination: Selected notes and notables. J. Animal. Sci.: 1-10.
- 11.- Hafez, E.S.E. y Hafez B., 2000. Reproducción e inseminación artificial en animales. Ed. McGraw-Hill Interamericana, 7ª ed. México, D.F.
- 12.- Haibel, G.K. 1990. Use of ultrasonography in reproductive management of sheep and goat herds. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice. 6 (3): 3-6.
- 13.- Ishwar, K. A, y Momon, A. M. 1996. Embryo transfer in sheep and goats. A review. Small Rumin. Res. 19:135-45.
- 14.- Jiménez, R. A. O, Ortiz, H. A, Núñez, S. J, Mejia, V. O. 2004. Fertilidad y prolificidad obtenidas tras la transferencia de un embrión a ovejas receptoras con servicio previo. XXVIII Congreso Nacional de Buiatria Morelia, Michoacán, México. p. 296.
- 15.- Knights, M. Hoehn, T. Lewis, P. E. y Inskip, E. K. 2001. Effectiveness of intravaginal progesterone inserts and FSH for inducing synchronized estrus and increasing lambing rate in anestrous ewes. J. Anim. Sci. 79: 1-12.
- 16.- Maxwell, W. M. C. 1986. Artificial Insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronised oestrus 1. Effects of time of oestrus, ovulation and insemination on fertility. Animal reproduction science 10: 301-308.

- 17.- Maxwell, W. M. C. 1986. Artificial Insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronised oestrus 2. Effects of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. *Animal Reproduction Science*. 10: 309-316.
- 18.- Mejia, G. P. y Hernández, O. G. 1996. "Curso Teórico-Práctico sobre Reproducción Aplicada en Pequeños Rumiantes". Universidad Nacional Autónoma de México. Noviembre. p. 28-43.
- 19.- Mitchell, S. E., Robinson, J. J., King, M. E., McKelvey, W. A. C. y Williams L. M. 2002. Interleukin 8 in the cervix of non-pregnant ewes. *J. Animal Reproduction Sci.*: 1-8.
- 20.- Quezada, C. A., Pérez, U. D. J. 2004. Sincronización del estro en ovejas mediante esponjas con progesterona y estradiol y fluorogestona, además de ecg. XXVIII Congreso Nacional de Buiatria Morelia, Michoacán, México. Agosto. p. 286.
- 21.- Del Pino, R. Inseminación Artificial en Ovinos [en línea]. Oct. 2000. <http://webs.demasiado.com/dolphin/iavaginal.html>. [2005].
- 22.- Del Pino, R. Inseminación Artificial en Ovinos [en línea]. Oct. 2000. <http://webs.demasiado.com/delpino/iatranservical.html>. [28 marzo, 2005].
- 23.- Del Pino, R. Inseminación Artificial en Ovinos [en línea]. Oct. 2000. <http://webs.demasiado.com/delpino/ialaparoscopica.html>. [28 marzo, 2005].
- 24.- Rischen, C. G. y Riese, R. I. 1999. Reproductive management of the dairy goat doe. *Iowa State Veterinary*. 44. (2).
- 25.- Salamón S. 1990. Inseminación Artificial de ovejas y cabras. Ed. Acribia. España, 1-171.
- 26.- Smith, M. C. y Sherman D.M. 1994. *Goat Medicine*. Lea & Febinger. USA .
- 27.- Stellflug, J. N., Wulster-Radcliffe, M. C., Hensley, E. L., Cowardin, E. A., Seals, R. C. y Lewis, G. S. 2001. Oxytocin induced cervical dilation and cervical manipulation in sheep. *J. Anim. Sci.* (79): 1-6.

28.- Wallace, M. J. 1992. Artificial Insemination and embryo transfer. Progress in sheep and goat research, ED. A.W: Speedy. CAB International. Wallingford-U. K.