

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN YEGUAS

POR:

FRANCISCO MANUEL BAHENA BAHENA

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN , COAHUILA

AGOSTO DE 2003

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



MONOGRAFÍA

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN YEGUAS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

FRANCISCO MANUEL BAHENA BAHENA

ASESOR:

M.V.Z. HÉCTOR VILLANUEVA HERNÁNDEZ

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN YEGUAS

MONOGRAFÍA

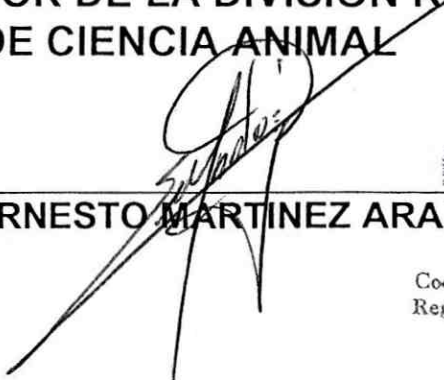
APROBADO POR EL COMITÉ

PRESIDENTE DEL JURADO

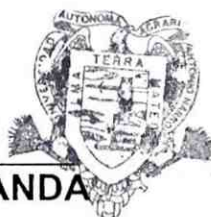


M.V.Z. HÉCTOR VILLANUEVA HERNÁNDEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL



M.V.Z. ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA



Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal
UAAAN - UL

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN YEGUAS



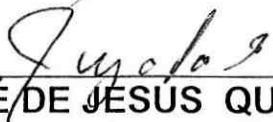
M.V.Z. HÉCTOR VILLANUEVA HERNÁNDEZ
PRESIDENTE



M.V.Z. JESÚS GAETA COVARRUBIAS
VOCAL



M.V.Z. LUIS JAVIER PRADO ORTIZ
VOCAL



M.C. JOSÉ DE JESÚS QUEZADA AGUIRRE
VOCAL SUPLENTE

AGRADECIMIENTOS:

A Dios por prestarme vida y salud para llegar a este momento.

A mi "Alma Terra Mater" que me abrió las puertas de su espacio y permitió el mi desarrollo intelectual y espiritual.

Al M.V.Z. Héctor Villanueva Hernández por haber aceptado ser parte de este proyecto, pero sobre todo por sus consejos, favores, su amistad y esa increíble calidez humana que lo caracteriza.

A mi tía Lucy, Dani, Alma, Marta, Rocio, Miguel, por su apoyo y cariño; gracias por ser parte de mi familia.

A esas personas que fueron parte de esta locura, ustedes que disfrutaron y sufrieron junto conmigo. A mis amigos...gracias

DEDICATORIA:

A mi Abuelo Sr. Alberto Bahena Espíndola (†)...por usted.

A mi abuelita Sra. Celia Rodríguez Ocampo. A usted que es un ejemplo de fortaleza hasta en los momentos difíciles y que nos ha impulsado a mi y a toda la familia a salir adelante.

*A la Sra. Gabina Bahena Rodríguez. Para ti Mamá que no tengo con que agradecerte todo lo que haces por mi, te dedico este logro... y te dedico mi vida.
Te amo.*

A Alejandro, Armando, Alberto y Carlos. A ustedes que con su ejemplo me enseñaron que la única forma de salir adelante es trabajando y esforzándose todos los días de la vida.

A todos ustedes les doy las gracias y la dedicación de este trabajo.

INDICE

Página:

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.	Antecedentes Históricos.....	1
1.2.	Evolución.....	2
1.2.	Estado Actual.....	2
II.	OBJETIVO.....	4
III.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
3.1.	Ventajas y Desventajas.....	5
3.2.	Aparato Reproductor de la Hembra.....	6
3.3.	Aparato Reproductor del Macho.....	8
3.4.	Recolección del Semen.....	10
3.5.	Evaluación del Semen.....	11
3.5.1.	Motilidad progresiva.....	11
3.5.2.	concentración.....	12
3.5.3.	Morfología.....	13

3.6. Preservación del semen.	14
3.6.1. Termo preservación corta.	14
3.6.2. Termo Preservación Larga.	16
3.7. El Diluyente.	17
3.8. Manejo de la Yegua.	19
3.9. Medicamentos que alteran el ciclo estral.	20
3.9.1. Progestágenos.	20
3.9.2. Progesterona y Estradiol.	20
3.9.3. Prostaglandina F _{2α}	21
3.10. Momento Optimo de la Inseminación.	21
3.11. Técnica de Inseminación.	22
3.12. Dosis de Inseminación.	24
3.13. Volumen de Inseminación.	25
3.14. Porcentaje de Preñes.	25
3.14.1. Semen Fresco.	25
3.14.2. Semen Transportado.	26

3.14.3. Semen Congelado.....	26
------------------------------	----

IV. CONCLUSIÓN.....	27
----------------------------	-----------

V. LITERATURA CITADA.....	28
----------------------------------	-----------

I. INTRODUCCIÓN.

La inseminación artificial es la técnica aislada más importante que se ha desarrollado para el mejoramiento genético de animales. (Hafez, 1989)

Se define como el método por el cual se deposita el semen dentro del útero de la hembra en forma artificial; es decir, sin la intervención directa y natural del macho. (Karl, 2001)

La Inseminación Artificial incluye colección, evaluación y dilución del semen del garañón y una administración a tiempo de un adecuado número de espermatozoides dentro del útero de la yegua. El semen utilizado para la inseminación artificial puede ser usado inmediatamente, horas o incluso años después de haber sido recolectado. Sin embargo el semen debe ser procesado adecuadamente para asegurar que retenga su potencial de fertilización. Para asegurar el éxito de un programa de inseminación artificial, el conocimiento de la fisiología reproductiva de yeguas y garañones es muy importante. La selección de la yegua además de un cerrado monitoreo de los ciclos estrales son factores claves que determinan el éxito de un programa de cruce. (Samper, 2000)

1.1. Antecedentes Históricos:

El informe más antiguo acerca de la inseminación artificial fue en 1870 cuando Spallanzani, fisiólogo Italiano, obtuvo perritos con este método. (Hafez, 1989).

Pero se dice que ya en el siglo XIV la Inseminación artificial fue practicada en una yegua que fue servida, posteriormente, con algodón el semen fue recogido de la vagina de ésta y depositado en la vagina de otra yegua en celo logrando fecundarla.

Rusia, con el Profesor Elías Ivanov, fue el primer país que usó Inseminación Artificial extensivamente. Durante mucho tiempo marcó las pautas en el mundo, pasando luego sus técnicas al resto de Europa y, más tarde a América.

En 1914 fue inventada la vagina artificial, facilitando de esa forma la colección de semen en las grandes especies domésticas. (Oka, 2000)

1.2. Evolución:

Con excepción del caballo pura sangre inglés, cuyos estrictos registros no permiten el uso de otra técnica que no sea la monta natural, algunas otras asociaciones, aunque con ciertas restricciones, han ido cambiando su política a este respecto y están autorizando el uso de la Inseminación Artificial, lo que ha dado como resultado que la investigación de nuevas técnicas avance considerablemente. (Hernández, 1989)

También se debe tener en cuenta que algunas asociaciones, como la Asociación Norteamericana de Caballos Miniatura no permite la Inseminación Artificial. (Zarco y Boeta, 2002)

Los estudios destinados a mejorar las técnicas de procesamiento del semen del equino no se han desarrollado a la par de las técnicas usadas para semen bovino, debido a las grandes diferencias en el manejo reproductivo entre éstas especies como son, el número de hembras a inseminarse con el mismo semental, así como la poca aceptación del semen congelado por parte de algunas asociaciones de criadores de caballos. (Quijano, 2001)

1.3. Estado Actual:

Con la apertura de un buen número de asociaciones de registros de caballos para el uso de la Inseminación Artificial con semen almacenado, ya sea frío o congelado, un mejor conocimiento de estas técnicas aumentara las probabilidades de éxito. (Hernández, 2001)

En virtud de que las tasas de preñez han aumentado y que en muchos registros de razas se permite el uso de semen congelado, muchas personas de la industria equina, están recurriendo a este producto. (Savage, 2000)

La mayoría de las asociaciones de razas de caballos que permiten la Inseminación Artificial requieren que se utilice semen fresco aunque algunas permiten semen transportado. (Hodgson, 1995)

CUADRO I. Asociaciones de razas que permiten el uso de semen frío o congelado.

ASOCIACIÓN	SEMEN FRESCO	SEMEN CONGELADO
American Donkey & Mule Society	Si	Si
American Hackney Horse Society	Si	No
American Hanoverian Society	Si	Si
American Holsteiner Horse Association	Si	Si
American Miniature Association	No	No
American Morgan Horse Association	Si	Si
American Warblood Registry	Si	Si
American Paint Horse Association	Si	No
American Quarter Horse Association	Si--1997	No
American Saddlebred Horse Association	Si	Si
American Shetland Pony Club	No	No
American Suffolk Horse Association	Si	Si
American Trakehner Association	Si	Si
Appaloosa Horse Club	No	No
Arabian Horse Registry of America	Si	Si
Belgian Draft Horse Corporation of America	Si	Si
National Show Horse Registry	Si	Si
North American Sporthorse Association	Si	Si
Paso Fino Horse Association	Si	Si
Peruvian Paso Horse Association	Si	Si
Pinto Horse Association Of America	According to Gov. Breeding Register	According to Gov. Breeding Register
Standardbred	Si	?
Swedish Warmblood Association of North America	Si	No
Tennessee Walking Horse Beeders & Association	Si	Si
The Jockey Club	No	No

(Anderson, 1999)

II. OBJETIVO

El presente trabajo se realizo con el fin de hacer una revisión de literatura sobre la inseminación artificial en yeguas, y así, tener un punto más de referencia hacia los pros y los contras, exigencias y beneficios que esta técnica conlleva, y con esto poder determinar con un criterio mejor fundamentado, que tipo de los diferentes métodos de inseminación utilizar y así poderlas adecuar más específicamente para con un caso en particular y con esto lograr el mayor éxito posible de esta técnica de reproducción para beneficio tanto como del profesionalista, como del criador de caballos.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Ventajas y Desventajas:

VENTAJAS:

Esta técnica tiene muchas ventajas como son el mejoramiento genético, mejor aprovechamiento del garañón, y la evaluación inmediata del semen del macho. Además disminuyen las enfermedades transmitidas por vía venérea. (Zarco y Boeta, 2000)

- Es un modo eficaz de controlar enfermedades de transmisión sexual.
- Constituye un uso más eficiente del semen de los garañones, por que puede inseminarse más yeguas con un solo eyaculado.
- Permite el transporte del semen a otros Estados o Países.
- Reduce el riesgo de lesión o enfermedad para la yegua (y para el potro si la yegua esta amamantando al momento de la cubrición).
- Reduce el riesgo de lesiones relacionadas con el servicio para la yegua y el garañón. Permite una mejor vigilancia en la calidad y cantidad del semen.

(Savage, 2002)

DESVENTAJAS:

- La recolección puede entrañar dificultad o peligro especialmente si el semental no se destina a este fin.
- Podría cometerse un fraude deliberado si una yegua fuese inseminada con el semen equivocado, o erróneamente etiquetado; sin embargo, según la opinión del autor esto no es más probable o no detectable que la cubrición de una yegua con el semental equivocado. (Allen, 1994)
- Carencia de protocolos estándares para las yeguas de crianza con semen deshelado / congelado. (Samper, 2000).

3.2. Aparato Reproductor de la Hembra.

El sistema reproductivo de la yegua puede dividirse en dos grupos de órganos. El primero consta de órganos del tracto reproductivo y son: ovarios, oviductos, útero, cervix, vagina y vulva, el segundo grupo es extrínseco al tracto reproductivo pero tiene un papel regulatorio integral en la reproducción de la yegua, y son: la glándula pituitaria y el hipotálamo.

El tracto reproductivo visto dorsalmente varía en forma de "Y" a "T", dependiendo de la distensión y contenido de las vísceras abdominales, así como de la influencia hormonal. (Sumano *et. al.* 1998)

OVARIO:

El ovario tiene forma de riñón con una depresión muy prominente sobre la superficie cóncava, la fosa de ovulación. Los polos son redondos y el polo craneal esta unido a una porción de fimbria del oviducto. El polo caudal o uterino esta unido al útero.

La localización de los ovarios varía debido a la cantidad de ingesta o a la dilatación de los intestinos. La distancia del ovario al cuerno uterino varía de 0 a 5 cm. La depresión llamada fosa de ovulación es la única área por la cual ocurre la ovulación. El cuerpo luteo no se proyecta a la superficie del ovario como en otras especies. (Sisson y Grossman, 1986)

OVIDUCTO:

Los oviductos son tubos muy tortuosos que se encuentran contenidos en el mesosalpinx. Sirven para el transporte del óvulo y del blastocisto. Miden de 20 a 30 cm de largo cuando se les extiende. Del ovario a la punta del cuerno uterino, el oviducto se divide en infundíbulo, ámpula o ampolla e itsmo. (Sumano *et. al.* 1998).

ÚTERO:

La mitad craneal del útero de la yegua consiste de 2 cuernos uterinos, mientras que la mitad caudal es un único cuerpo uterino. El ligamento intercorneal es mucho menos prominente que en la borrega y la vaca. Un corto septo uterino marca la bifurcación interna de los cuernos uterinos.

En la porción anterior de cada cuerno uterino se encuentra la unión entre el cuerno uterino y el oviducto: la union útero-tubal. (Sisson y Grossman, 1986)

En el interior del útero, el endometrio, es de color rosa pálido y forma numerosos pliegues longitudinales, estos pliegues son más prominentes y ultrasonográficamente más evidentes, cuando se encuentran bajo la influencia de los estrógenos durante el estro.

CERVIX:

El cervix es de pared gruesa y firme, identificable por palpación rectal, sin embargo durante el estro llega a ser muy flácido y puede no ser fácilmente discernible.

La porción caudal se proyecta dentro del lumen de la vagina y puede ser palpada y examinada a través de la vagina ya sea digital o visualmente con la ayuda de un espéculo y una fuente de luz. Otra característica distintiva es su capacidad de distensión y la ausencia de anillos cervicales.

VULVA:

El termino vulva comprende todo el tracto reproductivo caudal a la vagina o bien toda la parte común a los tractos terminales reproductivos y urinarios.

La vulva cuelga del arco isquiático de la pelvis, de tal manera que la comisura ventral esta alrededor de 5 cm. Por abajo del arco; esto hay que tenerlo presente para cuando se intente pasar un espéculo u otro instrumento dentro de la vulva o la vagina. Los instrumentos deben entrar a la vulva hacia arriba y adelante, ya que este es el ángulo natural de entrada.

LABIOS:

Los labios están cubiertos por una piel suave y delgada, rica en glándulas sebáceas y sudoríparas.

CLÍTORIS:

El clítoris está localizado en una cavidad (fosa del clítoris) en la comisura ventral. Este puede ser evertido de la fosa por medio de presión digital y separando los labios. El *glans clitoris* de la yegua es considerablemente más prominente que el de las otras especies domésticas. (Sumano *et. al.* 1998).

3.3. Aparato Reproductor del Macho.

TESTÍCULOS:

Es el sitio donde se producen las hormonas y los gametos (espermatozoides) masculinos. Uno de ellos es ligeramente más grande que el otro y miden aproximadamente unos 10 a 12cm. de largo. (Friedrich, 20001)

ESCROTO:

Es un saco que envuelve a los testículos; compuesto de dos capas, una interna (la túnica dartos), que divide a el escroto en dos bolsas y otra externa, que es una invaginación de la piel. (Sisson y Grossman, 1986)

EPIDÍDIMO:

Es un conducto que sale de los testículos y cuyas funciones son: transporte, concentración, almacenamiento y maduración de los espermatozoides.

CORDÓN ESPERMÁTICO:

El cordón espermático conecta a los testículos con su sistema de nutrición (arterias y venas) y los troncos nerviosos.

CONDUCTO DEFERENTE:

Tubo que sale del extremo de la cola de cada epidídimo; vía de los espermatozoides, del epidídimo a la uretra.

URETRA:

La uretra es el conducto común de los aparatos reproductor y urinario.

GLÁNDULAS VESICALES:

Su función es la producción de compuestos orgánicos que sirven de fuente de energía para los espermatozoides y evitan los cambios de acidez (pH) del semen.

GLÁNDULAS BULBOURETRALES:

Producen una secreción que después de la eyaculación evita que el semen regrese del cervix a la vagina.

PREPUCIO:

Es una evaginación de la piel que encierra por completo el extremo libre del pene.

PENE:

Es el órgano copulador de los machos; se forma alrededor de la uretra a partir del lugar de donde ésta sale de la pelvis.

El pene del caballo tiene una estructura de unos 50 cm. de largo en estado relajado (incrementa un 50 % con la erección) así mismo presenta una flexura sigmoidea, lo que permite que se retraiga por completo dentro del cuerpo. (Friedrich, 20001)

3.4. Recolección del Semen.

De capital importancia para un programa de Inseminación Artificial es la correcta recolección del semen, que implica disponer a los machos para ello a intervalos óptimos, preparación sexual y técnicas correctas. (Hafez, 1989)

Aunque existen varios métodos para la recolección del semen del caballo el más recomendable es la vagina artificial en la cual el control de la temperatura y las condiciones sanitarias minimizan el trauma para el espermatozoide. La forma, la lubricación y la presión del agua estimula en el caballo la eyaculación normal, sin embargo, este debe ser entrenado para ello. (Hernández, 1989).

Para la colección del semen se debe contar con una hembra en estro. Si el garañón esta bien entrenado se puede utilizar un maniquí de montas (potro de montas)

Si se utiliza una yegua esta deberá estar en una etapa de plena receptividad dentro del estro. Para evitar laceraciones se debe vendar la cola de la yegua, además a la yegua se le debe poner un tirapié para evitar que patee al garañón o al operador al momento del cortejo y la recolección del semen. Si se pretende utilizar un maniquí se debe entrenar al macho durante varias semanas o meses dependiendo de su libido.

El manejo del semental dependerá del carácter de éste, algunos responden solo con la voz del manejador, mientras que otros necesitan cadena en la boca o un bocado severo para lograr manejarlos. Para la recolección del semen se requieren por lo menos de tres personas, un manejador de la yegua, otro del semental y un operador de la vagina artificial. Todo el personal deberá llevar equipo de seguridad, como casco y botas. Al presentar al garañón ante la yegua el manejador del semental deberá estar a un costado de el y al momento que el

semental monte; el operador se debe colocar rápidamente a un costado de este, para desviar el pene hacia la vagina artificial.

Se debe sostener la vagina en el ángulo que más le agrade al semental, manipulándola hacia arriba contra el abdomen del macho, logrando con esto una mayor estimulación sexual. Cuando el garañón empieza a eyacular el operador de la vagina puede sentir las pulsaciones en la base del pene, las cuales se asocian con el movimiento característico de la cola conocido como "bandereo." La vagina se retira hasta que termine la eyaculación y el pene del animal haya perdido su erección, cuidando que la vagina se conserve casi vertical durante el retiro para evitar la pérdida de semen. La persona que maneja el semental debe retirarlo inmediatamente después de que haya desmontado, para evitar que intente patear. (Zarco y Boeta, 2000).

3.5. Evaluación del Semen.

La evaluación del semen debe realizarse lo más rápidamente posible después de su colección, ya que el líquido seminal del eyaculado altera las características mótilas de los espermatozoides. El espermatozoide del equino es muy frágil, por lo cual el recipiente colector no se debe exponer a la luz solar ni a cambios bruscos de temperatura, para ello se debe mantener dentro de una incubadora o baño maría a una temperatura de 38 °C.

3.5.1. MOTILIDAD PROGRESIVA:

La primera variable microscópica a evaluar es la motilidad progresiva. Esta variable es muy importante, ya que existe una alta correlación entre el porcentaje de motilidad progresiva con la fertilidad. Para evaluar la motilidad se debe diluir el semen antes del examen, ya que los espermatozoides tienden a aglutinarse en condiciones naturales, lo cual ocasiona que no sea posible evaluarlos. Una vez diluidos se coloca una gota en un portaobjetos y encima de este un cubreobjetos,

evitando que se formen burbujas. El portaobjetos se coloca sobre una termoplatina en un microscopio, de preferencia de contraste de fases, ya que este permite observar claramente la densidad de la muestra. El porcentaje normal de motilidad progresiva es de un 75 %, con un rango de 60 a 95 %.

3.5.2. CONCENTRACIÓN:

La evaluación de la concentración espermática se realiza por medio de un hemocitómetro, utilizando una sustancia espermicida, como formalina amortiguada. Se debe realizar una dilución de 1: 200 de semen, para lo cual la pipeta de glóbulos rojos se llena de semen hasta la marca de 0.5 y con formalina al 2 % hasta la marca de 101. Una vez llena la pipeta se agita para homogeneizar el contenido y se tiran las primeras gotas, ya que estas son el líquido que permaneció en la porción capilar la pipeta, y por lo tanto no se mezcló con el resto del contenido. Después se coloca una gota en cada cámara y se procede a contar todos aquellos espermatozoides que sus cabezas se encuentren dentro de los cuatro cuadros de las esquinas y el cuadro del centro de la cámara que se contarán.

El número de espermatozoides contados en la primera cámara se suma con el total de la segunda y se saca un promedio, siendo este el número de espermatozoides contados.

Después se procede a calcular la concentración espermática por mililitro. Para hacer este cálculo se debe tener en cuenta que la cámara tiene una altura de 0.1mm. por lo que para transformarla a mm, se debe multiplicar por 10, además solo se contaron 5 de los 25 cuadros por lo que hay que multiplicar por 5. El número resultante se debe multiplicar por 100 o por 200 dependiendo de la dilución que se haya utilizado, las concentraciones ideales para inseminar son de 300 a 500 millones/ml..

Ejemplo: se contaron 36 espermatozoides utilizando una dilución de 1: 200.

Entonces el número total de espermatozoides por mm^3 es:

$$= 36 \times 10 \times 5 \times 200$$

$$= 36 \times 10,000$$

$$= 0.36 \times 10^6 / \text{mm}^3$$

Para transformar a espermatozoides por ml. (cm^3) es necesario multiplicar el número / $\text{mm}^3 \times 1000$. En el ejemplo anterior:

$$0.36 \times 10^6 / \text{mm}^3 = .36 \times 10^9 / \text{ml} = 360,000,000 \text{ millones} / \text{ml}.$$

3.5.3. MORFOLOGÍA:

Para el examen de la morfología individual de los espermatozoides se utiliza una tinción de eosina – negrosina, ya que esta ofrece la posibilidad de detectar la viabilidad de los espermatozoides, usando de preferencia un microscopio de contraste de fases. Se utiliza el objetivo de inmersión 100x. Para realizar esta evaluación se hace un frotis de una pequeñísima gota de semen mezclada con el colorante. Se deja secar el frotis y se observan al azar un mínimo de 100 espermatozoides, contando cuantos de ellos son anormales y cuantos normales.

Las anomalías se clasifican en primarias y secundarias:

Las primarias son las que se originan durante la espermatogénesis y ocurren en el testículo. Los defectos de la cabeza y parte media del cuerpo son considerados como primarias.

Las anomalías secundarias ocurren durante el transporte seminal y comúnmente involucran la cola, y presencia de gota citoplásmica medial y distal. Se considera que más del 10 % de anomalías primarias y 20 % de las secundarias en el semen puede afectar la fertilidad. (Zarco y Boeta, 2000).

3.6. Preservación del Semen.

La temperatura a la que el semen debe ser almacenado depende del periodo de tiempo que queramos que permanezca viable. En general, el semen que va a ser usado entre 12 horas después de la recolección puede ser almacenado en la sombra a temperatura ambiente. Si está previsto que el semen se almacenara por más de 12 horas, por cualquier motivo ya sea que el semental estuviera inseminable o el semen deba ser transportado, este deberá ser enfriado a 5-8 °C. (Varner, 1989).

Si el almacenamiento es requerido por más de 72 hrs. La criopreservación deberá ser seriamente considerada. (Varner, 1991).

3.6.1. Termo Preservación Corta.

Los métodos de preservación corta son usados para conservar el semen cuando este va a ser usado en la granja, inmediatamente después de la recolección, o si va a ser transportado a una locación diferente para la inseminación antes de 48 a 72 horas después de la recolección.

SEMEN FRESCO:

El semen que es recolectado y usado inmediatamente o debajo de 12 horas después de la recolección no necesita refrigeración y puede ser mezclado con un diluyente apropiadamente precalentado, a concentraciones de 1:2 o 1:4

dependiendo de la concentración espermática y del volumen de eyaculado. (Hamilton, 1984).

CUADRO II. Diluciones para obtener concentraciones ideales, dependiendo de la concentración inicial

CONCENTRACIÓN INICIAL (millones /ml.)	DILUCIÓN	CONCENTRACIÓN FINAL (millones /ml.)
100 – 115	1 semen 2 diluyente	33.8 – 38.3
120 – 155	1 semen 2 diluyente	40.0 – 51.7
160 – 205	1 semen 3 diluyente	40.0 – 51.3
210 – 255	1 semen 4 diluyente	42.0 – 51.0
260 – 300	1 semen 5 diluyente	43.3 – 50.0
305 – 350	1 semen 6 diluyente	43.6 – 50.0
355 – 400	1 semen 7 diluyente	44.4 – 50.0

(Zarco y Boeta, 2000)

SEMEN FRÍO / TRANSPORTADO:

Para el semen que no va a ser usado dentro de las 12 y 72 horas después de la recolección y poder retener la máxima fertilidad posible debe ser enfriado a 5-8 °C. Junto con la temperatura de almacenamiento, los factores más importantes para la longevidad del semen diluido son: calidad del semen, concentración espermática inmediata a la eyaculación, tipo de diluyente usado, y porcentajes de dilución.

Existen distintos sistemas de enfriamiento gradual de semen de equino; sin embargo el Hamilton-Thorn Equitainer System proporciona excelentes rangos y es considerado por el autor por ser el más confiable método de envío de semen frío. (Hamilton, 1984).

CUADRO III. Temperatura del semen contra tiempo en el EQUITAINER.

TIEMPO (HORAS)	TEMPERATURA	
	°C	°F
0.0	37	99
0.5	31	88
1.0	26	79
1.5	22	71
2.0	19	66
2.5	16	61
3.0	14	57
3.5	12	54
4.0	11	51
4.5	10	49
5.0	9	48
5.5	8	47
6.0	7	45
6.5	7	45
7.0	7	44
7.5	6	43
8.0	6	43
8.5	6	43
9.0	6	42
9.5	6	42
10	5	42

(Hernández y Medina, 1998)

3.6.2. Termo Preservación Larga.

Los métodos de termo preservación larga son usados para mantener el semen cuando este va a ser usado varios días después de su recolección. El

único método acertado para preservar el esperma por largos periodos de tiempo (meses o años) es la crío preservación. (Samper,1991)

CRIOPRESERVACIÓN:

La industria del semen equino congelado se encuentra aún en su inicio. La carencia de procedimientos de estandarización, la carencia de técnicas de laboratorio para evaluar la fertilidad y la idiosincrasia del esperma de algunos sementales para tolerar el proceso de congelación- descongelación, son los mayores obstáculos para el desarrollo de técnicas estándar de congelación. (Parks, 1992).

3.7. El Diluyente.

Cuando se almacena el semen de caballo, la capacidad de fertilización de los espermatozoides debe mantenerse el mayor tiempo posible. Si esto no se consigue, la pérdida de tiempo y el aumento de los gastos de todas las partes involucradas resulta en gran frustración y en desconfianza justificada hacia esta tecnología.

La clave para prolongar la vida fértil del espermatozoide cuando esta fuera del tracto reproductor consiste en disminuir su metabolismo, lo cual se logra exitosamente disminuyendo la temperatura en forma gradual y controlada.

Proporcionar el ambiente adecuado para esto es crítico si queremos prolongar efectivamente la vida fértil de cada espermatozoide, y un factor extremadamente importante para lograrlo es el uso de los diluyentes para semen. Los diluyentes para semen son medios líquidos específicos con los cuales el semen (espermatozoides y plasma seminal) se mezcla para prolongar su longevidad y preservar su fertilidad.

Numerosos diluyentes seminales se han utilizado para diluir y/o almacenar el semen del caballo. La mayoría están compuestos por yema de huevo, leche y derivados de la leche, diversos azúcares y químicos para regular la osmolaridad y/o el pH.

El desarrollo de los diluyentes para semen de equino ha sido con paso firme y seguro. A través de la investigación realizada durante muchos años, la composición de los diluyentes iniciada en la industria del ganado bovino, ha ido cambiando hasta que se encontraron los ingredientes más adecuados para el semen del caballo, de los cuales pronto se descubrió que la leche es el producto más compatible con el semen, y la leche descremada en polvo (referida en los textos en inglés como NFDMS, non-fat dried milk solids) es la que ha dado mejores resultados.

Otros ingredientes que frecuentemente encontramos en los diluyentes de semen para caballos son diversos azúcares, entre los que destaca la glucosa, la cual se agrega como una fuente de energía para las células.

También se encuentran antibióticos, utilizados para controlar el crecimiento bacteriano, buffers para ajustar el pH y agua estéril, destilada y deionizada como vehículo. Las variaciones que encontramos en los diluyentes disponibles actualmente se encuentran principalmente en el tipo de antibiótico utilizado y en otros componentes como buffers y protectores de la membrana celular.

Uno de los diluyentes más utilizados en la reproducción equina es el llamado Kenney desarrollado por el doctor del mismo apellido, preparado a base de leche descremada en polvo y glucosa, y que puede ser adquirido comercialmente con nombres diferentes dependiendo básicamente del antibiótico que contenga, o puede ser preparado "en casa" utilizando la siguiente fórmula:

CUADRO IV. Diluyente Kenney

Leche descremada en polvo (sanalac)	2.4g.
Monohidrato de glucosa	4.9g.
Bicarbonato de sodio (al 7.5 %)	2.0 ml.
Sulfato de gentamicina	2.0 ml
Agua destilada	92.0 ml
Osmolaridad (mOsm/kg.)	375+-2
pH	6.99+-02

(Quijano,2001)

3.8. Manejo de la Yegua.

Es importante antes de empezar la temporada de empadre hacer una cuidadosa evaluación reproductiva de las yeguas y que estas se encuentren en un programa permanente de medicina preventiva.

Las yeguas tendrán mayores posibilidades de concebir si se encuentran en buena condición física, es decir, ni muy delgadas ni muy obesas. Idealmente una yegua debe estar ganando peso al principio de la temporada de servicios.

El manejo de una yegua que encuentra en un programa de inseminación artificial es igual al de las yeguas que serán servidas en forma natural. Cada una de ellas deberá tener su registro reproductivo individual en donde se anotaran todos los tratamientos y exámenes que se le practiquen: palpaciones, vaginoscopias, exámenes con ultrasonido, resultados de cultivos, desparasitaciones, vacunas, etc., así como la conducta que demuestre diario al macho recelador.

(Hernández y Medina, 1998)

3.9. Medicamentos que Alteran el Ciclo estral.

Debido a que la yegua es una especie con actividad reproductiva estacional, es necesario realizar estimulación artificial de la actividad ovárica cuando se quiere lograr su reproducción en época de anestro. Adicionalmente las prácticas de control artificial de la reproducción son útiles aún durante la época reproductiva, ya que permite sincronizar la ocurrencia de estros, lo que facilita el manejo y permite programar con mayor precisión el momento oportuno para el servicio. (Zarco y Boeta, 2002).

3.9.1. PROGESTÁGENOS:

La administración prolongada de progestágenos (9 a 15 días) simula la presencia de un cuerpo lúteo. El progestágeno inhibe la secreción hipotalámica GnRH y la respuesta de la hipófisis a esta hormona, por lo que se reduce la secreción de gonadotropinas y se detiene el desarrollo folicular el cual solo se reanudara al suspenderla administración del progestágeno. Uno de los progestágenos más utilizados es el Altrenogest (Regumate), en dosis de 0.044mg./Kg por día. (Zarco y Boeta,2002)

Uno de los puntos más importantes para la consideración en el uso de este producto es que, aunque suprimirá el estro, no suprimirá necesariamente la ovulación. Esto significa que no es un método garantizado de inducir estro oportuno. (Mottershead,2002).

3.9.2. PROGESTERONA Y ESTRADIOL:

Al administrar una combinación de progesterona y estradiol se asegura la manipulación eficiente del ciclo del estro de las yeguas. La porción del estradiol (estrógeno) de la mezcla suprime la ovulación de cualquier folículo presente y permite que la progesterona alcance el efecto que se desea. (Mottershead, 2002).

3.9.3. PROSTAGLANDINA F2 α :

El uso de la PGF2 α , encontrada más usualmente en las marcas como Lutalyse o Prostin, probablemente es la forma más común de manipulación hormonal en la yegua para inducir al estro. (Mottershead,2002)

La PGF2 α y sus análogos sintéticos provocan la luteólisis o regresión del cuerpo lúteo, con lo que se permite el inicio de un nuevo ciclo estral. Las prostaglandinas se utilizan únicamente en yeguas que se encuentran ciclando debido a que solo son eficaces después del día 5 post-ovulación, cuando ya se formo un cuerpo lúteo funcional, y hasta el día 17 del ciclo, por que después de ese día el cuerpo lúteo sufre lisis natural y deja de ser funcional. La mejor respuesta que se ha obtenido es cuando las prostaglandinas se administran entre el día 6-9 del ciclo estral. (Zarco y Boeta,2002).

3.10. Momento Óptimo de la Inseminación.

El recelado diario de la yegua es muy importante para el éxito de cualquier temporada reproductiva, sobre todo en un programa de inseminación artificial, ya que es básico detectar el primer día de celo de la yegua para tener informado al médico que programa las recolecciones y envíos de semen.

Para aumentar las posibilidades de concepción, la yegua se debe inseminar o servir lo más cercano posible al momento de la ovulación. Para estimar este momento es necesario palparlas frecuentemente hasta detectar un folículo preovulatorio y en ese momento hacer el pedido del semen. (Hernández y Medina, 1998)

Para la determinación del momento óptimo de la inseminación lo más importante es la palpación "*per rectum*" del aparato reproductivo de la yegua, siendo lo más recomendable realizar estas evaluaciones a intervalos nunca mayores de 12 horas y durante todo el periodo de estro de cada una de las yeguas ya que entre ellas presentan diferentes patrones cíclicos, lo que hace necesario la palpación diaria a partir del primer día de celo.

Una vez que se ha decidido inseminar a la yegua se debe realizar una primera inseminación aproximadamente entre 6 y 8 horas antes de que se produzca la ovulación y una segunda inseminación post-ovulación con una diferencia no mayor a 12 horas entre esta y la precedente. (Rosas, 1991)

Inseminar poco tiempo antes (6-12 horas) y después de la ovulación (6-12 horas) aumenta los porcentajes de preñez pues asegura esperma disponible en el momento de la liberación del óvulo. (Quijano, 2001)

3.11. Técnica de Inseminación.

El proceso real de la inseminación artificial en una yegua no es complicado, y se puede aprender muy rápidamente. Al contrario de la inseminación artificial en otro tipo de ganado, que implica el dirigir la pipeta de inseminación a través del cervix manipulándola a través del recto, la inseminación artificial del equino se realiza totalmente vía vaginal ya que el recto no es tan resistente a la manipulación como en otras especies. (Mottershead, 1999)

El lugar donde se lleve a cabo la inseminación debe estar lo más limpio posible, así como el personal que intervenga en ésta. A la yegua se le debe lavar cuidadosamente la región de la vulva y el periné con jabón neutro o de coco, secar perfectamente y vendar la cola con venda desechable y esta a su vez cubrirse con un guante de palpación que se fijara a la base de la cola con cinta adhesiva.

Todo el material que se utilice: pipeta de inseminación, jeringa, guante obstétrico y jalea lubricante deberá estar estéril y a una temperatura ligeramente mayor que la del semen. (Hernández, 1989)

Ya preparada la yegua se procede a preparar la dosis de inseminación, para lo cual el semen se homogeneiza suavemente y se coloca en una jeringa (si se trata de semen fresco o refrigerado). (Zarco y Boeta, 2000)

Algunas marcas comerciales de pipetas y jeringas han demostrado ser tóxicas para el semen del caballo, por lo que se recomienda utilizar solamente las adecuadas; si no es posible conseguir las el semen deberá estar el menor tiempo posible en las jeringas tóxicas (Hernández, 1989)

Una vez armada la pipeta de inseminación, se debe colocar en la palma de la mano izquierda, previamente enguantada y lubricada con gel no espermicida. (Zarco y Boeta, 2000)

El guante es invertido para asegurar máxima limpieza. (Mottershead, 1999). Se recomienda utilizar fundas protectoras en las pipetas para evitar introducir contaminantes al útero. Se debe introducir lentamente la mano por la vagina evitando lastimar la mucosa vaginal.

Se debe guiar el extremo anterior de la pipeta con el dedo índice con el cual se determinara al mismo tiempo la entrada y el grado de relajación del cervix. (Zarco y Boeta, 2000)

Cuanto más cercana este la yegua a la ovulación, más relajado se encontrara el cervix. En el centro del cervix será encontrada una pequeña depresión, que es la abertura al útero. Una de las descripciones más convenientes del cervix es que asemeja a la forma de un pequeño volcán. El inseminador

introducirá suavemente el dedo índice en esta depresión y entonces con el dedo como guía, deslice la pipeta de inseminación a lo largo de ella y en el útero. (Mottershead,1999)

La pipeta debe estar siempre en contacto con la palma de la mano o con el dedo índice para evitar que sea insertada dentro del orificio uretral o en el fornix de la vagina. Cualquier resistencia que se encuentre debe investigarse. Una vez pasado el cervix, la pipeta debe manipularse de tal forma que rompa la funda protectora y se procede a depositar el semen en el útero.

Para impulsar el semen se coloca una jeringa en el extremo superior de la pipeta. La jeringa debe haber sido previamente llenada con aire para poder impulsar todo el contenido del semen de la pipeta hasta el útero.

Finalmente se separan los labios vulvares con la mano derecha para remover la pipeta, jalando hacia atrás y hacia abajo dando un masaje en el cervix para estimular las contracciones uterinas que facilitan el transporte del semen hacia el sitio de fertilización. Después se cierran los labios para evitar que entre aire al interior del aparato reproductor. (Zarco y Boeta,2000)

3.12. Dosis de Inseminación.

La dosis de inseminación es el numero de espermias depositados en el útero a la hora del servicio y esta no debe confundirse con el volumen de la dosis de inseminación, la cual es la cantidad de diluyente en el cual el espermia esta suspendido.

Las yeguas que van a ser servidas por medio de la Inseminación Artificial, son usualmente inseminadas con 100 a 500 millones de espermatozoides progresivamente motiles. Sin embargo, el uso de 500 millones de

espermatozoides ha sido aceptada por la industria estándar como la cantidad para obtener los máximos porcentajes de preñez con semen fresco.

El semen recolectado para enfriamiento y transporte puede ser empacado con 1 a 2 billones de espermatozoides progresivamente motiles por dosis de inseminación para permitir un poco de deterioro de espermatozoides durante el transporte. El semen empacado para congelación debe contener por lo menos 600 millones de espermatozoides progresivamente motiles, sin embargo, dosis de 800 millones de espermatozoides pueden alcanzar altos porcentajes de preñez. (Samper,1995).

3.13. Volumen de Inseminación.

El volumen de diluyente usado para mezclar las células espermáticas en una dosis inseminante aparece para tener un pequeño efecto en los porcentajes de preñez. (Pace MM,1975). Las dosis pueden variar desde 0.5 ml. Hasta 100 ml. Con efectos no significantes en la fertilidad. El típico rango de volumen de inseminación para semen fresco esta entre 10 y 30 ml, desde 30 a 60 ml para semen frío y desde .5 a 5 ml para semen congelado-descongelado. (Brinsko, 1992).

3.14. Porcentaje de Preñez.

3.14.1. SEMEN FRESCO:

Inseminar, con el manejo apropiado del semen fresco de un semental fértil, es la más acertada técnica de inseminación artificial. Se pueden esperar porcentajes de concepción de 60 a 70 % por ciclo estral.

3.14.2. SEMEN TRANSPORTADO:

El éxito de servir con semen transportado depende de distintos factores: 1) el semental, 2) el manejo y proceso del semen, 3) manejo de la yegua y tiempo de inseminación y 4) estatus reproductivos de la yegua. El éxito del semen transportado bajo condiciones ideales es comparado con el del semen fresco. (Varner, 1989).

3.14.3. SEMEN CONGELADO:

Los factores más importantes para el efectivo porcentaje de preñez con semen congelado son: 1) el semental, 2) manejo y proceso del semen, 3) estatus de la yegua y 4) experiencia del inseminador. (Metcalf, 1995). Los porcentajes de preñez promedio con semen congelado son aproximadamente del 50 % pero pueden variar entre 30 y 65 %. (Samper,1994)

IV. CONCLUSIÓN.

La inseminación artificial en yeguas es una técnica de reproducción que nos brinda muchas ventajas y beneficios cuando se pretende establecer un programa de cruza, sin importar las dimensiones que este tenga, es decir, se puede aplicar tanto como para servir una o dos yeguas, o incluso cuadras enteras pudiéndose obtener resultados igualmente satisfactorios en cualquiera de los casos; sin embargo, la inseminación artificial en yeguas no ha tenido el avance tecnológico que ha tenido la inseminación en otras especies. Esto tiene que ver por un lado por la renuencia de algunas asociaciones de gran prestigio a aceptar el uso de esta técnica, y por otro, a la dificultad y delicadeza que presenta el semen del equino a las distintas técnicas de preservación, además de la falta de protocolos estándares de preservación de semen que nos dicten como llevar a cabo este procedimiento, ya que este se debe adecuar a cada caso en particular.

Para lograr resultados satisfactorios, se debe tener un conocimiento pleno sobre lo que concierne a la inseminación artificial, que no es tan solo la técnica en sí, si no que además se deberá estar totalmente relacionado con la anatomía, fisiología y endocrinología reproductiva, técnicas de recolección, evaluación, dilución y preservación del semen. Todo esto con el fin de obtener mejores resultados en cuanto a tasas de preñez se refiere, y así, al darse cuenta de los múltiples beneficios que nos ofrece esta técnica cuando es aplicada con un total conocimiento de sus bases; aumentara su uso y se difundirá con mayor auge entre los criadores y / o propietarios. Traduciéndose esto en un mayor avance en cuanto a investigaciones se refiere.

V. LITERATURA CITADA

- Alberto Gutiérrez Rosas. 1991. Aspectos prácticos de la inseminación artificial con semen congelado de equino. AMMVEE, XIII congreso anual.
- Brinsko SP, Varner DD. 1992: Artificial insemination and preservation of semen. Vet Clin North Am Equine Pract;8:205.
- Catherine J. Savage. Secretos de la medicina en equinos. 2000. Mc Graw Hill.
- Daniel Hernández M., Medina Ochoa Víctor. 1998. Inseminación artificial en el caballo utilizando semen frío. AMMVEE, XI congreso anual.
- Daniel Hernández M. 2001. Diluyentes del semen ¿para que sirven?. IV curso internacional de reproducción equina. UNAM.
- Dickinson D, *et al* , 2001. Procesing and transport of cooled stallion semen.
- Daniel Hernández M. Quijano M Gabriela. 1991, Aspectos generales del semen congelado del equino. AMMVEE XIII congreso anual.
- E.S.E. Hafez. 1989, Reproducción e inseminación artificial en animales. Interamericana México D.F.
- Gabriela Quijano M. 2001, Inseminación artificial con semen congelado en equinos. Memorias IV curso internacional de reproducción equina. UNAM.

- Hamilton DH, Osol R, Osol G, *et al*: 1984. A field study of the fertility of transported equine semen. *Theriogenology*;22:291.
- Jos Mottershead. 1998, Protocols for mare management when using frozen semen. [www. Equine-reproduction.com/articles/mom.htm](http://www.Equine-reproduction.com/articles/mom.htm)
- Jos Mottershead. 1999. Artificial insemination.
- Jos Mottershead. 2000. Breeding a mare with transported semen. [www. Equine-reproduction.com/articles/mare.htm](http://www.Equine-reproduction.com/articles/mare.htm)
- Kathy Anderson. 1999. Use of cooled stallion semen. www.mccallhrseworld.com
- Luis Zarco, Boeta Miriam. 2000. Reproducción Equina. UNAM.
- Mansman, Mcallister. 1985. Equine medicine and surgery. 3a Edición, Vol. II.
- Metcalf EJ. 1995. Maximizing reproductive Efficiency in private practice: the management of mares and the use of cryopreserved semen. Proc Annu Mtg Soc Therio;p 155.
- Oka, Hideo Alberto y Prieto Cesar, 2000: Manual de Inseminación Artificial Bovina (Paraguay)

- Pace MM, Sullivan JJ: 1975. Effects of timing on insemination, numbers of spermatozoa and extenders components in the pregnancy rates of mares inseminated with frozen stallion semen. *J Reprod Fertil*; suppl, 23:115.
- Parks JE, Graham JK. 1992: Effects of cryopreservation procedures on sperm membranes. *Theriogenology*;38:209.
- Rose Hodgson. 1995. Manual clínico de equinos. Interamericana.
- Samper JC, Hellander JC, Crabo BO. 1991: Relationship between the fertility of fresh and frozen stallion semen and semen quality. *J Reprod Fertil*. Suppl 44:107.
- Samper JC, Hearn P, Ganheim A, *et al.* 1994.: Pregnancy rates and effects of extenders and motility and acrosome status on frozen thawed stallion spermatozoa. *Proc Am Assoc Equine Pract*.
- Samper JC. 1995: Stallion semen cryopreservation: Male factors affecting pregnancy rates. *Proc Annu Mtg Soc Therio*, p 160.
- Samper JC. 2000, Techniques for artificial insemination. *Equine Theriogenology*.
- Sisson. S, Grossman J. D. 1986. Anatomía de los Animales Domésticos. 4a edición, Saunders Co., Philadelphia
- Sumano, Lizarraga, Cárdenas. 1998. Farmacología aplicada en equinos.

- Varner DD, Blanchard TL, Love CC, *et al.* 1989: Effects of cooling rate and storage temperature on equine spermatozoal motility patterns. *Theriogenology*;32:515.
- Varner DD, Blanchard TL, Meyers PJ, *et al.* 1989: Fertilizing capacity of equine spermatozoa stored for 24 hrs at 5 or 20 *Theriogeneology*.32:515.
- Varner DD. 1991: Composition of seminal extenders and its effects on motility of equine spermatozoa. Proc Annu Mtg Soc Therio,p. 146.
- W. Edward Allen. 1994. Fertilidad y obstetricia equina. Ed. Acribia S.A. España.