



**EVALUACIÓN DE TRES TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN Y ALGUNOS
FACTORES QUE AFECTAN EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE
VENADAS COLA BLANCA SOMETIDAS A LA INSEMINACION
ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO O AL SERVICIO NATURAL**

MVZ CLAUDIA GABRIELA ORTA CASTILLÓN

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

Subdirección de Posgrado

**Torreón, Coahuila, México.
Mayo de 2013**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

EVALUACIÓN DE TRES TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN Y ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE VENADAS COLA BLANCA SOMETIDAS A LA INSEMINACION ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO O AL SERVICIO NATURAL

TESIS POR

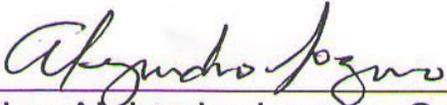
MVZ CLAUDIA GABRIELA ORTA CASTILLÓN

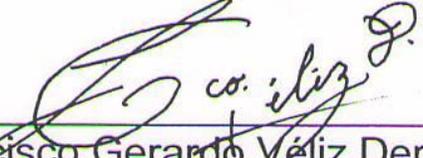
Elaborado bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como requisito parcial, para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCION AGROPECUARIA

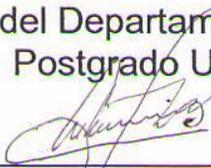
COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA

Asesor principal: 
DR. MIGUEL MELLADO BOSQUE

Asesor: 
Dr. Eloy Alejandro Lozano Cavazos

Asesor: 
Dr. Francisco Gerardo Véliz Deras


Dr. Fernando Ruiz Zárate
Subdirector de Postgrado


Dr. Pedro Antonio Robles Trillo
Jefe del Departamento de
Postgrado U.L.

DEDICATORIA

A DIOS: Por ser mi fortaleza y quien le da fuerza a mi alma para vencer las adversidades de mi vida.

A mis Padres Sr. Carlos Orta Lozano y Sra. Nora Delia Castellón Guajardo: Les agradezco infinitivamente lo que ahora soy por haberme dado la vida por todo la comprensión cariño apoyo y amor que me han brindado siempre; por enseñarme a seguir adelante para ser una persona de bien en la vida. Mil gracias por todos los sacrificios y esfuerzos que hacen por mí día a día, sin importar todo lo que han sufrido para darme la educación y enseñarme el ejemplo de la honradez del entusiasmo y sobre todo por tenerlos a mi lado.

A mi esposo Abelardo: Por su amor, paciencia, dedicación, consejos y todo el apoyo o aliento brindado para concluir mi formación en el trascurso de mi maestría, muchas gracias.

A mi familia y mi familia política: Que siempre estuvieron conmigo y me apoyaron en los momentos difíciles.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (mi "**Alma Terra Mater**"), por la oportunidad que me brindo para realizar mis estudios de maestría.

A mi Asesor principal: El Dr. Miguel Mellado Bosque, por su apoyo e instrucción durante mi formación, "GRACIAS".

A mi comité particular de asesoría: Dr. Francisco Gerardo Veliz Deras, y al Dr. Eloy Alejandro Lozano Cavazos por sus consejos educativos y su orientación a través de mis estudios.

A mi esposo Abelardo Rodríguez Gardea por ser mi inspiración, por su ayuda y orientación en la resolución de las innumerables problemáticas que enfrente en la realización de mis estudios de maestría.

A las autoridades de la Universidad y personas relacionadas con la formación escolar de mi posgrado, por su apoyo durante mi estancia en la maestría.

A todos los miembros del posgrado en producción agropecuaria.

Al Ing. Rosendo Valdez su familia y colaboradores, por las facilidades otorgadas en sus instalaciones cinegéticas y oficinas particulares, durante mi investigación y toma de datos.

Y a todas las personas que de alguna forma me acompañaron en la realización de mis estudios de maestría.

ÍNDICE

I PORTADA.....	I
II COMITÉ PARTICULAR DE ASESORIA.....	II
III DEDICATORIA.....	III
IV AGRADACIMIENTO.....	IV
V INDICE DE CONTENIDO.....	V
VI INDICE DE FIGURAS.....	XI
VII COMPENDIO.....	1
VIII ABSTRACT.....	7
IX INTRODUCCION.....	10
X OBJETIVOS.....	13
X.I OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	13
XI REVISION DE LITERATURA.....	14
11.1 Anatomía funcional de la reproducción.....	15
11.2 Anatomía del aparato reproductor del macho.....	15
11.2.1 Desarrollo.....	15
11.2.2 Desarrollo prenatal.....	16
11.2.3 Descenso de testículos.....	16
11.2.4 Desarrollo posnatal.....	17
11.2.5 Testículos y escroto.....	18
11.2.6 Termorregulación de los testículos.....	18
11.2.7 Epidídimo y conducto deferente.....	20
11.2.8 Estructura.....	21
11.2.9 Glándulas accesorias.....	21
11.2.10 Vesículas seminales.....	22
11.2.11 La próstata.....	23
11.2.12 Glándulas bulbouretrales.....	23
11.2.13 Función de las glándulas accesorias.....	23

11.2.14 Pene y prepucio.....	23
11.2.15 Estructura.....	24
11.2.16 Erección y protrusión.....	24
11.2.17 Emisión y eyaculación.....	25
11.3 Anatomía del aparato reproductor de la hembra.....	26
11.3.1 Embriología.....	27
11.3.2 Ovario.....	27
11.3.3 Cuerpo amarillo.....	29
11.3.4 Desarrollo.....	29
11.3.5 Regresión.....	30
11.3.6 Luteólisis.....	30
11.3.7 Cuerpo amarillo y preñez.....	31
11.3.8 Reconocimiento de la preñez por la madre.....	31
11.3.9 Oviducto.....	31
11.3.10 Anatomía.....	32
11.3.11 Células ciliadas.....	33
11.3.12 Células no ciliadas.....	34
11.3.13 Musculatura del oviducto y ligamentos relacionados.....	35
11.3.14 Patrón de contracciones del oviducto.....	35
11.3.15 Ligamentos útero-ováricos y afines.....	36
11.3.16 Útero.....	36
11.3.16.1 Glándulas endometriales y líquido uterino.....	36
11.3.16.2 Proteínas del útero.....	37
11.3.16.3 Contracción uterina.....	38
11.3.16.4 Metabolismo uterino.....	38
11.3.16.5 Función del útero.....	39
11.3.17 Transporte de espermatozoides.....	39
11.3.18 Mecanismos lúteo líticos.....	39
11.3.19 Implantación y gestación.....	40
11.3.20 Parto e involución postparto.....	40

11.3.21 Efectos de cuerpos extraños y de dispositivos intrauterinos.....	41
11.3.22 Cuello uterino.....	41
11.3.23 Estroma cervical y cambios fisiológicos.....	42
11.3.24 Moco cervical.....	43
11.3.25 Funciones.....	45
11.3.26 Transporte de espermatozoides.....	45
11.3.27.Cuello uterino durante la preñez.....	46
11.3.28 Vagina.....	46
11.3.29 Respuestas fisiológicas.....	47
11.3.30 Contracciones vaginales.....	47
11.3.31 Respuestas inmunológicas.....	47
11.3.32 Flora microbiana.....	48
11.3.33 Funciones de la vagina.....	49
11.3.34 Genitales externos.....	50
11.3.35 Vestíbulo.....	50
11.3.36 Labios mayores y labios menores.....	50
11.3.37 Clítoris.....	51
11.4 Fisiología de la reproducción.....	51
11.5 Hormonas y reproducción.....	51
11.6 Glándulas endocrinas.....	51
11.7 Hipotálamo.....	51
11.8 Hipófisis.....	51
11.9 Glándula pineal.....	52
11.10 Hormonas primarias de la reproducción.....	52
11.11 Hormonas hipotalámicas liberadoras / inhibidoras.....	53
11.12 Hormona adenohipofisaria.....	53
11.13 Hormona folículo estimulante.....	54
11.14 Hormona Luteinizante.....	54
11.15 Prolactina.....	54
11.16 Hormonas neurohipofisarias.....	55

11.17 Oxitócina.....	55
11.18 Melatonina.....	56
11.19 Hormonas esteroides gonadales.....	56
11.20 Estrógenos.....	56
11.21 Progestágenos.....	57
11.22 Andrógenos.....	58
11.23 Testosterona.....	58
11.24 Relaxina.....	58
11.25 Inhibina y activinas.....	58
11.26 Activinas.....	59
11.27 Folistatinas.....	59
11.28 Ciclos estruales.....	59
11.29 Regulación endocrina de los ciclos estruales.....	60
11.30 Estación reproductiva.....	60
11.31 Naturaleza de la estación reproductiva.....	60
11.32 Efecto del fotoperiodo y la temperatura.....	61
11.33 El fotoperiodo es básicamente un sincronizador de la actividad sexual.....	61
11.34 Factores que regulan la temporada de apareamiento.....	61
11.35 Foliculogénesis, maduración del óvulo y ovulación.....	62
11.36 Foliculogénesis.....	62
11.37 Crecimiento folicular.....	62
11.38 Endocrinología del crecimiento folicular y la ovulación.....	63
11.39 Esteroidogenesis.....	63
11.40 Maduración del ovulo.....	64
11.41 Ovulación.....	64
11.42 Mecanismos de la ovulación.....	64
11.43 Recepción del óvulo.....	65
11.44 Transporte y supervivencia de los gametos.....	65
11.45 Transporte de espermatozoides en el aparato reproductor de la hembra.....	66
11.46 El plasma seminal su importancia en el transporte y la fisiología de los espermatozoides.....	66

11.47 Distribución de los espermatozoides en el aparato reproductor femenino.....	67
11.48 Transporte rápido.....	67
11.49 Colonización de los depósitos espermáticos.....	67
11.50 Transporte y liberación lentos.....	68
11.51 Transporte de espermatozoides en el útero.....	68
11.52 Espermfagia.....	68
11.53 Transporte en el oviducto.....	69
11.54 Transporte de espermatozoides y fertilidad.....	69
11.55 Efecto de la sincronización del estro en el transporte de espermatozoides.....	70
11.56 Supervivencia de espermatozoides.....	70
11.57 Fijación y liberación de óvulos en el oviducto.....	71
11.57.1 Bloqueo mecánico.....	71
11.57.2 Bloqueo miógeno.....	71
11.58 Tiempo de vida fecundable y envejecimiento de óvulos.....	71
11.59 Desarrollo embrionario en el oviducto.....	72
11.60 Fecundación.....	72
11.61 Maduración del ovulo.....	72
11.62 Fijación del espermatozoide.....	73
11.63 Penetración de los espermatozoides.....	73
11.64 Fusión de gametos.....	73
11.65 Desarrollo de pro núcleos y singamia.....	74
11.66 Implantación.....	74
11.67 Reconocimiento materno de la preñez.....	75
11.68 Gestación.....	76
11.69 Duración de la gestación.....	76
11.70 Tecnología para la reproducción asistida.....	76
11.71 Evaluación del semen.....	76
11.72 Evaluación y fertilidad.....	76
11.73 Concentración espermática.....	76
11.74 Motilidad espermática.....	77

11.75 Inseminación artificial.....	78
11.76 Las ventajas de la IA son.....	79
11.77 Manejo de los machos y colección del semen.....	80
11.78 Procedimientos de montas e incitación.....	80
11.79 Descongelamiento del semen.....	80
11.80 Colección del semen.....	81
11.81 Diluyentes y diluciones del semen.....	81
11.82 Sincronización del estro para la IA.....	83
11.83 Efecto del macho.....	84
11.84 Método de inseminación.....	86
11.85 Momento de la inseminación.....	87
11.86 La nutrición y la reproducción.....	88
11.87 Efecto de la nutrición sobre el comportamiento sexual.....	89
11.88 Influencia de la alimentación de las hembras en su respuesta al efecto macho.....	90
XII LITERATURA CITADA.....	92
XIII ARTÍCULO.....	97

ÍNDICE DE FIGURAS

1 Representación esquemática de diluyentes y diluciones

2 Resumen de varios métodos de inseminación

COMPENDIO

EVALUACION DE TRES TÉCNICAS DE REPRODUCCIÓN Y ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN EL DESEMPEÑO REPRODUCTIVO DE VENADAS COLA BLANCA SOMETIDAS A LA INSEMINACION ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO O AL SERVICIO NATURAL

Por

Claudia Gabriela Orta Castellón

Tesis

Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Producción Agropecuaria.

Asesor:

Dr. Miguel Mellado Bosque

Resumen

Se sabe que las técnicas de inseminación artificial se remontan al siglo XV a través de estudios realizados por la esposa del Rey Enrique IV de Castilla pero fue hasta el año 1784 donde se tiene el primer registro de la primera hembra inseminada por el fisiólogo italiano Lazzaro Spallanzani; una perra que procreo a 3 cachorros totalmente sanos 62 días después de llevada a cabo la IA.

La inseminación artificial es usada en animales para propagar buenas cualidades de un macho en muchas hembras, y así generar más material genético y de mayor calidad en cuanto a características deseadas sobre la especie a reproducir. Se pueden utilizar animales existentes del lugar o que se encuentren a miles de kilómetros de las hembras a inseminar, ya que el semen es recolectado, refrigerado y / o congelado, y enviado a la ubicación de la hembra.

Esta técnica reproductiva es especialmente empleada en caballos, vacas, cerdos, perros, ovejas y recientemente se está utilizando en animales de vida silvestre o en peligro de extinción, como una manera de proteger y reproducir masivamente a estos animales, además permite un uso más amplio del potencial genético del animal ya que puede servir a un número mayor de hembras reproductoras.

Para conservar el semen se diluye en una solución que contiene los componentes necesarios para mantener la viabilidad de los gametos, tales como azúcares (usualmente fructosa), sales y nutrientes tales como los aportados por la yema de huevo o la leche descremada.

Si las muestras son congeladas, necesitan de la adición de agentes crioprotectores como el glicerol para conservarlo mejor. También se le añade antibióticos para controlar el crecimiento bacteriano y disminuir el riesgo de contaminación bacteriana.

Algunas de las ventajas de usar métodos de inseminación artificial serían:

1.- Aprovechamiento del macho. El mejor aprovechamiento del macho se refiere, por un lado a que sus genes son distribuidos en una mayor cantidad de crías, sin embargo ha de tenerse en cuenta también, que, dado que el semen se conserva en forma prácticamente indefinida, se puede obtener crías de ellos aún cuando hayan muerto. Esto permite, entre otras cosas, conservar genética de animales con características deseables una vez que ellos han muerto.

2.- Mejoramiento genético. La inseminación artificial no es por sí misma una herramienta de mejoramiento genético, pero en virtud de que se obtienen grandes cantidades de descendientes de un mismo macho, es lógico que la selección de ellos ha de ser muy exigente (alto índice de selección); Es así como sólo unos pocos especímenes de una determinada especie son progenitores de un alto porcentaje de los individuos de las siguientes generaciones. La correcta determinación de

las características a seleccionar y de la selección misma de los reproductores empuja los diferenciales de selección en la dirección requerida por el mercado y los productores.

3.- Evita transmisión de enfermedades. Los machos que aportan el material seminal deben encontrarse libres de toda aquella enfermedad, venérea o no, que pudiese transmitirse a través del semen, asegurándose así que no existe riesgo de transmitir enfermedades desde el macho a las hembras en cuyos sistemas reproductivos se depositará el semen. Esta condición sanitaria ha adquirido especial importancia desde que el semen se puede conservar por largos períodos, puesto que ello ha permitido el comercio internacional del material seminal.

4.- Aumenta la fertilidad. El uso correcto de la biotecnología en los animales permite alcanzar tasas de preñes equiparables a las de la cubierta natural en la mayoría de las especies. En otras especies animales el semen fresco (sin congelar) mantiene las tasas de preñes (fertilidad), pero ésta se reduce al congelar el semen. Sin lugar a dudas que esta biotecnología también se puede usar como una alternativa de obtener crías de un macho con problemas de fertilidad (incapacidad para montar, incapacidad para eyacular, semen de baja concentración, etcétera.)

5.- Uso de sementales que están en malas condiciones físicas. Tanto fracturas, desgarros musculares, especialmente del tren posterior, pueden impedir que un macho realice normalmente el coito, siendo entonces la inseminación artificial una alternativa para obtener crías de ellos. Por otra parte, los animales excesivamente gordos o extremadamente emaciados pueden pasar por periodos de sub-fertilidad. Una adecuada colección de semen y su correcta manipulación (en cuanto a concentración) puede permitir la obtención de descendientes de esos animales.

6.- No importa el peso de los dos géneros: Ni el peso, ni la talla del macho y la hembra que se cruzan tienen importancia en la inseminación artificial. Es perfectamente posible inseminar hembras de razas grandes con machos de razas muy pequeñas.

7.- Velocidad de fecundación. Un macho puede preñar en el mismo día a un máximo de 3 a 4 hembras, sin embargo, gracias a la sincronización de celos, es posible tener muchas más hembras en estro en una misma fecha. Gracias a la inseminación artificial estos celos pueden aprovecharse, lográndose entre otras cosas, un periodo de fecundación más corto y una mayor homogeneidad en las edades de las crías obtenidas, lo que permite una mejor comercialización de los mismos.

8.- Control absoluto del hato. La inseminación artificial da origen a registros de mayor calidad, lo que permite un mejor manejo de los animales y una mejor evaluación de los mismos.

9.- Apareamiento correctivo por tipo. Gracias a la gran cantidad de descendientes que deja cada macho, es posible evaluarlos desde el punto de vista productivo y de estructura de las crías, así los productores cuentan con información que le permite seleccionar los machos a usar y corregir (en las futuras generaciones) defectos de las madres, como pueden ser la forma de las ubres, de las extremidades o de las grupas.

10.- Costos. La inseminación artificial reduce los costos de preñar las hembras, por un lado porque no requieren de sementales presentes en las fincas y por otro lado porque el material seminal, en la medida que la biotecnología se masifica, ha alcanzado valores relativamente bajos.

Por lo anteriormente expuesto, se realizó un estudio para evaluar el uso de tres técnicas de reproducción y averiguar el impacto de algunos factores que afectan el desempeño reproductivo de venadas cola blanca (*Odocoileus virginianus texanus*) sometidas a la inseminación artificial a tiempo fijo o al servicio natural.

El estudio consistió en tres grupos de hembras de venado cola blanca las cuales se sometieron cada uno a un tipo de reproducción, ya sea por monta natural, inseminación cervical o inseminación laparoscópica.

La sincronización del estro y la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) se llevó a cabo en 130 venadas cola blanca durante tres temporadas reproductivas (diciembre 2007-2009; 271 servicios) en un rancho cinegético en el norte de México. Adicionalmente, noventa venadas no tratadas hormonalmente fueron expuestas a machos para su fecundación en forma natural. El estro se sincronizó con un dispositivo impregnado de progesterona (CIDR de 0.3 g de progesterona) insertado durante 14 días, seguido por una inyección de 500 UI de eCG al momento de la remoción del CIDR. La IATF se realizó 60 h después de la remoción del CIDR. Además, se investigaron los efectos de la inseminación artificial (IA), las técnicas (transcervical o laparoscópica), las condiciones climáticas al tiempo de la IATF, el año y la tasa de preñez por semental. Se consideraron además los rasgos de las crías. La tasa de preñez no difirió con el método de IA (40.0 frente a 45.0% por vía transcervical o laparoscópica, respectivamente). En la tasa de preñez general (la proporción de todas las crías después de la IATF y un período posterior de exposición de las venadas al semental) no hubo diferencia entre la inseminación transcervical (89.5%), laparoscópica (80.3%) o por monta natural (88.9%). El tamaño de la camada por venada preñada fue mayor ($P < 0.05$) en las no tratadas y fecundadas naturalmente (1.65 ± 0.48 , con una media y desviación estándar) que en las inseminadas transcervicalmente (1.40 ± 0.51) o por vía laparoscópica (1.48 ± 0.50). El factor más importante que influyó en la tasa de preñez después de la IATF fue el semental. La tasa de preñez no se vio afectada por los índices de temperatura y humedad (ITH; rango = 56-80) en la IATF, los ITH de tres días después de la IA y el año que se llevo a cabo la inseminación, pero el tamaño de

camada se redujo ($P < 0.05$) con un ITH > 74 al tiempo de la IATF (1.40 ± 0.5 contra 1.54 ± 0.5). Se concluyó que no se produjo aumento en la tasa de preñez ni en el tamaño de la camada como resultado de la deposición intrauterina de semen por vía laparoscópica, por lo que el método estándar de IA transcervical parece más adecuado para el venado cola blanca, ya que es una técnica más sencilla, más rentable y menos invasiva que la IA por laparoscopia.

Abstract

Factors affecting reproductive performance of white-tailed deer subjected to fixed-time artificial insemination or natural mating

Thesis

By

Claudia Gabriela Orta Castellón

Presented as a partial requirement to obtain the degree of:

Master In Agropecuarian Production Science

Adviser

Dr. Miguel Mellado Bosque

Abstract

The objectives of this study were to examine the effects of several factors affecting fawning rate, litter size, litter weight and neonatal fawn mortality in white-tailed deer inseminated either transcervically or by means of laparoscopy. Oestrus synchronisation with a controlled internal drug release (CIDR)-based protocol and fixed-time artificial insemination (FTAI) was conducted in 130 white-tailed deer (*Odocoileus virginianus texanus*) during three reproductive seasons (2007–2009; 271 services) in a game-hunting ranch in a hot–arid environment (26840 N, 1018250 W).

Ninety additional non-treated does were exposed to bucks for natural mating. Fawning rate did not differ between AI methods (40.0 vs 45.0% for transcervical and laparoscopic AI, respectively). Overall fawning rate (proportion of all does fawning after FTAI and a subsequent period of buck exposure) did not differ between transcervical (89.5%), laparoscopic (80.3%) or natural (88.9%) insemination. Litter size per fawning doe was higher ($P,0.05$) in naturally-served does (1.65_{0.48}) than in transcervically-

inseminated does (1.40_0.51) or in laparoscopically-inseminated does (1.48_0.50). The main conclusion was that no enhancement of fawning rate or litter size occurred as a result of intrauterine deposition of semen by laparoscopy compared with the transcervical insemination technique.

Additional keywords: *fawning rate, fawn mortality, laparoscopic insemination, transcervical insemination.*

INTRODUCCION

La producción animal a nivel mundial ha mostrado cambios de acuerdo a las necesidades y actitudes de los consumidores, lo cual ha ejercido un considerable impacto en el mercado. Una tendencia en la demanda de nuevos productos, ha convertido a la industria cinegética en un importante generador de recursos financieros para los productores.

La actividad cinegética en los ungulados silvestres constituye un recurso natural, cuyo arraigo y extensión en muchas áreas geográficas de México la convierten en un formidable instrumento de conservación del medio natural, así como de fomento del desarrollo rural.

Esto viene determinado por un planteamiento actual de la caza de venado cola blanca o otras especies desde un punto de vista racional, en el que se trata de conjuntar tanto la perspectiva proteccionista, cuyo objetivo es no dañar los niveles tróficos ni perjudicar los ecosistemas, con la generación de recursos económicos especialmente en zonas desfavorecidas. Todo ello sin que la actividad cinegética implique una mayor presión sobre el medio, sino que permita una mejora del manejo y conservación de la fauna como recurso sostenible en las zonas donde habita. La generación de empleo y recursos económicos en el medio rural representa una de las repercusiones más positivas del aprovechamiento cinegético ordenado y responsable. En este contexto, y bajo las premisas del uso sostenible y racional de los recursos naturales, la conservación de las distintas especies cinegéticas constituye en sí misma una razón de peso para avalar la contribución de la actividad cinegética al mantenimiento del medio ambiente y la biodiversidad. La conservación, protección y reproducción controlada de estas especies tiene, por tanto, suficientes derivaciones ecológicas, económicas y sociales como para que su ordenación deba ser planteada con la

necesaria base científica y de una forma integrada en las políticas de conservación, manejo y aprovechamiento sostenible de la biodiversidad.

El uso de la caza como desarrollo sostenible de los recursos naturales renovables es un hecho bien aceptado en la comunidad internacional, ya que contribuye a diversificar las producciones y a la vez protege especies amenazadas o vulnerables a la extinción al ser tan codiciadas por los cazadores. De este modo la creación de ranchos cinegéticos ha provocado que la caza evolucione brindando una alternativa a los sistemas tradicionales de producción extensiva, permitiendo obtener importantes beneficios sociales, económicos y de protección animal.

El desarrollo de las diferentes técnicas de reproducción asistida que, hasta hace poco tiempo, solo eran aplicables en especies domesticas, han favorecido, por un lado, la optimización de explotaciones cinegéticas, ya que ayudan a producir ejemplares con elevado valor genético, y buen desarrollo del trofeo y, por otro lado, pueden ser aplicables para garantizar la conservación de especies, subespecies o ecotipos con algún tipo de amenaza.

Sin embargo, la productividad y rentabilidad de esta industria depende del desempeño reproductivo de los animales (Martin y Kadokawa, 2006). La mayor limitación de la producción cinegética de venados es, el que se debe mejorar constantemente la calidad de trofeo, por lo que el desafío para los investigadores es desarrollar e implementar técnicas de reproducción asistida las cuales brinden una solución para mejorar a la especie genética y fenotípicamente en un menor tiempo y a un menor costo.

La inseminación artificial es un método que puede contribuir en la solución a este problema.

La inseminación artificial vía cervical es una de las técnicas usadas para producir y mejorar genéticamente ungulados de gran valor cinegético.

En la inseminación cervical, se realiza la disposición del semen en el cérvix hasta una profundidad promedio de 3 mm. Se limpia la vulva de la hembra con una gasa y se introduce un vaginoscopio hasta una profundidad de 10 – 13 cm. Una vez que el cérvix es localizado, la pipeta de inseminación se introduce hasta la mayor profundidad posible, sin forzarla. Antes de descargar el semen, se retira un poco el vaginoscopio hacia atrás a fin de facilitar el cierre de la vagina anterior evitando que el semen se derrame. Posteriormente se retira primero la pipeta y luego el vaginoscopio. La limpieza de la vagina es importante para evitar contaminación o mocos antes de depositar el semen.

En la inseminación intrauterina por laparoscopia a las hembras se les debe de someter a ayuno de 12 hrs o más para reducir el contenido estomacal y facilitar la localización de los ovarios y el útero, evitando además la regurgitación desde el rumen durante la laparoscopia.

La venada se coloca con los cuartos levantados, en una camilla en un ángulo de 45°. Primeramente se introduce en la cavidad peritoneal el trocar de 7 mm y la cánula a la izquierda de la línea media se debe tener cuidado de no perforar ningún órgano ni vena principal. Antes de introducir el trocar de 5 mm y cánula a la derecha de la línea media, es conveniente insuflar aire dentro del abdomen. La cavidad abdominal puede examinarse con posterioridad retirando el trocar de 7 ml, y reemplazándolo por el endoscopio. El útero se localiza justo delante de la vejiga.

A través de la cánula de 5 mm se introduce la pipeta de inseminación, con una cámara de aire de 0.3 mm y 0.5 ml de semen.

Este experimento permitió conocer realmente las ventajas de cada una de las técnicas de inseminación artificial más popularmente usadas para la producción de mejores animales, así como saber cuál de las técnicas aquí estudiadas es la ideal para implementar, tomando en cuenta los riesgos al que se someten tanto los animales como los productores. Además, se comparan los

resultados de producción con la implementación de estas dos técnicas de inseminación artificial con los resultados que brinda el solo llevar a cabo la técnica de monta natural.

Esta investigación permite desarrollar estrategias encaminadas a mejorar el manejo y la eficiencia de las diferentes técnicas de reproducción del cual depende la producción de animales de alto valor genético para la industria cinegética.

OBJETIVOS

Los objetivos del estudio que conforma la presente tesis son:

- Determinar que técnica en reproducción es adecuada implementar para preservar, cuidar y mejorar genéticamente la especie de venados cola blanca.
- Determinar el efecto del año, las condiciones climáticas en la IA y el semental en la tasa de nacimientos, de ovulación inducida y sometidas a IA a tiempo fijo.
- Un objetivo adicional fue evaluar el efecto de diversos factores que afectan el tamaño de camada por hembra y la supervivencia perinatal de las crías.

Objetivos específicos

- Evaluar el porcentaje de hembras preñadas por MN comparado con el porcentaje de hembras preñadas por inseminación artificial vía laparoscópica o cervical.
- Conocer cuál es la mejor técnica de reproducción asistida para el venado cola blanca
- Aumentar la eficiencia genética y el número de animales para una posterior repoblación y caza controlada en el rancho de estudio.
- Comprobar cuál de las dos técnicas de inseminación artificial es la más eficaz, en cuanto a riesgos, costos y beneficios.

HIPOTESIS

El porcentaje de fertilidad de la técnica de inseminación artificial, cervical o laparoscópica es lo suficientemente alto para considerarlo como una excelente posibilidad para mantener un estándar alto de calidad genética en los venados cola blanca que se crían en cautiverio, a un menor costo.

La inseminación artificial vía laparoscópica representa demasiados riesgos al productor en cuanto a pérdidas de hembras para tratar de incrementar la cantidad de crías.

Si se le proporcionan las condiciones adecuadas al venado cola blanca entonces se logrará llevar a cabo una producción y reproducción satisfactoria para los fines de este proyecto y así contribuir al mejoramiento genético de esta especie y además de comenzar a impulsar y promover la ganadería diversificada.

REVISIÓN DE LITERATURA

Anatomía funcional de la reproducción

Anatomía del aparato reproductor del macho

Las gónadas del macho o testículos, están situadas fuera del abdomen, en el escroto, que es una estructura sacular derivada de la piel y la aponeurosis de la pared abdominal. Cada testículo descansa dentro del proceso vaginal, una extensión separada del peritoneo que pasa a través de la pared abdominal en el conducto inguinal. Los anillos inguinales profundo y superficial son las aberturas profunda y superficial del conducto inguinal. Vasos sanguíneos y nervios llegan al testículo en el cordón espermático dentro del proceso vaginal. El conducto deferente acompaña a los vasos pero se separa de ellos en el orificio del proceso mencionado para unirse a la uretra. Además de permitir el paso del proceso vaginal y su contenido, el conducto inguinal también da cabida a vasos y nervios que van a los genitales externos (Schatten and Constantinescu, 2007).

Los espermatozoides salen del testículo por los conductos eferentes que se unen al conducto contorneado del epidídimo, el cual enseguida se continúa como el conducto deferente recto. En este último o en la porción pélvica de la uretra descargan su secreción las glándulas accesorias.

La uretra se origina en el cuello de la vejiga. En toda su longitud está rodeada de tejido vascular cavernoso. Su porción pélvica, envuelta por musculo uretral estriado, recibe secreciones de diversas glándulas y las lleva a una segunda porción peneana de la cavidad pélvica. Aquí se le unen otros dos cuerpos cavernosos para formar el cuerpo del pene, que se proyecta por debajo de la piel de la pared corporal (Schatten and Constantinescu, 2007).

Varios músculos agrupados alrededor del orificio de salida de la pelvis contribuyen a formar la raíz del pene. La punta o parte libre de este órgano está cubierta por piel modificada, el integumento peneano, que en reposo se encuentra cubierto por el prepucio (Neill et al., 2006).

Los testículos y epidídimo son irrigados por sangre de la arteria testicular, la cual surge de la aorta dorsal cerca del sitio de origen embrionario de los testículos. La arteria pudenda interna irriga los genitales pélvicos, y sus ramas salen de la cavidad pélvica por el arco del isquion (arco isquiático) para llevar sangre al pene. Este último, así como el escroto y el prepucio, son irrigados por la arteria pudenda externa, la cual sale de la cavidad abdominal a través del conducto inguinal (Schatten and Constantinescu, 2007).

La linfa procedente del testículo y el epidídimo pasa a los ganglios linfáticos de la aorta lumbar. La linfa de glándulas accesorias, uretra y pene llega a los ganglios iliacos medios y sacros: la del escroto, prepucio y tejidos peripeneanos drena hacia los ganglios linfáticos inguinales superficiales.

Los nervios aferentes y eferentes (simpáticos) acompañan a la arteria testicular hacia el testículo. El plexo pélvico proporciona fibras autónomas (simpáticos y parasimpáticos) a los genitales pélvicos y a los músculos lisos del pene. Los nervios sacros envían fibras motoras a los músculos estriados de este último, y fibras sensitivas a su parte libre. Las fibras eferentes del escroto y el prepucio están incluidas principalmente en el nervio genitofemoral (Schatten and Constantinescu, 2007).

Desarrollo

Desarrollo prenatal

Los testículos se desarrollan en el interior del abdomen, en posición media respecto al riñón embrionario (mesonefros).

Dentro del testículo, el plexo de conductos se conecta a los tubulos mesonéfricos y de este modo al conducto mesonéfrico, para formar el epidídimo, conducto deferente, y la glándula vesicular. Las glándulas prostática (próstata) y bulbouretral se forman a partir del seno urogenital embrionario, y el pene se genera por tubulación y alargamiento de un tubérculo que se desarrolla en el orificio del seno urogenital.

Dos agentes producidos por el testículo fetal se encargan de esta diferenciación y desarrollo. El andrógeno fetal causa el desarrollo del conducto reproductor masculino. La hormona inhibidora de los conductos de Muller, una glucoproteína, suprime los conductos paramesonéfricos (de Muller) a partir de los cuales surgen el útero y vagina en la hembra (Broekmans et al., 2008). Las anomalías en la diferenciación y el desarrollo de las gónadas y los conductos pueden dar como resultado grados variables de intersexualidad.

Descenso de testículos

Durante el descenso testicular, la gónada emigra caudalmente dentro del abdomen hacia el anillo inguinal profundo. Después atraviesa la pared abdominal para emerger en el anillo inguinal superficial que es, de hecho, un agujero muy agrandado del nervio genitofemoral (L3, L4). El testículo completa su recorrido al descender al fondo del escroto. Tal descenso es precedido por la formación del proceso vaginal, un saco de peritoneo que se extiende de un lado a otro de la pared abdominal y encierra al ligamento inguinal testicular (Lobo et al., 2009).

Este último a menudo se llama gubernáculo testicular (*gubernaculum testis*), y termina en la región de los rudimentos escrotales. El descenso sigue la línea del gubernáculo. El momento del descenso es variable.

Algunas veces los testículos no entran en el escroto. En tal anomalía (criptorquidia) no se satisfacen las necesidades térmicas especiales del testículo y el epidídimo, aunque no está afectado el funcionamiento endocrino testicular. De este modo, los machos con criptorquidia bilateral presentan impulso sexual normal pero son estériles. En ocasiones alguna de las vísceras abdominales pasa por el orificio del proceso vaginal y entra en el escroto (Lobo et al., 2009).

Desarrollo posnatal

Cada componente de los conductos reproductivos de todos los animales domésticos aumenta de tamaño respecto a la talla corporal global y se diferencia histológicamente. No todos los componentes del aparato reproductor adquieren competencia funcional de manera simultánea. En la pubertad, todos los componentes del aparato reproductor masculino han alcanzado ya una etapa de desarrollo lo suficientemente avanzada para que el sistema en su conjunto sea funcional. El lapso de rápido desarrollo que precede a la pubertad se denomina periodo prepuberal. Durante el periodo pospuberal, el desarrollo continuo y el conducto reproductivo alcanza su completa madurez sexual meses o incluso años después de la edad puberal.

Testículos y escroto

El testículo está fijo a la pared del proceso vaginal, a lo largo de la línea de su unión con el epidídimo. Su posición en el escroto y la orientación del eje mayor de los testículos difieren con la especie. La red testicular (red de Heller o rete testis) está revestida de un epitelio cuboidal no secretor.

El tamaño testicular varía durante el año en las especies con reproducción estacional. La extirpación de un testículo causa un considerable aumento de tamaño en el otro (hasta 80% de incremento en el peso).

En el animal con criptorquidia unilateral, la extirpación del testículo descendido puede ir seguida por el descenso del testículo abdominal a medida que este crece.

Las células intersticiales (de Leydig), que se encuentran entre los túbulos seminíferos, secretan hormonas masculinas en las venas testiculares y los vasos linfáticos. Las células esmermatogénicas del túbulo se dividen y diferencian para formar espermatozoides. Inmediatamente antes de la pubertad, las células sustentaculares (de Sertoli) de los túbulos forman una barrera, que aísla de la circulación general a las células germinales en diferenciación. Estas células sustentaculares contribuyen a la producción de líquido por los túbulos, y es posible que produzcan el factor inhibidor de los conductos de Muller presente en el líquido de la red de Haller en machos adultos. El número de células de Sertoli no aumenta una vez que se ha alcanzado la pubertad. Ello puede limitar la espermiogénesis. La producción de espermatozoides aumenta con la edad en periodo pospuberal, y en machas especies está sujeta a cambios estacionales. La castración de machos prepuberres suprime el desarrollo sexual: en machos adultos, induce cambios regresivos de comportamiento y estructurales. Los trastornos en la espermatogénesis son monitoreados por cambios en los parámetros seminales en la eyaculación o por infertilidad (Schatten and Constantinescu, 2007).

La inervación autónoma de los testículos es importante en la regulación de las funciones del aparato genitourinario en el macho. Los mecanismos adrenérgico, colinérgico y no adrenérgico no colinérgico (NANC) operan conjuntamente para asegurar un almacenamiento confiable de la orina y su liberación de la vejiga para regular el transporte y el almacenamiento de semen en el aparato reproductor y coordinar la emisión / eyaculación de las glándulas sexuales accesorias (Saravia et al., 2009).

La inervación adrenérgica puede actuar como mediadora en la función epididimaria. La inervación simpática dentro del epidídimo es necesaria para eventos neuromusculares que se requieren para el transporte del semen. La entrada neuronal participa en la conservación de la función epididimaria (Ricker et al., 1996).

Termorregulación de los testículos

Para funcionar correctamente, los testículos de los mamíferos deben mantenerse a una temperatura menor que la del cuerpo. Determinadas características anatómicas del testículo y escroto permiten la regulación de la temperatura testicular. Los receptores de temperatura presentes en la piel escrotal pueden inducir respuestas que tienden a reducir la temperatura corporal global y a provocar jadeo y sudoración (Robersshaw et al., 1980).

La piel escrotal es rica en grandes glándulas sudoríparas adrenérgicas, y su componente muscular (dartos) le permite modificar el espesor y la superficie del escroto y variar la cercanía del contacto de los testículos con la pared corporal.

En todos los animales domésticos, la arteria testicular es una estructura contorneada con forma de cono, cuya base descansa en el polo craneal o dorsal del testículo. Estos giros arteriales están íntimamente rodeados por el plexo pampiniforme de venas testiculares (Hees et al., 1990). En este mecanismo de contracorriente, la sangre arterial que entra a los testículos es enfriada por la sangre venosa que sale de ellos. La posición de arterias y venas cerca de la superficie testicular tiende a incrementar la pérdida directa de calor de los testículos (Schatten and Constantinescu, 2007).

Epidídimo y conducto deferente

Estructura

Se reconocen tres regiones anatómicas del epidídimo. La cabeza, en la que una cantidad variable de conductos eferentes (13 a 20) (Hemeida et al., 1978) se unen al conducto epididimario. Esta forma una estructura aplanada en uno de los polos testiculares: el estrecho cuerpo termina en el polo opuesto en la amplia cola. La región media de cada conducto eferente muestra notable actividad secretora (Goyal et al., 1978). El conducto contorneado del epidídimo es muy largo (más de 45 m). La pared del conducto del epidídimo tiene una notable capa de fibras musculares circulares y un epitelio pseudoestratificado de células cilíndricas. Histológicamente pueden distinguirse tres segmentos del conducto del epidídimo, los cuales no coinciden con las regiones anatómicas macroscópicas (Amann et al., 1987).

Hay una disminución progresiva de la altura del epitelio y los estereocilios, y ensanchamiento de la luz a través de los tres segmentos. Los dos primeros segmentos se encargan de la maduración de los espermatozoides, mientras que el término se destina a su almacenamiento.

La luz de los túbulos epididimarios está revestida de epitelio constituido por una capa basal de células pequeñas y una superficie de células ciliadas grandes.

La mucosa del conducto deferente está dispuesta en pliegues longitudinales. Cerca del extremo epididimario, el epitelio se parece al del epidídimo, pues las células no ciliadas tienen poca actividad secretora. La luz esta revestida de epitelio pseudoestratificado. La ampolla del conducto deferente tiene glándulas tubulares ramificadas, las cuales, en el garañón, están muy desarrolladas y aportan ergotionina al semen que se eyacula. El conducto eyaculatorio entra en la uretra. Captación de líquido y espermfagia se realizan en el epitelio del conducto eyaculatorio (Abou et al., 1990). Se ha

empleado microscopía electrónica de barrido para evaluar la ultraestructura funcional de los órganos reproductivos masculinos, con especial hincapié en la espermatogénesis. Diariamente salen del testículo grandes volúmenes de líquido, y la mayor parte es absorbida en la cabeza del epidídimo por el segmento inicial del conducto epididimario. El transporte de espermatozoides por el epidídimo requiere de nueve a 13 días. La maduración de los espermatozoides ocurre durante el tránsito por el epidídimo: la motilidad aumenta a medida que aquellos entran en el cuerpo de éste. El ambiente de las células espermáticas en la cola del epidídimo proporciona factores que favorecen la capacidad fecundante: cuando se encuentran en esta región tienen mayor fecundidad que los del cuerpo epididimario (Amann et al., 1987).

Los espermatozoides almacenados en el epidídimo conservan capacidad fecundante por varias semanas: la cola de esta estructura es el principal órgano de almacenamiento, contiene alrededor del 75% de las células espermáticas alojadas en el epidídimo. La capacidad especial de la cola de almacenar espermatozoides depende de las temperaturas relativamente bajas del escroto y de la acción de la hormona sexual del macho (Foldesey et al., 1982). Los espermatozoides almacenados en las ampollas constituyen sólo una pequeña parte de las reservas extragonadales totales. En el semen eyaculado semanas o incluso meses después de la castración se observan pequeñas cantidades de espermatozoides inmóviles.

Glándulas accesorias

La próstata y las glándulas bulbouretrales vierten sus secreciones en la uretra, donde, en el momento de la eyaculación, se mezclan con la suspensión de espermatozoides y secreciones ampulares del conducto deferente (Neill et al., 2006).

Vesículas seminales

Se encuentran en posición lateral respecto a las porciones terminales de cada conducto deferente. En los rumiantes son compactas y lobuladas. El conducto de las vesículas seminales y el conducto deferente suelen compartir un conducto eyaculatorio común que se abre en la uretra.

La próstata

Una parte externa lobulada claramente distinta del resto de la próstata se encuentra fuera del grueso musculo uretral, y otra parte interna o diseminada rodea la uretra en ubicación profunda respecto a dicho musculo. La próstata diseminada se extiende en sentido caudal hasta los conductos de las glándulas bulbouretrales (Neill et al., 2006).

Glándulas bulbouretrales

Se encuentran en posición dorsal a la uretra, cerca de la terminación de su parte pélvica. En rumiantes, el conducto de las glándulas bulbouretrales se abre en depresión uretral (Neill et al., 2006).

Función de las glándulas accesorias

Además de aportar un medio líquido para el transporte de espermatozoides, la función de las glándulas accesorias es incierta, aunque se conoce de los agentes químicos específicos que

proporcionan al semen que se eyacula (Spring et al., 1980). La fructuosa y el ácido cítrico son componentes importantes de las secreciones de la vesícula seminal en los rumiantes domésticos.

Los espermatozoides de la cola del epidídimo son fértiles cuando se les emplea para inseminación sin agregar las secreciones de las glándulas accesorias. En la inseminación artificial comercial, esta fracción se elimina del semen por filtración.

Pene y prepucio

Estructura

El pene de los mamíferos tiene tres cuerpos cavernosos que se agrupan alrededor de la uretra peneana. El cuerpo esponjoso, que rodea a la uretra, se expande. Este bulbo está cubierto por el músculo bulboesponjoso estriado. El cuerpo cavernoso se origina en un par de raíces en el arco isquiático, que están cubiertas por los músculos isquiocavernosos. Una gruesa cubierta (túnica albugínea) envuelve los cuerpos cavernosos (Frandsen et al., 2003).

Los músculos retractores del pene de rumiantes controlan la longitud peneana efectiva por la acción que ejercen sobre la cobertura sigmoidea.

En rumiantes, el orificio del prepucio es controlado por el músculo craneal del prepucio: también puede estar presente un músculo caudal (Neill et al., 2006).

Erección y protrusión

La estimulación sexual produce dilatación de las arterias que riegan los cuerpos cavernosos del pene (en especial las raíces). El enderezamiento del pene en los rumiantes es causado por el músculo

isquiocavernoso, que bombea sangre desde los espacios cavernosos de las raíces hacia el resto del cuerpo cavernoso del pene.

La incapacidad de erección (impotencia) se debe a defectos estructurales más que a causas psicológicas (Frandsen et al., 2003). El ascenso de la presión en el cuerpo cavernoso del pene produce considerable alargamiento peneano en rumiantes con escasa dilatación. Cuando el pene esta en protrusión, el prepucio se evierte y se estira sobre el órgano protruido.

En la copula normal, esto ocurre después de la penetración. Si ocurre antes de que el pene entre en el vestíbulo, la penetración no se realiza.

El retiro hacia el prepucio se realiza conforme cede la presión en los espacios cavernosos. La arquitectura fibrosa del cuerpo cavernoso del pene en la región de la curvatura sigmoidea tiende a reconstruir el pliegue: a ello contribuye el acortamiento del musculo retractor.

Emisión y eyaculación

La emisión consiste en el paso del líquido espermático a lo largo del conducto deferente hacia la uretra pélvica, donde se mezcla con secreciones de las glándulas accesorias. La eyaculación es el paso del semen resultante por la uretra peneana. La emisión es realizada por músculos lisos, bajo el control del sistema nervioso autónomo. La estimulación eléctrica de la eyaculación en animales domésticos es una imitación de los complejos mecanismos naturales. Durante la cópula, las terminaciones nerviosas sensoriales del integumento peneano y los tejidos peneanos más profundos realizan funciones esenciales en el proceso de la eyaculación.

El paso del semen por los conductos deferentes es continuo durante la inactividad sexual. Prinz y Zaneveld (Prinz et al., 1980) sugieren que durante el descanso sexual un complejo proceso aleatorio

o cíclico de extracción de espermatozoides de la cola del epidídimo puede ayudar a regular las reservas de dichas células. La excitación sexual y eyaculación se acompañan de contracciones de la cola del epidídimo y el conducto deferente, lo cual aumenta la tasa de flujo. Globalmente, el número de espermatozoides que pasan por el conducto deferente no se eleva a causa de la actividad sexual.

La contracción muscular de la pared del conducto es controlada por nervios autónomos simpáticos del plexo pélvico provenientes de los nervios hipogástricos.

Durante la eyaculación, el musculo bulboesponjoso comprime el bulbo peneano, de modo que bombea sangre desde este hacia el resto del cuerpo esponjoso. A diferencia del cuerpo cavernoso peneano, este cuerpo cavernoso normalmente es drenado por venas distales: las mayores presiones registradas durante la eyaculación son mucho menores que las que se observan en el cuerpo cavernoso del pene (Frandsen et al., 2003).

Las ondas de presión que pasan por la uretra peneana suelen ayudar a transportar el semen que se eyacula. Los cambios de presión en el cuerpo esponjoso del pene durante la eyaculación se transmiten al cuerpo esponjoso del glande: el glande aumenta de tamaño en el rumiante (Frandsen et al., 2003).

Anatomía del aparato reproductor de la hembra

Los órganos del aparato reproductor de la hembra incluyen ovarios, oviductos, el útero, cuello uterino, la vagina y los genitales externos. Los órganos genitales internos (el primero de cuatro componentes) están sostenidos por el ligamento ancho. Este ligamento consta de mesoovario, que sostiene al ovario: el mesosalpinx, que sostiene al oviducto, y el mesometrio, que sostiene al útero. La inserción del ligamento ancho es dorsolateral en la región del íleon, de modo que el útero está

dispuesto como los cuernos de un carnero, con la convexidad dorsal y los ovarios situados cerca de la pelvis.

Embriología

En el feto, el aparato reproductor consta de dos gónadas sexualmente indiferenciadas, dos partes de conductos, un seno urogenital, un tubérculo genital y pliegues vestibulares. Este sistema se origina básicamente de dos bordes germinales en el lado dorsal de la cavidad abdominal, y puede diferenciarse en aparato masculino (del macho) o femenino (de la hembra).

El sexo del feto depende de genes heredados, gonadogénesis y de la formación y maduración de los órganos reproductivos accesorios.

Los conductos de Wolff y de Muller están presentes en el embrión sexualmente indiferenciado. En la hembra, los de Muller se transforman en un sistema gonadoductal y los de Wolff se atrofian: lo opuesto ocurre en el macho. Los conductos de Muller de la hembra se fusionan caudalmente para formar útero, cuello uterino y parte anterior de la vagina (Frandsen et al., 2003).

En el feto masculino (macho) los andrógenos testiculares influyen en la persistencia y el desarrollo de los conductos de Wolff y la atrofia de los de Muller (Frandsen et al., 2003).

Ovario

El ovario, a diferencia del testículo, permanece en la cavidad abdominal. Realiza tanto funciones exocrinas (liberación de óvulos) como endocrinas (esteroidogénesis). El tejido predominante del ovario es la corteza. Las células germinales primordiales se originan fuera de la gónada y emigran a través del mesenterio del saco vitelino hacia las crestas genitales.

Durante el desarrollo fetal, los oogonios se producen por multiplicación mitótica. Esto es seguido por la primera división meiótica para formar varios millones de oocitos, proceso que se detiene en la profase. La atresia posterior reduce el número de oocitos al momento del nacimiento, y en la pubertad ocurre una reducción adicional, de modo que durante la senectud reproductiva solo quedan unos pocos cientos (Frandsen et al., 2003).

Al nacimiento, una capa de células foliculares rodea los oocitos primarios en el ovario para formar los folículos primordiales. La forma y el tamaño ovárico varían con la especie y la etapa del ciclo estrual (Forde et al., 2011).

La parte del ovario no unida al mesoovario está expuesta y forma una prominencia dentro de la cavidad abdominal.

El ovario, constituido por médula y corteza, está rodeado por el epitelio superficial, comúnmente llamado epitelio germinal. La médula ovárica consiste en tejido conectivo fibroelástico irregularmente dispuestos y extensos sistemas vasculares y nerviosos que llegan al ovario a través del hilio. Las arterias están dispuestas en una espiral bien definida. La corteza ovárica contiene folículos ováricos, cuerpos amarillos o ambos, en diferentes etapas de desarrollo o regresión (Frandsen et al., 2003).

El patrón vascular del ovario cambia con los diferentes estados hormonales. Variaciones en la arquitectura vascular permiten que el riego sanguíneo se adapte a las necesidades del órgano. La distribución intraovárica de la sangre experimenta notables cambios durante el periodo preovulatorio, el flujo de sangre arterial hacia el ovario cambia de manera proporcional con la actividad del cuerpo amarillo o cuerpo lúteo. Los cambios hemodinámicos parecen ser importantes para regular el funcionamiento y la duración del CL. De este modo, el decremento en la secreción de progesterona va precedido por cambios en el flujo sanguíneo, mientras que la restricción del riego ovárico causa

regresión prematura del cuerpo amarillo. El riego ovárico aumenta al formarse el nuevo cuerpo amarillo. La disminución del flujo sanguíneo parece seguir al descenso abrupto en el momento de la regresión del CL (Frandsen et al., 2003).

Cuerpo amarillo

El cuerpo amarillo se desarrolla después del colapso del folículo en la ovulación. En la pared folicular interna se forman pliegues macroscópicos y microscópicos que penetran en la cavidad central. Tales pliegues consisten en un núcleo central de tejido de estroma y grandes vasos sanguíneos que se distienden. Las células se desarrollan pocos días antes de la ovulación y experimentan regresión con rapidez: a las 24 h de la ovulación todas las células de la teca restantes se encuentran en avanzado estado de degeneración. Tras la ovulación comienza la hipertrofia y luteinización de las células de la gránulosa (Frandsen et al., 2003).

La progesterona es secretada en forma de gránulos por las células luteínicas. Este proceso parece alcanzar su punto máximo el decimo día del ciclo, y comienza a declinar notablemente el día 12. La actividad secretora disminuye gradualmente hasta el día 14.

En hembras viejas, el funcionamiento del cuerpo amarillo disminuye como resultado de una incapacidad de las células foliculares (gránulosa y teca interna) de responder plenamente a los estímulos hormonales: cambios en la cantidad, calidad de la secreción hormonal, o ambas, y una reducción del estímulo para la secreción hormonal.

Desarrollo

El aumento de peso del cuerpo amarillo es rápido al principio. En general, el periodo de crecimiento es ligeramente más largo que la mitad del ciclo estrual. El contenido de progesterona aumenta

rápidamente en los cuerpos amarillos desde el día 2 hasta el 8, y permanecen relativamente constantes hasta el día 15, en que se inicia la regresión (Forde et al., 2011). El diámetro del cuerpo amarillo maduro es mayor que el de un folículo de Graaf maduro.

Regresión

Si no hay fecundación, el cuerpo amarillo sufre regresión, lo cual permite que otros folículos ováricos grandes maduren. A medida que sus células se degeneran, el órgano completo disminuye de tamaño, adquiere color blanco o pardo pálido, y recibe el nombre de Corpus albicans.

Después de dos o tres ciclos, queda una cicatriz apenas visible de tejido conectivo.

Luteólisis

La luteólisis inducida por estrógeno, probablemente mediada por estimulación de la prostaglandina uterina $F^2\alpha$ ($PGF^2\alpha$) durante el ciclo estrual, es la causa de la regresión normal del cuerpo amarillo. Para que este se mantenga en dicho animal, debe haber un embrión en su útero los días 12 y 13 después del apareamiento. Este tiempo representa el estado en el cual el útero inicia los pasos que conducen a la luteólisis (Sartori et al., 2002).

La vena uterina principal y la arteria ovárica son los componentes proximal y distal de una vía arteriovenosa local que interviene en los efectos luteolíticos y antiluteolíticos. La histerectomía anula el efecto luteolítico y causa la persistencia del cuerpo amarillo (Stocco et al., 2007). Los cambios en el riego sanguíneo del tejido ovárico en la etapa lútea pueden atribuirse a cambios en el flujo de sangre al CL, que recibe la mayor parte del aporte sanguíneo. El flujo sanguíneo al CL participa en la regulación de esta glándula y en el control de la actividad de las gonadotropinas a nivel de las células luteínicas (Pate et al., 2010).

Cuerpo amarillo y preñez

Los progestágenos son necesarios para mantener la preñez. Algunos progestágenos actúan como precursores inmediatos de otros esteroides que también son necesarios durante la preñez. Existe el requerimiento estricto de que la actividad secretora de CL se mantenga durante toda la preñez, porque en ellas, la placenta no secreta progesterona. Después de extirpar un ovario o los cuerpos amarillos de cada ovario el día 40 de la gestación, se requiere un mínimo de cinco cuerpos amarillos para mantenerla (Stocco et al., 2007).

Reconocimiento de la preñez por la madre

Para ampliar la duración del cuerpo amarillo debe haber blastocitos hacia el día 12 después de la ovulación. Las concentraciones plasmáticas de progesterona son mayores en preñadas que en no preñadas dentro de los primeros días siguientes al apareamiento.

El cuerpo amarillo de la preñez se denomina *cuerpo amarillo verdadero*, y puede ser más grande que el cuerpo amarillo espurio (cuerpo amarillo falso) del ciclo estrual. Este aumenta de tamaño durante las primeras semanas de la gestación, luego involuciona, de ahí en adelante, este permanece relativamente constante hasta el parto y degenera en el transcurso de una semana posterior al mismo (Pate et al., 2010).

Oviducto

Existe una íntima relación anatómica entre el ovario y el oviducto. En los mamíferos domésticos, el ovario se encuentra en una bolsa ovárica abierta, a diferencia de lo que ocurre en otras especies, en las que se halla en un saco cerrado. En los animales domésticos dicha bolsa consiste en un delgado

pliegue peritoneal del mesosalpinx, que está unido a una asa suspendida en la porción superior del oviducto. La bolsa ovárica es ancha y abierta (Frandsen et al., 2003).

Anatomía

La longitud y el grado de arrollamiento del oviducto varían entre los mamíferos domésticos. El oviducto puede dividirse en cuatro segmentos funcionales: las fimbrias, en forma de ola; el *infundíbulo*, abertura abdominal en forma de embudo cerca del ovario; la *ampolla*, dilatada y más distal, y el *istmo*, la porción proximal estrecha del oviducto, que conecta a este con la luz uterina. Las fimbrias se encuentran libres excepto en un punto del polo superior del ovario. Esto asegura una estrecha aproximación de las fimbrias y la superficie ovárica (Frandsen et al., 2003).

La ampolla, que ocupa aproximadamente la mitad de la longitud del oviducto, se fusiona con la sección constreñida llamada *istmo*. El istmo se conecta directamente con el útero, además hay un pliegue en la unión uterotubal, en especial durante el estro (Nakanishi et al., 2004). El espesor de la musculatura aumenta desde el extremo ovárico del oviducto hacia el extremo uterino.

La mucosa del oviducto está constituida por pliegues primarios, secundarios y terciarios. La de la ampolla está dispuesta en pliegues elevados y ramificados cuya altura disminuye hacia el istmo y que se convierten en bordes bajos en la unión uterotubarica. La compleja configuración de estos pliegues mucosos en la ampolla llena casi por completo la luz, de modo que solo hay un espacio potencial. El contenido de líquido es mínimo, por lo que la masa de células foliculares del montículo ovárico (cumulo ooforo) está en íntimo contacto con la mucosa ciliada. La mucosa consiste en una capa de células epiteliales cilíndricas. El epitelio contiene células ciliadas y no ciliadas (Frandsen et al., 2003).

Células ciliadas

En la mucosa del oviducto, estas células tienen delgados cilios móviles (cinocilios) que se extienden hacia la luz. La rapidez con que estos cilios se mueven es influida por la concentración de hormonas ováricas: su actividad es máxima durante la ovulación o poco después, cuando el movimiento de los cilios de la parte fimbriada de los oviductos está muy sincronizado y dirigido hacia la abertura del infundíbulo (agujero ovárico del oviducto). Al parecer, la acción del movimiento ciliar permite que el óvulo, entre las células monticulares circundantes, se desprenda de la superficie de los folículos colapsados hacia el agujero del oviducto. El porcentaje de células ciliadas disminuye gradualmente de la ampolla hacia al istmo y alcanza un máximo en las fimbrias y el infundíbulo. Se observa una gran cantidad de células ciliadas en los vértices de los pliegues mucosos. Las variaciones en el porcentaje de células ciliadas y secretoras a lo largo del oviducto revisten importancia funcional.

Las células ciliadas son más abundantes en el sitio en que el óvulo es captado de la superficie ovárica, mientras que las células secretoras abundan donde se requieren líquidos luminales como un medio para la interacción de óvulo y espermatozoides (Hunter, 2002).

Los cilios se mueven hacia el útero. Su actividad, acoplada a las contracciones del oviducto, mantiene los óvulos en constante rotación, lo que es esencial para reunir óvulo y espermatozoide (fecundación) e impedir la implantación en el oviducto. La densidad de cilios del oviducto es controlada hormonalmente en la mona rhesus: los cilios desaparecen casi por completo después de hipofisectomía, y se forman en respuesta a la administración de estrógenos exógenos. Los oviductos se atrofian y pierden los cilios durante el anestro, se hipertrofian y recuperan los cilios durante proestro y estro, y vuelven a atrofiarse y a perder los cilios durante la preñez.

Las infecciones del aparato reproductor femenino provocan notables cambios en la morfología celular: suelen relacionarse con la pérdida de células ciliadas. Una disminución del número de cilios suele causar la acumulación de líquido tubarico y exudado inflamatorio, lo cual contribuye a la aglutinación de los pliegues tubaricos y al desarrollo subsecuente de salpingitis (Hunter, 2002).

Células no ciliadas

Las células secretoras de la mucosa del oviducto son no ciliadas y característicamente contienen gránulos secretorios, cuyo tamaño y número varían mucho con la especie y las fases del ciclo estrial. La superficie apical de las células no ciliadas está cubierta de numerosas microvellosidades. Los gránulos secretorios acumulados en las células epiteliales durante la fase folicular del ciclo se liberan en la luz después de la ovulación, con lo que se reduce la altura del epitelio (Steffl, et al., 2008).

El líquido de los oviductos tiene varias funciones, incluida la capacitación e hiperactivación del espermatozoide, la fecundación y el desarrollo embrionario temprano previo a la implantación.

Está constituido por un trasudado selectivo de suero y productos de secreción de los gránulos de las células secretoras del epitelio oviductal (Hunter, 2011). Las secreciones del oviducto son reguladas por hormonas esteroideas.

Varios componentes proteínicos del líquido oviductal también los tiene el suero. Sin embargo, las proporciones de algunos de ellos son diferentes en ambos líquidos corporales: por ejemplo, la cantidad de transferrina y prealbúmina respecto a albumina es mucho mayor en el líquido de los oviductos que en el suero. Muchas proteínas séricas carecen de equivalentes en el líquido oviductal y a la inversa, varias proteínas son únicas de dicho líquido.

Musculatura del oviducto y ligamentos relacionados.

Las contracciones de los oviductos facilitan la mezcla de su contenido, ayudan a desnudar el óvulo, facilitan la fecundación al incrementar el contacto entre espermatozoides y óvulo, y regulan en parte el transporte de este último. A diferencia del peristaltismo intestinal, el peristaltismo del oviducto tiende a demorar ligeramente el avance del óvulo en lugar de contribuir a él (Hunter, 2011).

Patrón de contracciones del oviducto

La musculatura del oviducto experimenta diversos tipos de contracciones complejas: contracciones de tipo peristáltico localizadas que se originan en segmentos aislados o asas que recorren solo una corta distancia: contracciones segmentarias, y movimientos lombricoides de todo el oviducto. Las contracciones en sentido obovárico son más comunes que las adováricas. En general, la ampolla es menos activa que el istmo.

Otros factores complejos son las actividades contráctiles del mesosalpinx, miometrio y los ligamentos de sostén, así como el movimiento ciliar.

Las contracciones musculares del oviducto son estimuladas por contracciones de dos membranas importantes que contienen musculatura lisa y están unidas a fimbrias, ampolla y ovario: el mesosalpinx y la membrana mesotubarica superior. La frecuencia y amplitud de las contracciones espontaneas varían con la fase del ciclo estrual. Antes de la ovulación, las contracciones son suaves, con algunas variaciones individuales en la frecuencia y el patrón de contractilidad: durante la ovulación adquieren su máxima intensidad. En la ovulación, los bordes en forma de banda se contraen rítmicamente y dan masaje a la superficie ovárica.

El patrón y la amplitud de la contracción varían en los distintos segmentos del oviducto. En el istmo, las contracciones peristálticas y antiperistálticas son segmentarias, vigorosas y casi continuas. En la ampolla, intensas ondas peristálticas avanzan de manera segmentaria hacia la porción media del órgano (Schatten and Constantinescu, 2007).

Ligamentos útero-ovárico y afines

El ligamento uteroovárico contiene células del músculo liso dispuestas principalmente en heces longitudinales, que se continúan dentro del miometrio pero no del estroma ovárico. Los músculos lisos de los mesoovarios y los diversos ligamentos de los mesenterios unidos a los ovarios y las fimbrias se contraen de manera intermitente. Estas contracciones musculares rítmicas aseguran que las fimbrias permanezcan en una posición constante respecto a la superficie de los ovarios.

Útero

El útero consta de dos cuernos uterinos, un cuerpo y un cuello. Las proporciones relativas de las distintas partes, así como la forma y disposición de los cuernos uterinos, varían con la especie. Es bipartido esto quiere decir que tiene un tabique que separa los dos cuernos, y un cuerpo uterino prominente. En rumiantes, el epitelio uterino tiene varias carúnculas. Ambos lados del útero están unidos a las paredes pélvica y abdominal por el ligamento ancho (Taylor and Gomel, 2008).

Glándulas endometriales y líquido uterino

Las glándulas endometriales son estructuras ramificadas, arrolladas y tubulares revestidas de epitelio cilíndrico: desembocan en la superficie del endometrio, excepto en las zonas carunculares de los rumiantes: son relativamente rectas durante el estro, pero crecen, secretan y se hacen más

arrolladas y complejas a medida que aumenta la concentración de progesterona producida por el cuerpo amarillo en desarrollo (Chang and Zhang, 2008).

Comienzan a experimentar regresión cuando se observan los primeros signos de regresión lútea. Las células epiteliales del endometrio son relativamente elevadas en el estro: después de un periodo de secreción activa durante el mismo, se vuelven bajas y cuboides dos días después de su término.

El volumen y la composición bioquímica del líquido uterino presentan variaciones que se ajustan al ciclo estrual (Taylor and Gomel, 2008).

El volumen de dicho líquido supera al del oviducto durante el estro, mientras que en la fase lútea sucede lo contrario.

Proteínas del útero

El líquido endometrial contiene principalmente proteínas séricas y pequeñas cantidades de proteínas específicas del útero. Las cantidad de y proporciones de estas proteínas varían con el ciclo reproductivo.

Las diferencias en la concentración y distribución de componentes entre los líquidos uterinos y el suero sanguíneo constituyen pruebas de que ocurre secreción y trasudación (Llewellyn et al., 2008).

Las secreciones uterinas constituyen un ambiente óptimo para la supervivencia y capacitación de los espermatozoides y para la división del blastocito temprano antes de la implantación (Simon et al., 2000).

Se han caracterizado proteínas específicas de origen uterino, embrionario o ambos, durante la preñez temprana. Se ha purificado una de las proteínas, una glicoproteína de color púrpura que

contiene hierro, llamada uteroferrina. Las secreciones uterinas participan en el control del crecimiento embrionario y la implantación (Yoshinaga, 2008).

Contracción uterina

La contracción del útero se coordina con los movimientos rítmicos del oviducto y ovario. Existe considerable variación respecto al origen, dirección, amplitud y frecuencia de las contracciones del tracto reproductivo.

Durante el ciclo estrual, la frecuencia de contracciones del miometrio es máxima en el estro e inmediatamente después. En el estro, las contracciones uterinas se originan en la parte posterior del aparato reproductor y más notablemente en dirección del oviducto. Durante la fase lútea, la frecuencia de las contracciones se reduce, y sólo un pequeño porcentaje avanza hacia los oviductos. El estradiol incrementa la frecuencia de las contracciones uterinas en hembras ovariectomizadas, mientras que la progesterona las reduce. Se observan altas concentraciones de progesterona cuando la actividad contráctil es relativamente escasa.

Metabolismo uterino

El endometrio metaboliza carbohidratos, lípidos y proteínas para satisfacer los requerimientos de nutrición celular, rápida proliferación del tejido uterino y desarrollo del embrión. Estas reacciones dependen de cuatro fenómenos a) las reacciones enzimáticas asociadas al metabolismo de la glucosa: b) el incremento de la circulación a través de las arteriolas espirales: c) los cambios morfológicos que ocurren en el endometrio y miometrio: y d) la acción estimulante de las hormonas ováricas y otras (Rahman, et al., 2004).

Las hormonas ováricas tienen una función importante en la regulación del metabolismo uterino. El crecimiento del útero (tanto por síntesis de proteínas como por división celular) es inducido por estrógeno. Hacia el momento en que el óvulo pasa por la unión uterotubárica ocurre un rápido cambio en el metabolismo del endometrio (Yoshinaga, 2008).

Función del útero

El útero realiza varias funciones. El endometrio y sus líquidos tienen participaciones importantes en el proceso reproductivo: a) transporte de espermatozoides desde el sitio de la eyaculación hasta el de la fecundación en el oviducto: b) regulación del funcionamiento del cuerpo amarillo: y c) inicio de la implantación, la preñez y el parto.

Trasporte de espermatozoides

Tras el apareamiento, la contracción del miometrio es esencial para el transporte de los espermatozoides desde el sitio de la eyaculación hacia el de la fecundación. Gran número de espermatozoides se agregan en las glándulas endometriales. Cuando las células espermáticas son transportadas por la luz uterina a los oviductos, experimentan una capacitación en las secreciones endometriales.

Mecanismos luteolíticos

Existe un ciclo úteroovárico local en el que el cuerpo amarillo (CL) estimula al útero para que produzca una sustancia que a su vez destruye al cuerpo amarillo. El útero es importante en la regulación del funcionamiento de dicho cuerpo. Los CL son mantenidos en estado funcional por largos periodos después de una histerectomía. Si quedan preñadas cantidades de tejido uterino *in situ*, ocurre regresión del CL y vuelven a presentarse los ciclos después de periodos variables.

Después de la histerectomía unilateral, los cuerpos amarillos adyacentes al cuerno uterino extirpado suelen mantenerse mejor que los adyacentes al cuerno intacto.

La administración intramuscular o intrauterina de prostaglandinas causa regresión completa del cuerpo amarillo. El cuerno uterino grávido tiene un efecto antiluteolítico a nivel del ovario adyacente. Este efecto es ejercido por una vía local de comunicación venoarterial entre el útero y el ovario adyacente. Este efecto es ejercido por una vía local de comunicación venoarterial entre el útero y el ovario.

Implantación y gestación

El útero es un órgano altamente especializado adaptado para recibir y nutrir los productos de la concepción desde el momento de la implantación hasta el parto. Se da una diferenciación uterina, la cual es regida por las hormonas esteroides ováricas. Este proceso debe avanzar hasta alguna etapa crítica en que el útero queda preparado para aceptar selectivamente el blastocisto (Dekel et al., 2010).

Después de la implantación, el desarrollo del embrión depende de un suministro vascular adecuado dentro del endometrio. Durante toda la gestación, las propiedades fisiológicas del endometrio y su aporte sanguíneo son importantes para la supervivencia y el desarrollo fetal. El útero es capaz de experimentar grandes cambios de tamaño, estructura y posición para satisfacer las necesidades del producto en crecimiento (Dekel et al., 2010).

Parto e involución posparto

La respuesta contráctil del útero permanece latente hasta el momento del parto, en que realiza su cometido principal en la expulsión del feto.

Después del parto, el útero casi recupera su tamaño y condición previos por un proceso llamado involución. Luego se mantiene relativamente sin cambios en el transcurso de la lactación (Gray et al., 2003).

Sin embargo, inmediatamente después del destete, el útero aumenta de tamaño y longitud durante cuatro días.

En el intervalo posparto, la destrucción de tejido endometrial se acompaña de la presencia de grandes cantidades de leucocitos y la reducción del lecho vascular endometrial.

El número y tamaño de las células del miometrio disminuyen. Estos cambios rápidos y desproporcionados en el tejido uterino son causa posible de la baja tasa de concepción posparto. Los tejidos carunculares se descaman y expulsan del útero 12 días después del parto (Llewelly et al., 2008).

Efectos de cuerpos extraños y de dispositivos intrauterinos

La estimulación del útero durante las primeras fases del ciclo estrual acelera la regresión del cuerpo amarillo y causa estro prematuro. La estimulación uterina puede ser iniciada mediante colocación de un cuerpo extraño pequeño en la luz. El ciclo estrual subsecuente será corto o prolongado, lo cual depende del momento en que se haya insertado el cuerpo extraño, y de la naturaleza y tamaño del afectado cuando el segmento uterino que contiene el cuerpo extraño se desnerva, significa que el sistema nervioso es el encargado de este efecto.

Cuello uterino

El cuello del útero, también llamado cérvix, es una estructura parecida a un esfínter que se proyecta caudalmente hacia el interior de la vagina. Es un órgano fibroso formado predominantemente por

tejido conectivo con pequeñas cantidades de tejido muscular liso. El cuello uterino se caracteriza por una pared gruesa y una luz estrecha. Aunque los detalles de su estructura difieren entre los mamíferos, su conducto presenta varias prominencias. En los rumiantes estas tienen la forma de bordes transversales o alternados en espiral que se conocen como anillos cervicales, y que se desarrollan en distintos grados en las diferentes especies. Las características distintivas del cuello uterino de la yegua son los pliegues notables de la mucosa y los pliegues que se proyectan hacia la vagina (Ludmir and sehdev, 2000).

Esta estructura anatómica se encuentra perfectamente cerrada excepto durante el estro, cuando se relaja ligeramente y permite la entrada de espermatozoides en el útero. La secreción mucosa del cuello uterino se expulsa por la vulva.

Estroma cervical y cambios fisiológicos

El tejido conectivo del estroma cervical está formado por una sustancia fundamental, constituyentes fibrosos y elementos celulares. La sustancia fundamental contiene proteoglicano, así como ácido hialurónico, sulfato de 4,6_condroitina, sulfato de dermatan, sulfato de heparán y sulfato de queratán asociados a proteínas. Entre los constituyentes fibrosos se incluyen colágeno, elastina y reticulina. Los elementos celulares comprenden células cebadas, fibroblastos y células errantes.

El colágeno está hecho de cadenas de varios aminoácidos como glicina, prolina, hidroxiprolina, lisina o hidroxilisina.

Los patrones de reticulina, elastina y sustancias fundamentales interfibras facilitan la dilatación del cuello uterino durante el parto. La disociación de las fibras de colágeno, las cuales se separan ampliamente una de otra, causa el relajamiento de los tejidos cervicales e incrementa los espacios libres entre los haces de colágeno.

Los grandes cambios en la composición bioquímica del cuello uterino durante la preñez indican que éste se está preparando para un cambio en sus propiedades funcionales mediante modificaciones en los parámetros que regulan las propiedades físicas de las matrices de tejido conectivo. Morfológicamente, estos cambios asociados a la preñez no son evidentes sino hasta muy avanzada la gestación, cuando son aparentes la degradación de tejidos y la destrucción de la red de colágeno.

En el curso de la preñez, el cuello uterino puede experimentar un aumento hasta de ocho veces su masa. Este gran crecimiento y la disminución en las concentraciones de los componentes de la matriz pueden deberse a varios factores, incluido el aumento de la vascularización y elevadas concentraciones de glucoproteínas.

El ablandamiento y la maduración del cuello uterino no se deben exclusivamente a actividad enzimática en la que participe sólo la degradación de la matriz. Es probable que la naturaleza dinámica del cuello en el momento del parto proporcione una base anabólica por medio de la cual se produce una nueva matriz con distintas propiedades físicas. Las principales características del cuello uterino durante el parto incluyen a) aumento en la rapidez de síntesis de proteoglucanos y hialuronato, con disminución concomitante de la concentración de hexuronato, b) aparición de un nuevo tipo de proteoglucano, y c) degradación de la estructura y organización de la red de colágeno.

Moco cervical

El moco cervical consta de macromoléculas de mucina de origen epitelial compuestas de glucoproteínas (particularmente del tipo sialomucinoso) que contienen alrededor de 25% de aminoácidos y 75% de carbohidratos (Andersch-Björkman et al., 2007). La mucina está formada por una larga cadena polipeptídica continua con numerosas cadenas laterales de oligosacaridos. La porción de carbohidratos consiste en galactosa, glucosamina, fucosa y ácido siálico. Las proteínas

del moco cervical incluyen prealbumina, lipoproteína, albumina, globulinas beta y globulinas gamma. Ese moco contiene varias enzimas, como glucoronidasa, amilasa, fosforilasa, esterasa y fosfatasa (Becher et al., 2009).

Debido a sus características biofísicas únicas, el moco cervical tiene varias propiedades serológicas como arborización, elasticidad, viscosidad, tixotropismo y adhesividad.

Durante el estro presenta un patrón de cristalización en forma de helecho o árbol (arborización), al secarse sobre un portaobjetos. Este patrón arbóreo, asociado al alto contenido de cloruro en el moco, no se observa al secarse moco obtenido de fases del ciclo en que las concentraciones de progesterona son altas o durante el embarazo (Becher et al., 2009).

Tal fenómeno puede ser de alguna utilidad combinado con otras observaciones para el diagnóstico temprano de preñez. La secreción de moco cervical es estimulada por estrógeno ovárico e inhibida por progesterona (Andersch-Björkman et al., 2007).

Los cambios cualitativos cíclicos en el moco cervical durante el ciclo estrual y las variaciones cíclicas en la disposición y viscosidad de estas macromoléculas causan modificaciones periódicas en la capacidad de los espermatozoides de penetrar al conducto cervical. Durante el estro y la ovulación ocurren cambios óptimos en las propiedades del moco cervical, como aumento en cantidad, viscosidad, arborización y pH, y disminución de viscosidad y contenido celular, y se revierten durante la fase de cuerpo amarillo, cuando es inhibida la penetración de los espermatozoides en el cuello uterino. Bajo la influencia de estrógenos, las macromoléculas de glucoproteína del moco se orientan de manera que los espacios entre ellos miden de 2 a 5 micrómetros (Pereira et al., 2007). En la fase lútea, los espacios de la trama de macromoléculas se hacen cada vez menores. De este modo, en el

momento del estro y la ovulación, el gran tamaño de la malla permite el transporte de los espermatozoides a través de la trama de filamentos y por el conducto cervical (Saravia et al., 2009).

Funciones

El cuello uterino tiene varias funciones en el proceso reproductivo a) facilita el transporte de los espermatozoides por el moco cervical hacia la luz del útero: b) actúa como depósito de espermatozoides: y c) puede participar en la selección de espermatozoides viables, impidiendo de este modo el transporte de células espermáticas no viables y defectuosas.

Transporte de espermatozoides

Tras ser eyaculados, los espermatozoides se orientan hacia la abertura interna. Conforme el flagelo se mueve y vibra, la cabeza espermática es impulsada hacia adelante en los conductos de menor resistencia. Las propiedades macrorreológicas y microrreológicas del moco cervical tienen una función importante en la migración de los espermatozoides. La capacidad de penetración de estos aumenta con la limpieza del moco, puesto que detritos celulares y leucocitos demoran la migración espermática. Los espacios acuosos entre las micelas permiten el paso de los gametos masculinos (del macho) así como la difusión de sustancias solubles. Enzimas proteolíticas hidrolizan el esqueleto proteínico o algunos de los enlaces cruzados de la mucina, y reducen la red a una trama menos resistente con más espacios abiertos para la migración de espermatozoides. Cuando se ponen en contacto in vitro moco cervical y semen, inmediatamente se forman entrecaras entre los dos líquidos. Pronto aparecen columnas de células espermáticas que organizan altos grados de arborización: el aspecto final es el de canales a través de los cuales pueden pasar uno o dos espermatozoides (Lefebvre et al., 1995).

Después del apareamiento o la inseminación artificial, en las complicadas criptas cervicales se depositan grandes cantidades de espermatozoides. El cuello uterino puede actuar como su depósito y de este modo proporcionar dosis subsecuentes de ellos a las vías superiores del aparato reproductor femenino. También es posible que los espermatozoides atrapados en las criptas cervicales nunca sean liberados, lo cual impedirá que cantidades excesivas de tales células llegaran al sitio de la fecundación (Kunz et al., 1996).

En rumiantes, la supervivencia prolongada de espermatozoides en el cuello uterino respecto a la que se observa en otras partes del aparato reproductor femenino sugiere que aquella estructura actúa como depósito de gametos masculinos. En el cuello uterino la mayor parte de los espermatozoides no están distribuidos al azar, sino que se localizan entre las criptas cervicales. La penetración de las células espermáticas en estos sitios depende de su viabilidad y de la estructura y, en consecuencia, de las propiedades serológicas del moco cervical (Andersch-Björkman et al., 2007).

Cuello uterino durante la preñez

Durante la preñez, el conducto cervical está ocluido por un moco turbio, espeso, altamente viscoso y no arborizante, que actúa como una barrera eficaz contra el transporte de espermatozoides y la invasión de la luz uterina por bacterias, lo cual impide infecciones del útero. Aparte del momento de la fecundación, la única vez en que el cuello uterino está abierto es antes del parto. En este momento el tapón cervical es licuado y el cuello uterino se dilata para permitir la expulsión del feto y las membranas fetales (Ludmir and Sehdev, 2000).

Vagina

La pared vaginal consta de epitelio superficial, una capa muscular y una serosa. Su capa muscular no está tan bien desarrollada como las partes externas del útero: consiste en un estrato circular

interno grueso y otro longitudinal externo delgado: este último se continúa alguna distancia en el interior del útero. La capa muscular es rica en vasos sanguíneos, paquetes nerviosos, grupos de células nerviosas y tejido conectivo laxo y denso (O'Connell et al., 2008).

Hay diferencias interespecíficas en los cambios vaginales del ciclo estrual. Estas diferencias probablemente reflejan distintas tasas de secreción de estrógeno y progesterona y, en última instancia, de gonadotropinas. Sin embargo, los frotis vaginales no son útiles para diagnosticar la fase del ciclo o anomalías hormonales.

La superficie de las células vaginales está constituida por numerosos microbordes dispuestos longitudinalmente o en círculos, en este epitelio estratificado de capas múltiples, las células se encuentran acuñadas una sobre otra mediante microbordes sujetos entre sí, formando de esta manera una superficie firme. La morfología y disposición de estos microbordes que influyen en la firmeza del epitelio, varían en el transcurso del ciclo reproductivo (O'Connell et al., 2008).

Respuestas fisiológicas

Contracciones vaginales

La contractilidad vaginal tiene una función importante en las respuestas psicosexuales y quizás también en el transporte de espermatozoides. La contracción de la vagina, el útero y los oviductos es activada por un líquido secretado dentro de la vagina durante la estimulación previa al apareamiento.

Respuestas inmunológicas

La vagina parece ser uno de los principales sitios para la reacción antígeno espermático-anticuerpo, dado que está más expuesta a los antígenos del espermatozoide que el útero y los oviductos. La

producción local de anticuerpos contra los antígenos espermáticos suele ocurrir entre los tejidos vaginales.

Al parecer las células plasmáticas maduras e inmaduras localizadas bajo el epitelio están sometidas a control endocrino, toda vez que su número aumenta durante la fase lútea, después de la ovariectomía.

Parece ser que estas células plasmáticas participan en la secreción de inmunoglobulinas A y G, las cuales aparentemente previenen la infección bacteriana y producen anticuerpos contra espermatozoides.

Líquido vaginal el líquido vaginal está compuesto principalmente de trasudado que atraviesa la pared de la vagina, mezclado con secreciones vulvares de glándulas sebáceas y sudoríparas y contaminando por moco cervical, líquidos del endometrio y oviducto y células exfoliadas del epitelio vaginal. A medida que se acerca el estro, la vascularidad de la pared de la vagina aumenta y el líquido vaginal se adelgaza.

Durante el estro, el conducto urogenital presenta un olor específico distintivo. Este olor desaparece o se atenúa en gran medida durante el diestro, este olor puede ser detectable por otras especies (Kiddy et al., 1978).

Flora microbiana

La flora vaginal está constituida por una mezcla dinámica de microorganismos aerobios, anaerobios facultativos y anaerobios obligados en la que constantemente se introducen cepas nuevas. Esta flora varía durante toda la vida del animal.

Las diversas poblaciones de microorganismos están dotadas enzimáticamente para sobrevivir y multiplicarse en un ambiente vaginal específico.

En periodos de alto contenido de glucógeno predominan microorganismos acidófilos, aunque también están presentes otros en el grupo heterogéneo que constituye la flora normal.

Funciones de la vagina

La vagina tiene múltiples funciones en la reproducción. Es el órgano copulatorio en el que se deposita y coagula el semen hasta que los espermatozoides son transportados a través de las macromoléculas de la columna de moco cervical. La vagina bulbosa dilatada constituye un depósito de semen después del coito que suministra espermatozoides a los depósitos cervicales. Los pliegues vaginales y la disposición romboide a manera de valla de la musculatura permiten la distensión del órgano durante el apareamiento y el parto. Aunque es una estructura carente de glándulas, sus paredes son humectadas por trasudados a través del epitelio vaginal (incorrectamente llamado mucosa), por moco cervical y por secreciones endometriales (O'Connell et al., 2008).

Después de la eyaculación, el plasma seminal no es transportado hacia el interior del útero: la mayor parte es expelido o absorbido a través de las paredes vaginales. Cuando son absorbidos en la vagina, algunos de los componentes bioquímicos del plasma seminal provocan respuestas fisiológicas en otras partes del aparato reproductor femenino.

El pH de la secreción vaginal es desfavorable para los espermatozoides. Una compleja interacción de moco cervical, secreción vaginal y plasma seminal forma un sistema amortiguador que protege a los espermatozoides hasta que son transportados a través de las micelas del moco cervical.

Algunos estados patológicos que causan amortiguamiento insuficiente del depósito seminal (como bajo volumen eyaculado), escaso moco cervical espeso y escurrimiento de semen) pueden causar rápida inmovilización de los espermatozoides.

La vagina actúa como conducto excretor para las secreciones de cuello uterino, endometrio y oviductos: también funciona como canal del parto. Estas funciones son posibles gracias a diversas características fisiológicas, primordialmente contracción, expansión, involución, secreción y absorción.

Genitales externos

El vestíbulo, los labios mayores, labios menores, el clítoris, las glándulas vestibulares constituyen los genitales externos.

Vestíbulo

La unión de vagina y vestíbulo está marcada por el orificio uretral externo y a menudo por un borde (el himen vestigial).

Los tubos de Gartner (restos de los conductos de Wolff) desembocan dentro del vestíbulo, en posición posterior y lateral respecto a los conductos de Gartner. Las glándulas de Bartholin, que secretan un líquido viscoso más activamente en el estro tienen estructura tubo-alveolar semejante a las glándulas bulbo-uretrales del macho.

Labios mayores y labios menores

El integumento de los labios mayores está ricamente poblado por glándulas sebáceas y tubulares. Contiene depósitos de grasa, tejido elástico y una capa delgada de músculo liso: en su superficie

exterior tiene la misma estructura que la piel externa. Los labios menores tienen un núcleo de tejido conectivo esponjoso.

Clítoris

La comisura ventral del vestíbulo oculta el clítoris, que tiene el mismo origen embrionario que el pene en el macho. Está compuesto de tejido eréctil cubierto de epitelio escamoso estratificado, con abundantes terminaciones nerviosas sensoriales.

Fisiología de la reproducción

Hormonas y reproducción

La definición clásica de una hormona, es una sustancia fisiológica, orgánica y química sintetizada y secretada por una glándula endocrina sin conducto, que entra al sistema circulatorio para ser transportada. Las hormonas inhiben, estimulan o regulan la actividad funcional del órgano o tejido blanco.

Sin embargo, órganos como el útero y el hipotálamo producen hormonas que no satisfacen la definición clásica de estas sustancias.

Glándulas endocrinas

Hipotálamo

Hipófisis

La hipófisis anterior tiene cinco diferentes tipos de células que secretan seis hormonas. Según el tipo de célula, las somatotrópicas secretan hormona del crecimiento: las corticotrópicas secretan la hormona adenocorticotropica (ACTH): las mamotrópicas, prolactina: las tirotrópicas secretan la

hormona estimulante de la glándula tiroides (TSH), y las gonadotrópicas, la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH).

Gónadas en ambos sexos las gónadas desempeñan una doble función: la producción de células germinales (gametogénesis) y la secreción de hormonas gonadales. Las células intersticiales que se localizan entre los túbulos seminíferos se llaman células de Leydig. Estas últimas secretan testosterona en el macho (Walker and Cheng, 2005; Nyby, 2008), mientras que las células de la teca interna del folículo de Graaf son la fuente primaria de estrógenos circulantes.

Después de la rotura del folículo (ovulación), las células de la granulosa y de la teca son remplazadas por el cuerpo lúteo, que secreta progesterona (Tajima et al., 2006).

Glándula pineal

Es una glándula endocrina, su actividad hormonal está influenciada por los ciclos de luz-oscuridad y estacional, causando así que su función sea muy importante en el control neuroendocrino de la reproducción. La glándula convierte la información neural de los ojos relacionada con la duración de la luz del día en una producción endocrina de melatonina, que es secretada al torrente sanguíneo y al líquido cefalorraquídeo (Macchi and Bruce, 2004).

Hormonas primarias de la reproducción

Las hormonas primarias regulan los diferentes procesos reproductivos, mientras que las secundarias o metabólicas influyen en la reproducción de manera indirecta. Las hormonas primarias están involucradas en muchos aspectos de los procesos reproductivos: espermatogénesis, ovulación, comportamiento sexual, fertilización, implantación, mantenimiento de la gestación, parto, lactancia y comportamiento materno.

Las hormonas reproductivas se derivan primordialmente de cuatro sistemas u órganos principales: varias áreas del hipotálamo, lóbulos anterior y posterior de la hipófisis, gónadas (testículos y ovarios), incluidos su tejido intersticial y cuerpo amarillo, y el útero y la placenta.

Hormonas hipotalámicas liberadoras / inhibidoras

Las hormonas del hipotálamo que regulan la reproducción son la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH o LH-RH), ACTH y el factor inhibidor de prolactina. El hipotálamo es también la fuente de oxitocina y vasopresina, que están almacenadas en la neuro-hipófisis (lóbulo posterior de la hipófisis) (Clarke, 2011).

El GnRH es sintetizado y luego almacenado en el hipotálamo basal medio. La GnRH proporciona un enlace humoral entre los sistemas neural y endocrino. En respuesta a las señales neurales, se liberan pulsos de GnRH hacia el sistema portal hipofisario para la liberación de LH y FSH de la hipófisis anterior (Leung et al., 2003; Clarke, 2011).

Hormona adenohipofisiaria

El lóbulo anterior de la hipófisis secreta tres hormonas gonadotrópicas: FSH, LH y prolactina. Los gonadotropos en el lóbulo anterior de la hipófisis secretan ambas hormonas.

La GnRH y esteroides gonadales regulan la secreción de gonadotropinas. Adicionalmente, algunos péptidos gonadales regulan la secreción de FSH. Estos estimulan (activinas) o inhiben (inhibinas, folistatina).

Hormona folículo estimulante

Promueve el crecimiento y la maduración del folículo ovárico o folículo de Graaf. La FSH no causa la secreción de estrógeno del ovario por sí sola, sino que necesita de la presencia de LH para estimular la producción de estrógeno. En el macho, la FSH actúa en las células germinales de los túbulos seminíferos de los testículos y es responsable de la espermatogénesis hasta el estado de espermatozoides secundarios: posteriormente, andrógenos de los testículos apoyan las etapas finales de la espermatogénesis (Rulli and Huhtaniemi, 2005).

Hormona luteinizante

Los niveles tónicos o basales de LH actúan conjuntamente con FSH para inducir la secreción de estrógeno del folículo ovárico grande. La oleada pre-ovulatoria de LH es causa de la ruptura de la pared folicular y de la ovulación. La LH estimula las células intersticiales del ovario y de los testículos. En el macho, las células intersticiales (células de Leydig) producen andrógenos después de la estimulación con LH (Rulli and Huhtaniemi, 2005).

Prolactina

Es una hormona polipeptídica secretada por la adenohipófisis. Una hormona inhibidora denominada factor inhibidor de prolactina (PIF) regula la secreción de prolactina. El PIF es tal vez la catecolamina, dopamina, que es una amina de bajo peso molecular sintetizada a partir de L-tirosina.

La prolactina inicia y mantiene la lactancia. La prolactina puede mediar los efectos estacionales y de la lactancia sobre la reproducción (Oakes et al., 2008).

Hormonas neurohipofisarias

Las dos hormonas, oxitocina (hormona para la secreción de la leche) y vasopresina (hormona antidiurética o ADH), se producen en el hipotálamo. Estas hormonas son transferidas del hipotálamo a la hipófisis posterior, no a través del sistema vascular, sino a lo largo de los axones del sistema nervioso.

Oxitocina

Es sintetizada en el núcleo supraóptico del hipotálamo, también se produce en el cuerpo amarillo: por lo tanto, tiene dos lugares de origen, el ovario y el hipotálamo.

Durante la fase folicular del ciclo estrual y durante las últimas etapas de la gestación, la oxitocina estimula las contracciones uterinas, que facilitan el transporte del espermatozoide al oviducto durante el estro.

El estiramiento del cuello uterino durante el parto que es causado por el paso del feto estimula una liberación refleja de oxitocina (reflejo de Ferguson). Sin embargo, la acción de la oxitocina mejor conocida es la liberación refleja de la leche. En una hembra durante la lactancia, los estímulos visuales y táctiles asociados con el amamantamiento o la ordeña, inducen la liberación de oxitocina a la circulación. La oxitocina causa la contracción de células mioepiteliales (células musculares lisas) que rodean los alveolos de la glándula mamaria, provocando la descarga de la leche (Forsyth and Neville, 2009).

La oxitocina ovárica está involucrada en la función lútea.

Esta actúa en el endometrio para inducir la liberación de prostaglandinas, que tiene una acción luteolítica (regresión del cuerpo amarillo) (Thomas and Insel, 2010).

Melatonina

La síntesis y secreción de melatonina se elevan mucho durante la oscuridad. La longitud de los días, asociada a una elevada secreción de melatonina quizás sea responsable de la inducción de los ciclos ováricos estacionales.

La melatonina exógena regula la actividad gonadal, la administración continua de melatonina induce efectivamente la actividad reproductiva en verano.

Hormonas esteroides gonadales

Los ovarios y los testículos secretan primordialmente hormonas esteroides gonadales. También los órganos no gonadales como las glándulas suprarrenales y la placenta, secretan hormonas esteroides en cierta medida. Estas son de cuatro tipos: andrógenos, estrógenos, progestinas, y relaxinas. Los tres primeros tipos son esteroides, mientras que el cuarto es una proteína. Los ovarios producen dos hormonas esteroides, estradiol y progesterona, y una hormona proteica, la relaxina: los testículos secretan una sola hormona, la testosterona (Nyby, 2008).

Estrógenos

El estradiol es el estrógeno primario, con estrona y el estriol que representan otros estrógenos metabólicamente activos.

El estradiol es el estrógeno biológicamente activo producido por el ovario con pequeñas cantidades de estrona. Excepto por la posible secreción de pequeñas cantidades de estriol en la fase lútea del ciclo, la mayor parte del estriol y estrógenos urinarios relacionados son productos de la descomposición metabólica del estradiol/estrona secretados (Lapointe and Boerboom, 2011).

Todos los estrógenos ováricos secretados se producen a partir de precursores androgénicos.

Los estrógenos tienen el rango más amplio de funciones fisiológicas como:

- 1- Actuar sobre el SNC para inducir el comportamiento estral en la hembra.
- 2- Actuar en el útero para mantener la amplitud y la frecuencia de las contracciones, potencializando los efectos de la oxitocina y las prostaglandinas.
- 3- Desarrollar físicamente los caracteres sexuales secundarios femeninos.
- 4- Estimular el crecimiento de los conductos y causa el desarrollo de la glándula mamaria.
- 5- Ejercer el control de retroalimentación tanto positiva como negativa en la liberación de LH y FSH a través del hipotálamo. El efecto negativo se da en el centro tónico en el hipotálamo, y el positivo en el centro preovulatorio (Lapointe and Boerboom, 2011).

Progestágenos

La progesterona es el progestágeno natural más prevalente, y es secretada por células lúteas del cuerpo amarillo, la placenta y la glándula suprarrenal.

La progesterona realiza las siguientes funciones

- 1- Prepara el endometrio para la implantación y mantenimiento de la preñez.
- 2- Actúa sinérgicamente con los estrógenos para inducir el comportamiento estral.
- 3- Desarrolla el tejido secretor (alveolos) de las glándulas mamarias.
- 4- Concentraciones altas, inhibe el estro y la oleada ovulatoria de LH. Así, la progesterona es importante en la regulación hormonal del ciclo estrual.

5- Inhibe la movilidad uterina (Lapointe and Boerboom, 2011).

Andrógenos

La testosterona es un andrógeno producido por las células intersticiales (células de Leydig) de los testículos, con una cantidad limitada producida por la corteza suprarrenal (Nyby, 2008).

Testosterona

Estimula los estados tardíos de la espermatogénesis y prolonga el lapso de vida del espermatozoide en el epidídimo (Lindzey et al., 1994).

Promueve el crecimiento, desarrollo y la actividad secretora de los órganos sexuales accesorios de los machos (Nyby, 2008).

Mantiene las características sexuales secundarias y el comportamiento sexual o libido del macho (Walker and Cheng, 2005).

Relaxina

La relaxina es secretada principalmente por el cuerpo amarillo durante la gestación. La principal acción biológica de la relaxina es la dilatación del cuello uterino y la vagina antes del parto. También inhibe las contracciones uterinas y causa mayor crecimiento de la glándula mamaria si se administra junto con estradiol (Callander and Bathgate, 2010).

Inhibinas y activinas

Las inhibinas y activinas son reguladores paracrinós, ya que modulan la señal endocrina de LH (de Kretser et al., 2000).

Las inhibinas actúan como señales químicas a la hipófisis respecto al número de folículos que crecen en el ovario. Las inhibinas reducen la secreción de FSH a un nivel tal, que mantiene el número de ovulaciones específico en la especie (Ficicioglu et al., 2003; Luisi et al., 2005).

Al inhibir la liberación de FSH sin alterar la liberación de LH, las inhibinas pueden ser en parte las responsables de la liberación diferencial de LH y FSH desde la hipófisis (Kriegsfeld et al., 2005).

Además de la regulación de la FSH hipofisiaria, proteínas relacionadas con la inhibina regulan la función de las células de Leydig (Luisi et al., 2005).

Activinas

El líquido folicular contiene una fracción que estimula en lugar de inhibir la secreción de FSH (Vazama et al., 1988).

Las proteínas responsables de esta actividad se caracterizaron como activinas. Las activinas son potentes dimeros liberadores de FSH y están presentes en líquidos gonadales, por ejemplo, en el líquido folicular y en el líquido de la red testicular. La activina es un miembro totalmente funcional de los factores de crecimiento (de Kretser et al., 2000).

Folistatina

Inhibe la secreción de FSH similar a las inhibinas, también enlaza activina y neutraliza su actividad biológica. Por lo tanto modula la secreción de FSH (de Kretser et al., 2000).

Ciclos estruales

El apareamiento se limita al periodo del estro, que coincide con el tiempo de ovulación. La duración del estro depende de la especie y varía ligeramente de una hembra a otra de la misma especie. Esto

también ocurre con respecto al momento de la ovulación. El moco cervical experimenta cambios ultra estructurales muy marcados a lo largo del ciclo.

Regulación endocrina de los ciclos estruales

El ciclo estrual es regulado por mecanismos endocrinos y neuroendocrinos: esto es, por hormonas hipotalámicas, gonadotropinas (GnRH). Los cambios en las tasas de síntesis y liberación de GnRH, Así como la velocidad de degradación de dicha hormona, son factores adicionales que modifican su papel en la influencia sobre la liberación de gonadotropinas (Vazama et al., 1988).

A nivel del ovario, el periodo estrual se caracteriza por una elevada secreción de estrógenos a partir de los folículos de Graaf preovulatorios. Los estrógenos estimulan el crecimiento uterino por un mecanismo en el que participan la interacción de la hormona con receptores y el incremento en procesos sintéticos dentro de las células. Los estrógenos también estimulan la producción de prostaglandinas por el útero.

Al final del estro ocurre la ovulación seguida de la formación del cuerpo amarillo, lo que resulta en la secreción de progesterona.

Estación reproductiva

Existe una estación reproductiva bien definida en la que ambos sexos presentan actividad sexual.

Naturaleza de la estación reproductiva

Siempre se presentan ciclos ovulatorios silenciosos al principio y final de la estación reproductiva. Estos ciclos ováricos continúan durante el periodo de anestro en una cantidad variable.

Efecto del fotoperiodo y la temperatura

Los ciclos inducidos son endocrinológicamente normales y fecundos (Husein et al., 2005). Tratamientos hormonales, como gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG), gonadotropina corionica humana (hCG), hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), progesterona y extractos de hipófisis equina (Garret et al 1987).

El fotoperiodo es básicamente un sincronizador de la actividad sexual.

La variación estacional de la temperatura es importante en la regulación de la actividad sexual. En mamíferos, cuando las temperaturas ambientales permanecen dentro de los límites compatibles con los mecanismos termorreguladores, rara vez se informan efectos de la variación estacional de la temperatura sobre la fecundidad (Fatet et al., 2011).

Factores que regulan la temporada de apareamiento

El inicio y el mantenimiento de la estación reproductiva es regulada por factores ambientales, fisiológicos y sociales. Los patrones de fotoperiodo, lluvia y temperatura se consideran indicios o señales ambientales que inician un ritmo endógeno o directamente desencadenan los cambios fisiológicos propios de la temporada reproductiva (Fatet et al., 2011). Estos cambios son mediados por mecanismos endocrinos y neuroendocrinos.

En el efecto del fotoperiodo participan por lo menos dos mecanismos distintos. Primero, existe una acción directa sobre el eje hipotálamo-hipofisiario. En segundo lugar, existe un cambio simultáneo en la sensibilidad del sistema nervioso central a la retroalimentación negativa por esteroides.

Foliculogénesis, maduración del óvulo y ovulación

El ovario realiza dos funciones principales. Una es la producción cíclica de óvulos fecundables. La segunda es la producción de una proporción balanceada de hormonas esteroideas que mantienen el desarrollo del aparato reproductor, facilitan la migración del embrión incipiente y aseguran su implantación y desarrollo exitosos en el útero. El folículo es el compartimiento ovárico que permite al ovario cumplir su doble función de gametogénesis y esteroidogénesis (Baerwald et al., 2011).

Foliculogénesis

Es la reserva de folículos primordiales, formados durante la vida fetal o poco después del nacimiento, algunos comienzan a crecer y no dejan de hacerlo durante toda la vida. Cuando algún folículo sale de esta reserva, sigue creciendo hasta la ovulación o hasta que degenera, como ocurre con la mayor parte de los folículos. El folículo de mayor tamaño se encarga de casi toda la secreción de estrógeno por el ovario durante el estro: dicha secreción disminuye con rapidez al momento del pico de hormona luteinizante (Aerts and Bols, 2010).

Crecimiento folicular

El crecimiento y maduración folicular representan una sucesión de transformaciones subcelulares y moleculares de diversos componentes del folículo: el oocito, gránulosa y teca (Stone et al., 1981). Regidas por varios factores intraováricos e intrafoliculares y señales hormonales que conducen a la secreción de andrógenos y estrógenos (principalmente estradiol). En el crecimiento folicular intervienen la proliferación y la diferenciación, inducidas por hormonas, de células de la teca y de la gránulosa, lo que finalmente causa un incremento en la capacidad de los folículos de producir estradiol y reaccionar a las gonadotropinas. La producción de estradiol determina cual folículo adquirirá los receptores de LH necesarios para la ovulación y la luteinización. Las perturbaciones en

la respuesta de la gránulosa y teca a las señales gonadotropinicas interrumpen el crecimiento folicular e inician la atresia (Adams and Jaiswal, 2008).

Endocrinología del crecimiento folicular y la ovulación

El crecimiento, maduración, ovulación y luteinización del folículo de Graaf dependen de patrones apropiados de secreción, concentraciones suficientes y proporciones adecuadas de FSH y LH en suero. Entre las hormonas participantes se incluyen esteroides, prostaglandinas y glucoproteínas (combinaciones de ácido siálico y polipéptido bicatenario) (Ginther et al., 2003).

La FSH tiene una función importante en el inicio de la formación del antro. Esta gonadotropina estimula la mitosis de las células de la granulosa y la formación del líquido folicular. Además, la hormona folículo-estimulante induce la sensibilidad de las células de la granulosa hacia la hormona luteinizante al incrementar el número de receptores para esta última. El incremento de los receptores para LH prepara la luteinización de células de la granulosa en respuesta a la oleada ovulatoria de LH (Aerts and Bols, 2010).

Esteroidogénesis

La actividad esteroideogénica del folículo también depende de la acción de la FSH y LH sobre las células de la gránulosa y de la teca, respectivamente. La proporción andrógenos/estrógenos en el líquido folicular refleja la integridad fisiológica y la viabilidad del folículo. Debido a que la FSH estimula la producción de testosterona por las células de la teca, la proporción FSH-LH es un parámetro endocrino importante para evaluar la producción ovárica de esteroides.

Maduración del óvulo

La maduración de los oocitos comprende dos etapas:

- a) Un periodo de crecimiento
- b) Un periodo final de preparación nuclear y citoplásmica que constituye un prerrequisito para la fecundación y el desarrollo normal.

Ovulación

Los folículos preovulatorios experimentan tres cambios principales durante el proceso ovulatorio:

- a) Maduración citoplásmica y nuclear del oocito
- b) Pérdida de la cohesividad de las células del montículo ovárico entre las células de la capa granulosa.
- c) Adelgazamiento y rotura de la pared folicular.

Después de la oleada ovulatoria de gonadotropinas, aumenta el flujo sanguíneo hacia todas las clases de folículos.

Sin embargo, el folículo destinado a ovular recibe el mayor volumen de sangre en términos absolutos.

Mecanismos de la ovulación

La ovulación ocurre en respuesta a varios mecanismos fisiológicos, bioquímicos y biofísicos.

- a) Procesos neuroendocrinos, endocrinos, GnRH, esteroides, y prostaglandinas

b) Mecanismos neurobioquímicos y farmacológicos

c) Mecanismos neuromusculares, así como interacciones enzimáticas

Recepción del óvulo

El ovario, adosado a la hoja posterior del ligamento ancho, se encuentra libre en la cavidad peritoneal. El oviducto se curva sobre el ovario para facilitar la recepción o captación del óvulo por los pliegues mucosos de las fimbrias. En el momento de la ovulación, el óvulo, junto con las células circundantes en la masa gelatinosa, hace protrusión en la superficie ovárica y es barrido hacia la entrada del oviducto por acción de los cinocilios de las fimbrias.

Transporte y supervivencia de los gametos

El espermatozoide y el óvulo experimentan diversos cambios a medida que maduran y se preparan para la fecundación. Mientras que cada ciclo estrual la hembra libera uno o más óvulos según la especie, el macho descarga grandes cantidades de espermatozoides en cada copula. Dado que el tiempo que sobreviven los óvulos y espermatozoides es relativamente corto (20 a 48 h), la fecundación depende principalmente del transporte sincronizado de los gametos en el aparato reproductor de la hembra. El transporte de gametos es resultado de la contractilidad de dicho aparato, modificada por reflejos del sistema nervioso central y actividad hormonal. Las sustancias seminales con actividad farmacológica estimulan y modulan la contractilidad del aparato reproductor de la hembra. Los cilios y líquidos del oviducto, cuello uterino, unión uterotubárica y la unión istmo/ampollar participan en el transporte de los gametos.

Trasporte de espermatozoides en el aparato reproductor de la hembra

Los espermatozoides presentan la característica única de que pueden ser transportados en diversos líquidos luminales con propiedades fisiológicas y bioquímicas del todo diferentes, como líquido testicular, líquido epididimario, plasma seminal, líquido vaginal, moco cervical, líquido uterino, líquido del oviducto y líquido peritoneal.

Los factores fisicoquímicos e inmunitarios de la vagina y el cuello uterino en el momento de la inseminación, tienen una función importante en la supervivencia de los espermatozoides y su transporte hacia el útero y oviducto. Las secreciones vaginales inmovilizan los espermatozoides en el lapso de 1 a 2h después de la inseminación. La rápida inmovilización y eliminación de los gametos del macho en la vagina hacen esencial el transporte rápido de estos a un ambiente más favorable (Suarez and Pacey, 2006).

El plasma seminal su importancia en el transporte y la fisiología de los espermatozoides

A diferencia de lo que ocurre en la vagina, el revestimiento epitelial del cuello uterino, útero y oviducto está formado por células secretoras no ciliadas y células cinociliadas. En general, las células secretoras tienen una superficie con forma de domo recubierta de numerosas microvellosidades y su citoplasma contiene abundantes gránulos de secreción. El porcentaje de células cinociliadas en el epitelio, que varía entre las distintas partes del aparato reproductor, es máximo en las fimbrias y la ampolla del oviducto y mínimo en el útero y cuello uterino. Las células ciliadas están cubiertas de cinocilios que se mueven rítmicamente hacia la vagina (Suarez and Pacey, 2006).

Distribución de los espermatozoides en el aparato reproductor femenino

Se reconocen tres etapas en el transporte de los espermatozoides por el aparato reproductor de la hembra: transporte rápido a corta distancia, colonización de depósitos y liberación lenta por tiempo prolongado (Nakanishi et al., 2004).

Transporte rápido

Inmediatamente después de la inseminación, los espermatozoides penetran en las micelas de moco cervical, donde algunos son transportados con rapidez por el conducto cervical. Esta fase dura de 2 a 10 min y suele ser facilitada por la motilidad espermática así como por aumento en la actividad contráctil de miometrio y mesosalpinx durante el cortejo y coito. Algunos espermatozoides alcanzan la abertura interna del cuello uterino 1.5 a 3 min. Después de la inseminación. De este modo, algunos llegan con rapidez al sitio de la fecundación (Kunz et al., 1996).

Colonización de los depósitos espermáticos

Grandes cantidades de espermatozoides quedan atrapadas en los pliegues mucosos complejos de las criptas cervicales. Este proceso es facilitado por el hecho de que las micelas del moco cervical dirigen los espermatozoides hacia las criptas cervicales, donde se forma el depósito. En las secreciones cervicales se encuentran menos leucocitos que en la vagina o el útero: esto hace pensar que en el cuello uterino ocurre menos fagocitosis de gametos masculinos. Los gradientes de concentración de estos últimos en distintos segmentos del aparato reproductor son importantes para la fecundidad (Ignotz et al., 2001). Cuantos más espermatozoides entren en el depósito cervical, tantos más llegaran al oviducto, con lo que se incrementa la posibilidad de fecundación. Además, mientras más grande sea el reservorio, más tiempo se mantendrá en el oviducto una población adecuada de espermatozoides.

Trasporte y liberación, lentos

Una vez que se han establecido depósitos adecuados de espermatozoides dentro del aparato reproductor, dichas células son liberadas de manera gradual por un periodo prolongado. Tal liberación lenta, en la que participa la motilidad innata de los gametos masculinos y la actividad contráctil del miometrio y mesosalpinx, asegura la disponibilidad continua de espermatozoides que entraran en el oviducto para fecundar el óvulo. Sin embargo, diversas barreras anatómicas y fisiológicas impiden que cantidades masivas de espermatozoides presentes en el eyaculado alcancen el sitio de fecundación, presumiblemente para evitar la polispermia, que es letal para el óvulo fecundado.

Trasporte de espermatozoides en el útero

La actividad contráctil de la vagina y miometrio es fundamental en el transporte de los espermatozoides hacia el útero y a través de él. Grandes cantidades de dichos gametos invaden las glándulas endometriales, y se cree que su presencia en el útero induce una respuesta leucositaria endometrial que estimula la fagocitosis del exceso de espermatozoides vivos, y quizás también de los muertos.

Espermofagia

La captación de espermatozoides por fagocitos es de especial importancia fisiológica debido a que la infiltración de leucocitos en la luz uterina, y su activación para ingerir gametos masculinos después de la copula, parece ser un mecanismo sobresaliente para la eliminación de estas células del aparato reproductor de la hembra.

En el útero, las células espermáticas son introducidas en vacuolas fagocíticas y digeridas por los macrófagos. El espermatozoide fagocitado puede no haber sufrido inicialmente daño o necrosis.

Trasporte en el oviducto

El oviducto tiene la función peculiar de hacer que converjan espermatozoides y óvulo en sentidos opuestos casi simultáneamente. El patrón y la rapidez de transporte a través del oviducto son controlados por varios mecanismos, como peristaltismo y antiperistaltismo en la musculatura oviductal, contracciones complejas en los pliegues mucosos del oviducto y mesosalpinx, corrientes y contracorrientes de líquido creadas por acción ciliar y posiblemente apertura y cierre de la porción intramural.

Las características y la amplitud de las contracciones varían en diferentes segmentos del oviducto. En el istmo, las contracciones peristálticas y antiperistálticas son segmentarias vigorosas y casi continuas.

Trasporte de espermatozoides y fertilidad

El flujo de espermatozoides desde el cuello uterino está asociado a la fagocitosis de tales gametos dentro del útero y su pérdida en la cavidad peritoneal. Por ello, en el sitio de la fecundación cerca de la unión istmoampular del oviducto se mantiene una población de gametos masculinos fértiles. El porcentaje de espermatozoides morfológicamente normales es mayor en los oviductos y útero que en el eyaculado (Gadella, 2010).

La filtración de células espermáticas muertas, anormales e incompetentes durante su paso por el aparato reproductor asegura la máxima viabilidad del cigoto.

Efecto de la sincronización del estro en el transporte de espermatozoides

La supervivencia y el transporte de los espermatozoides en el aparato reproductor femenino generalmente disminuyen después de cualquier alteración del ciclo estrual. El número de tales gametos en el oviducto se reduce después de la regulación del estro por administración de progestágeno y prostaglandina F₂, lo cual causa regresión del cuerpo amarillo. La regulación del estro con progestágenos o prostaglandinas permite que solo una cantidad limitada de espermatozoides lleguen a los oviductos, causando de este modo un decremento en las tasas de fecundación del óvulo y baja fertilidad.

Existen tres compuestos que si se añaden al semen empleado para inseminación o se inyectan en las hembras poco antes del momento de la inseminación, incrementan el número de espermatozoides que llegan a los oviductos. Estos compuestos incluyen una combinación de prostaglandinas E1 y F2 y 17 β estradiol en algunas especies.

Supervivencia de espermatozoides

Una vez que ha ocurrido la eyaculación, los espermatozoides tienen un tiempo de vida finito. Determinados componentes del plasma seminal estimulan la motilidad espermática, mientras que otros la inhiben. Existe una relación entre el pH del depósito intravaginal de semen y la motilidad de los espermatozoides.

Cuando migran en el aparato reproductor de la hembra, los espermatozoides se separan rápidamente del plasma seminal y se resuspenden en el líquido genital femenino. En el oviducto, los gametos masculinos se diluyen en gran medida. Durante el transporte al sitio de la fecundación se diluyen significativamente con secreciones luminales del aparato reproductor de la hembra y son susceptibles a los cambios en el pH de los líquidos luminales. La acidez o alcalinidad excesiva del

moco inmovilizan a los espermatozoides, mientras que la alcalinidad moderada estimula su motilidad.

Fijación y liberación de óvulos en el oviducto

Diversos mecanismos causan el transporte lento de los óvulos por el istmo: peristaltismo tubarico, actividad ciliar y corrientes y contracorrientes de líquido dentro de la luz. Los mecanismos fisiológicos y farmacológicos que regulan la fijación y liberación de los óvulos en el oviducto son:

1 Bloqueo mecánico

2 Bloqueo miogeno :

- a) Contracción sostenida de la musculatura circular del istmo.
- b) Contracciones reguladas por marcapasos miogenos, de algún modo acoplados en tiempo y espacio, de manera que no fuerzan el transporte prematuro de los óvulos hacia el útero.
- c) Relajación muscular local o general

Tiempo de vida fecundable y envejecimiento de óvulos

El tiempo de vida fecundable del óvulo es el periodo máximo durante el cual es susceptible de ser fecundado y experimentar el desarrollo normal. En la mayor parte de las especies, el óvulo puede ser fecundado por unas 12 a 24 h. pierde rápidamente esa capacidad al llegar al istmo, y es absolutamente incapaz de ser fecundado después de llegar al útero.

El óvulo puede ser fertilizado hacia el final de su tiempo de vida fecundable en caso de apareamiento tardío. Tales óvulos pueden implantarse o no, en caso de hacerlo, casi siempre producen embriones no viables. En animales de gestación única, el envejecimiento del óvulo puede causar aborto,

reabsorción embrionaria o desarrollo embrionario anormal. Pueden producirse anomalías similares por envejecimiento de los espermatozoides.

Desarrollo embrionario en el oviducto

El oviducto participa activamente en el mantenimiento y la preparación de los óvulos para la fecundación y la división celular posterior. El líquido oviductal es rico en sustratos y cofactores que participan en el desarrollo del óvulo, como piruvato y bicarbonato, aminoácidos libres, oxígeno y bióxido de carbono y carbohidratos, tal vez lípidos, nucleosidos, esteroides y otros compuestos.

Los factores endocrinos son importantes en el desarrollo temprano de los embriones en el oviducto. Los óvulos en las fases tempranas de la división requieren para su desarrollo sustancias específicas aportadas por el oviducto. Por lo tanto, la entrada prematura de las morulas en el útero causará su degeneración. Después de cierto tiempo, los blastocistos necesitan entrar en el útero para el desarrollo final y la implantación.

Fecundación

Maduración del óvulo

El óvulo reanuda la meiosis a partir de la profase I de la primera división meiótica cuando comienza a madurar durante la foliculogénesis. El óvulo está en la metafase II de la segunda división meiótica cuando ocurre la ovulación. La maduración y la meiosis del óvulo no se completan sino hasta que se termina la fecundación, cuando el óvulo se convierte en cigoto.

Fijación del espermatozoide

La unión de la cabeza del espermatozoide a la zona pelúcida es regulada por sitios receptores en la superficie de esta (Gadella, 2010).

Penetración de los espermatozoides

La penetración de los espermatozoides en la zona pelúcida ocurre en los 5 a 15 min que siguen a la fijación. La reacción acrosomal puede ocurrir antes o después de la fijación de la cabeza espermática a los receptores glucoproteínicos en la zona, pero para la fijación es esencial que el gameto masculino tenga el acrosoma intacto. La unión de la cabeza del espermatozoide a ZP3 permite que ocurran interacciones con otros componentes de la zona, los cuales estimulan la activación del acrosoma (Boerke et al., 2008; Gadella, 2010).

Mientras los espermatozoides que han experimentado la reacción acrosomal inician la penetración en la zona pelúcida, es posible que la glucoproteína ZP2 actúe como un receptor secundario para mantener a los espermatozoides unidos durante el paso a través de la zona (Honda et al., 2002).

Fusión de gametos

La reacción acrosomal es un requisito previo para la fusión entre membranas plasmáticas de los gametos femenino y masculino, y los óvulos de la zona pelúcida libre no pueden experimentar fusión con espermatozoides que no han pasado por la activación acrosómica, aunque ocurra la fijación a la superficie de la membrana (Honda et al., 2002).

La membrana vitelina está cubierta por microvellosidades densas, excepto por un área elevada adyacente a la superficie, por donde será expulsado el segundo cuerpo polar después de la fecundación. La fijación del gameto masculino ocurre inicialmente en el segmento ecuatorial de la

cabeza espermática, ya sea con las microvellosidades o con el área intervallosa de la membrana vitelina (Ho et al., 2003; Boerke et al., 2008).

Desarrollo de pronúcleos y singamia

Al penetrar el espermatozoide la membrana vitelina, el óvulo activa completa la meiosis y expulsa el primer o segundo cuerpo polar en el espacio perivitelino. Los cromosomas haploides maternos restantes son rodeados entonces por un pronúcleo. Los pronúcleos masculino y femenino emigran al centro del óvulo para nuevos arreglos en el armazón citoesquelético del óvulo después de la activación.

Implantación

La superficie apical del epitelio uterino inicialmente está cubierta por un grueso glucocaliz que se desvanece conforme se acerca el momento de la implantación del embrión.

Una glucoproteína transmembranosa, llamada Muc 1, es abundante durante la fase no receptiva de la preñez y puede servir como factor antiadherente (Abou et al., 1990). La presencia de Muc 1 se reduce notablemente, o está ausente, durante el periodo de fijación del embrión a la superficie uterina. El momento de la implantación, o en el caso de la fijación placentaria, se puede regular por el tiempo que el endometrio uterino está expuesto a la estimulación de la progesterona. Las concentraciones de progesterona en el suero aumentan rápidamente después de la formación del cuerpo lúteo. Después de días de exposición a la progesterona, disminución de receptores nucleares para dicha hormona en el epitelio uterino conduce a la pérdida del efecto directo de la progesterona en este tipo de célula. Como la síntesis epitelial de Muc 1 es estimulada por la progesterona, la pérdida del receptor de progesterona del epitelio uterino reduciría la producción de Muc 1 y se abriría un estado receptivo para la adhesión del embrión (Rahman et al., 2004).

La implantación del embrión en especies incluye áreas carunculares e intercarunculares del endometrio uterino. Primero ocurre una fijación transitoria mientras el embrión desarrolla vellosidades en forma de dedos (papilas) que se proyectan en el interior de la luz de las glándulas uterinas. Estas papilas proporcionan un ancla temporal y una estructura absorbente para el embrión mientras progresa una implantación más completa. La pérdida o la reducción en la altura de las microvellosidades de la superficie trofoblástica permiten un contacto cercano de la superficie con las microvellosidades del epitelio uterino. Este último se comprime hacia la superficie trofoblástica interbloqueándose con las proyecciones citoplásmicas en la superficie del trofoblasto hasta que las microvellosidades del trofoblasto vuelven a desarrollarse, formando una adhesión más compleja.

Reconocimiento materno de la preñez

Después de un apareamiento y una fecundación exitosos, el embrión debe anunciar su presencia al sistema materno y bloquear la regresión del cuerpo lúteo (CL), proceso denominado luteólisis, a fin de mantener la producción lútea de progesterona. La presencia del CL es esencial para el establecimiento de la preñez en todos los animales domésticos. El embrión sintetiza y secreta esteroides y proteínas para señalar su presencia al sistema materno. Estas moléculas sirven para modular la síntesis o liberación de prostaglandinas F² alfa luteolítica del útero y evitar la regresión del CL. Durante el periodo crítico de la liberación de prostaglandinas uterinas, el embrión debe cubrir una gran parte del endometrio materno para regular la producción de prostaglandinas. El periodo decisivo en el que el embrión emite la señal para el bloqueo de la luteólisis y permite que se establezca la preñez se denomina: Reconocimiento materno de la preñez.

Gestación

Duración de la gestación

La duración de la gestación es el intervalo que va de la fecundación al parto. Esta determinado genéticamente, aunque puede ser modificado por factores maternos, fetales, genéticos y ambientales (Murry and. Keller, 2008).

Tecnología para la reproducción asistida

Evaluación del semen

Los espermatozoides son únicos entre las células en su forma y función. El método estándar para evaluar la fertilidad de machos reproductores, aparte de la evaluación directa de su capacidad para causar una preñez, es el examen del semen.

Evaluación y fertilidad

Aunque ninguna prueba por si sola puede predecir con exactitud la fertilidad de una muestra de espermatozoides, el examen de diversas características físicas de semen puede determinar mayor potencial de fertilidad, además un examen físico y quizás la certificación de vacunas y salud general.

Concentración espermática

La concentración se mide usando un hemocitómetro, un colorímetro o un espectrofotómetro. El hematocitometro es un portaobjetos de microscopio que cuenta con cámaras numeradas con precisión. La cantidad de espermatozoides por cámara se cuenta manualmente, lo cual, pese a tomar mucho tiempo, es muy exacto. No obstante, este método puede reemplazarse por un espectrofotómetro o colorímetro calibrado con respecto al hemocitómetro, instrumentos que tienen

la ventaja de ser precisos y rápidos. Se prefiere el espectrofotómetro para determinar las concentraciones de espermatozoides, y debe calibrarse a 550 nm. La solución que se utiliza para diluir el eyaculado es citrato de sodio al 2.9%, y 5 ml de formalina por litro al 10 %. La curva estándar para medir la concentración con respecto a incrementos de 0.5% de transmisión de luz proporciona el rango necesario para determinar la concentración. Sin embargo, los fotómetros no son exactos en caso de semen contaminado, y si se agregan diluyentes turbios antes de calcular la concentración puede confundir los resultados.

Motilidad espermática

La valoración de la motilidad implica la estimación subjetiva de la viabilidad de los espermatozoides y la calidad de la motilidad. Por lo general se utiliza el análisis del espermatozoide con microscopio de luz. La evaluación de la motilidad de los espermatozoides se realiza con semen puro y diluido.

La valoración del semen puro indica el comportamiento de los espermatozoides en su propio líquido de las glándulas accesorias. Las concentraciones espermáticas elevadas pueden dificultar la medición de la motilidad en semen puro, limitación que se soluciona con la dilución de una cantidad pequeña de semen *concentración de 25×10^6 espermatozoides X ml) en un diluyente de buena calidad (Abou et al., 1990).

Debido a que la motilidad espermática es en extremo susceptible a las condiciones ambientales (como el exceso de calor o frío), es necesario proteger al semen de agentes o situaciones perjudiciales antes del análisis. Para contribuir a la confiabilidad del cálculo de la motilidad, se requiere la participación de una persona experimentada y un microscopio equipado adecuadamente. Se coloca una gota de semen diluido en el portaobjetos, y se frota con otro portaobjetos. A continuación se observa con un microscopio que tenga un calentador empotrado y lente de contraste

de fase. Por lo general se utiliza la ampliación de 200 X a 400X para calcular la motilidad espermática.

Los parámetros de motilidad incluyen:

- a) Porcentaje de espermatozoides en movimiento (lo normal es que 70 a 90% muestren motilidad)
- b) Porcentaje de espermatozoides con motilidad progresiva
- c) Velocidad espermática (con base en una escala de 0 (estacionaria) a 4 (rápida).
- d) Longevidad de la motilidad espermática en semen puro (a temperatura ambiente de 20 a 25⁰c, y en semen diluido (a temperatura ambiente, o temperatura refrigerada de 4 a 6 ⁰c).

Inseminación artificial

La inseminación artificial (IA) es la técnica individual más importante creada para el mejoramiento genético de animales, debido a que unos pocos machos seleccionados producen suficientes espermatozoides para inseminar miles de hembras al año. En contraste, cada hembra seleccionada puede producir relativamente poca progenie, aun mediante transferencia de embriones. Las principales ventajas de la IA son: a) mejoramiento genético, b) control de enfermedades de transmisión sexual, c) disponibilidad de registros de apareamiento adecuados, d) servicio económico y e) seguridad a través de la eliminación de machos no deseados.

La IA se facilita con programas de sincronización del estro, y se ha propuesto como un medio para controlar el sexo de la progenie mediante la separación de espermatozoides con cromosomas X y Y.

Cuando la IA se realiza de manera apropiada, sus desventajas son pocas. Sin embargo se debe contar con instalaciones adecuadas, idóneas para manejar a las hembras en los programas de terapia hormonal o detección de estro e inseminación.

Las ventajas de la IA son:

- a) Permite el uso generalizado de machos sobresalientes con genética valiosa.
- b) Facilita las pruebas de la progenie en diversas condiciones ambientales y de manejo, mejorando de este modo aun más la exactitud de la selección.
- c) Mejora el rendimiento y el potencial del hato nacional.
- d) Permite realizar cruzas para modificar una característica productiva.
- e) Acelera la introducción de nuevo material genético.
- f) Hace posible el uso de semen congelado a muy baja temperatura, después de que ha muerto el donador, lo que contribuye a la preservación de líneas seleccionadas.
- g) Permite el uso de semen de machos incapacitados u oligospermicos.
- h) Reduce el riesgo de dispersión de enfermedades transmitidas sexualmente.
- i) Suele ser esencial después de la sincronización del estro en grupos grandes de hembras.
- j) Permite el uso de machos con marcadores genéticos deseables en apareamientos genéticos específicos.
- k) Constituye una herramienta de investigación útil para evaluar muchos aspectos de la fisiología reproductiva del macho y de la hembra (1).

Es deseable la obtención de semen a la edad más temprana posible de los machos con potencial genético valioso, para acelerar la identificación de los ejemplares superiores. A fin de cuentas, el impacto genético de un macho superior está limitado por la cantidad de espermatozoides producidos, lo cual es una función directa del tamaño testicular.

Los machos jóvenes deben seleccionarse cuidadosamente tan pronto como sea posible después de la pubertad.

Manejo de los machos y colección de semen

Cuando los machos jóvenes se alimentan y manejan adecuadamente, es posible coleccionar semen de buena calidad. La colección correcta de semen es de importancia primordial en un programa de inseminación artificial.

Procedimientos de montas e incitación

Las montas vivas (como una hembra estimuladora, otro macho intacto o uno castrado) son las técnicas más exitosas para la colecta sistemática de semen. Algunos sementales, pueden ser entrenados para montar maniqués, lo cual evita la transmisión de enfermedades y proporciona estabilidad para la recolección física.

Descongelamiento del semen

Para descongelar pajillas de 2 o 3 ml se utiliza un baño de agua a 37°C durante 45 s. Nunca debe permitirse que el semen se enfríe o congele de nuevo. Es importante secar la pajilla y mantener la temperatura a 37 °C mientras se carga la pistola de inseminación cuando el clima es frío. La pistola se entibia previamente frotándola vigorosamente varias veces.

Colección del semen

Existen dos métodos mediante los cuales se recolecta semen: la electro-eyaculación (EE) o la vagina artificial (VA). En el procedimiento con EE se introduce una sonda eléctrica bipolar en el recto del animal, y se administra estimulación eléctrica de bajo voltaje durante 2 a 4 s, en intervalos de 10 a 20 s, hasta que ocurra la eyaculación. Las recolecciones con EE tienen concentraciones y volumen espermático muy variable. La contaminación con orina puede ser un problema cuando el semen se recolecta con esta técnica. La EE es muy estresante para el animal y solo debe usarse en casos extremos.

La VA es el método preferido para la recolección de semen. Es necesario entrenar al animal para utilizar la VA, lo cual no es difícil, y la mayor parte de los animales quedan entrenados en una semana. Lo mejor es recolectar el semen durante la culminación de la estación reproductiva. La VA consta de una manguera de 20 a 25 cm de longitud y 5 a 7 cm de diámetro, con funda de caucho. Es necesario lubricar el entreforro y que la temperatura de la VA se encuentre entre 42 y 46 °C. Cuando el animal monta a la hembra, se guía con suavidad el pene al interior de la VA. La cantidad de presión inter VA varía según el animal. También es importante que el tubo de vidrio de recolección se encuentre tibio (37°C) para evitar choque frío. Una vez que el animal eyacula, el tubo de vidrio que contiene el semen se retira y coloca en baño de agua tibia a 30°C hasta que el semen alcance esa temperatura.

Diluyentes y diluciones de semen

La motilidad y concentración dictan la proporción a la que se diluye el semen. El semen con puntuación de 5 en movimiento y concentración puede diluirse en una proporción de hasta 4:1. La

mayor parte de los eyaculados se diluyen a una proporción de 2:1. El que tiene puntuación de 2 no debe diluirse y solo utilizarse en estado fresco sin diluir.

Es posible utilizar diluyentes naturales o sintéticos. La leche de vaca es el diluyente natural de mayor uso. La leche entera, sin grasa o en polvo debe calentarse a 92 – 95 °C en baño de agua, durante 8 a 10 min. Sin embargo, si se usa leche ultra tratada con calor, no se requiere calentamiento adicional. El diluyente y el semen deben encontrarse a la misma temperatura (30 °C) cuando se realiza la dilución (Mara et al., 2007).

La adición del diluyente al semen reduce el choque a los espermatozoides. Nunca debe agregarse semen al diluyente. La mezcla debe revolverse con suavidad, y a continuación se evalúa el semen después de diluirse para confirmar la viabilidad de los espermatozoides.

1 Representación esquemática de diluyentes y diluciones de semen

<i>Diluyente de yema de huevo TRIS Fructosa para preservar semen</i>	
<i>Componente</i>	<i>Cantidad</i>
Tris (hidroximetil) aminometano	3.634 g
Fructosa	0.50 g
Ácido cítrico, monohidratado	1.99 g
Yema de huevo	14 ml
Agua destilada en vidrio	Añadir para hacer 100 ml

Sincronización del estro para la IA

La IA solo tendrá éxito si se realiza durante la segunda mitad del periodo del estro. La sincronización del estro de la hembra con el de los demás permite que el técnico en IA insemine a un grupo en una sesión y facilita la inseminación durante el periodo óptimo de concepción. La sincronización puede lograrse por métodos naturales o farmacológicos.

El natural requiere el uso de un macho estimulador, o de uno castrado, tratado con testosterona, con revisiones dos veces al día, a intervalos de 12 h, para determinar si hay estro. Las hembras que se encuentran en estro se inseminan artificialmente 12 y 24 h después de la detección. Si la revisión solo se realiza una vez al día, la inseminación se lleva a cabo 13 a 17 h después de la detección. Aunque este método es laborioso, no se incurre en gastos de productos farmacológicos (Motlomelo et al., 2002).

Existen dos procedimientos farmacológicos de uso común para sincronizar a las hembras: terapia con progesterona y con prostaglandinas.

Las progesteronas se administran por varios métodos: por vía oral, en implante subcutáneo, inyección por vía intramuscular o introducción en forma de dispositivo o esponja vaginal. El método con dispositivo es el de más amplio uso y conveniencia (Fonseca et al., 2005). Se introduce el dispositivo impregnado con progesterona en la vagina de la hembra, y se deja colocado durante 12 a 14 días. Cualquier cuerpo lúteo que surja de manera natural en los ovarios se involucionara durante este periodo, de forma que la progesterona exógena será la única fuente de esta hormona. Cuando se retira el dispositivo, se administra una inyección intramuscular de gonadotropina sérica de yegua preñada (PMSG), la cual ocasiona que la sincronización sea más estrecha y aumenta la tasa de ovulación. Por lo general se recomiendan dosis de 400 – 500 UI, o de 600 a 750 UI, de PMSG

durante la estación reproductiva natural y fuera de la estación reproductiva, respectivamente. A medida que aumentan las dosis de PMSG, se incrementara la tasa ovulatoria. Sin embargo, a niveles superiores a 800 UI el índice de concepción se reduce (López-Sebastian et al. 2007).

Existe otro dispositivo intravaginal, el liberador de la droga con control interno (CIDR) para sincronizar a las hembras. El CIDR contiene 9 a 12 % de progesterona en un elastómero de silicón. No se han observado diferencias en los índices de concepción entre ambos métodos de terapia intravaginal. El tratamiento con prostaglandinas (PG) depende de la presencia de un cuerpo lúteo activo y por ello solo puede practicarse durante la estación de actividad reproductiva. La prostaglandina ocasiona la regresión del cuerpo lúteo y de este modo inhibe la producción de progesterona. Sin embargo, debido a que solo es efectiva entre el día 5 y el 14 del ciclo estrual, se necesitan dos inyecciones de PG con un intervalo de 10 a 14 días para que sean útiles en la sincronización del grupo completo de hembras. Los índices de concepción por IA son menores cuando se utiliza el tratamiento con PG que con el método de dispositivo con progesterona. La PG puede combinarse durante periodos breves con terapia de progesterona y PMSG. Este método requiere un tratamiento durante siete días con dispositivo vaginal, y en el sexto día se administra una sola inyección de PG. La PMSG se inyecta cuando se retira el dispositivo.

Efecto del macho

Es posible usar machos estimuladores para sincronizar a las hembras de manera natural, ya que las feromonas que produce el macho estimulan el avance de la estación de apareamiento por dos o tres semanas y sincronizan a las hembras.

Las feromonas son hormonas especializadas que libera el macho y huele la hembra. No es necesario el contacto visual o físico para estimular a la hembra, aunque cada macho puede tener

distinta capacidad de estimular a las hembras. Las hembras estimuladas comienzan a segregar gonadotropinas a los 10 min de la presentación del macho o las feromonas. Las hormonas ocasionan que la hembra ovule al cabo de tres días (Rivas-Muñoz et al., 2010).

Es necesario aislar por completo a las hembras de los machos durante aproximadamente dos meses antes de presentar a los machos estimuladores, con el fin de que ocurra la estimulación por las feromonas del macho (Leboeuf et al., 2008). También se sugiere mantener a los machos a por lo menos 800 metros de distancia de las hembras para evitar que estas huelan las feromonas del macho durante este periodo. Es posible utilizar machos con vasectomía, epididectomía o intactos para estimular a las hembras. Sin embargo, si se permite que el macho intacto tenga contacto directo con las hembras, las que hayan estado en estro durante el periodo de incitación pueden aparearse. Debido a que el contacto directo con el macho no es necesario para estimular a la hembra, se recomienda colocar al macho intacto, cuando se usa, en un espacio adyacente. No se requieren periodos prolongados de estimulación, ya que se ha demostrado en estudios que la exposición de las hembras al macho durante dos días tiene la misma eficacia que la incitación durante 17 días (Pellicer-Rubio et al., 2007).

Los machos castrados que han recibido tratamiento con propionato de testosterona (105 mg X inyección tres veces a la semana durante 14 a 21 días) son casi tan eficaces para estimular a las hembras como los machos intactos (Luna-Orozco et al., 2012).

Método de inseminación

Existen cuatro métodos para inseminar a las hembras de manera artificial: el vaginal (VAI), el cervical (CAI), el transcervical (TAI) y el laparoscópico (LAI) o intrauterino. Cada método tiene sus ventajas y desventajas (19 – 21).

2 Resumen de varios métodos de inseminación

<i>Procedimientos</i>	<i>Consideraciones</i>
VAI	<ol style="list-style-type: none">1) Sencillo: se requiere poco adiestramiento.2) Solo se utiliza semen fresco o semen fresco diluido (0.2 ml).3) Se utilizan 200×10^6- 400×10^6 espermatozoides4) La hembra debe estar de pie5) La pipeta se introduce 13 cm6) El índice de concepción es de 40 a 65
CAI	<ol style="list-style-type: none">1) Se precisa más adiestramiento que en la VAI y menos semen. Los índices de concepción son más elevados.2) Puede utilizarse semen enfriado3) Se emplean 100×10^6 – 200×10^6 espermatozoides4) 450×10^6 espermatozoides congelados producen índices de concepción de 30 a 35 %5) El cuello uterino se abre con un espejo especial y se introduce 10 – 14 cm6) El semen se deposita 1 – 3 centímetros más allá del cuello uterino7) El índice de concepción es de 60 a 70%
TAI	<ol style="list-style-type: none">1) Puede utilizarse semen criopreservado2) El índice de concepción es de 90% con semen fresco3) Los índices de concepción son de 22 a 51% con semen criopreservado4) Se requiere vaginoscopio para la técnica5) En 70 – 90% de las hembras se logra la penetración cervical6) Se necesita un volumen de semen de 0.5 ml7) La hembra se inmoviliza sobre la espalda

LAI	<p>para la IA</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Puede usarse semen criopreservado 2) El índice de concepción es de 65 a 80% con semen criopreservado 3) No se debe proporcionar alimento ni agua durante 18 hrs 4) Se coloca a la hembra en una cuna laparoscópica 5) Se administra anestesia local, 14 cm anteriores a la ubre y 6 cm sobre ambos lados de la línea media ventral. 6) La hembra se recuesta sobre la espalda a un ángulo de 40⁰. 7) Se utiliza trocar para puncionar la pared abdominal 8) Se retira el trocar, y la sonda de manipulación y el endoscopio se colocan a través de una cánula en la cavidad abdominal 9) La luz de fibra óptica en el endoscopio muestra el tracto reproductivo 10) Se inyecta CO² en el abdomen (anestésico suave) 11) La sonda se utiliza para colocar el útero en posición adecuada 12) Se deposita semen (- 1 ml) en la luz uterina, en ambos cuernos 13) Se aplica antibiótico local en rociador sobre las incisiones 14) Se coloca a la hembra en el corral. La hembra come a los pocos minutos. Los índices de infección son extremadamente bajos.
-----	---

Momento de la inseminación

Cuando se combina el uso de dispositivo de progesterona y PMSG, y la inseminación es por vía vaginal o cervical, se debe practicar una sola inseminación 54 a 56 h después de que se retira el dispositivo. Si las hembras deben inseminarse dos veces, la primera inseminación se realiza a las 48 h de retirarse el dispositivo, y la segunda, 12 h después. La inseminación doble por lo general aumenta en 5 a 10 % el índice de concepción y por consecuencia incrementa la prolificidad.

Cuando se practica la TAI, la inseminación se efectúa a las 48 – 56 h después de retirarse el dispositivo. Si se utiliza CIDR sin PMSG para sincronizar el estro, la inseminación debe efectuarse 48 a 57 h de retirarse el dispositivo. Cuando se combina terapia de corto plazo de progesterona con prostaglandina y PMSG, la inseminación se realiza 48 a 60 h después de extraerse el dispositivo. Si la inseminación es laparoscópica y se utilizan progesterona y tratamientos con PMSG, se insemina a la hembra 56 a 62 h después de retirarse el dispositivo. Si las hembras se han superovulado, debido a los niveles más elevados de PMSG o FSH, la inseminación se realiza antes. Cuando se utiliza semen fresco, la inseminación se efectúa 36 a 48 h después de extraerse el dispositivo vaginal. La inseminación con superovulación debe practicarse a las 44 a 48 h de retirarse el dispositivo si se usa semen congelado – descongelado. La LAI se practica de las 48 a las 52 h después de retirarse el CIDR (Cetin et al., 2009)

La nutrición y la reproducción

La importancia de la nutrición en la crianza y producción de animales probablemente ha sido entendida desde la domesticación, aunque la seria documentación e investigación científica comenzó hace aproximadamente 100 años (Clark, 1934). La nutrición se conoce por afectar varios aspectos del proceso reproductivo y muchas investigaciones han sido dedicadas a la pubertad, a la producción de gametos (particularmente al tipo de ovulación), al crecimiento de la placenta y a la lactancia. En años recientes ha habido mayores desarrollos en dos áreas más del proceso como es el desarrollo fetal (programación fetal) y a la producción de calostro en relación a la supervivencia de la descendencia. Para las hembras, el límite superior de la tasa de ovulación está determinada genéticamente y puede ser mejorada a través de la selección, pero la expresión del potencial genético está influenciado en gran medida por el régimen de nutrición antes del apareamiento (Martin *et al.*, 2006). Esto es evidente a partir de la correlación entre la condición corporal y el

tamaño de la camada, pero es más importante en el contexto de la alimentación (Martin *et al.*, 2006). También existe un efecto agudo de alimentación con una suplementación de tan sólo 4 días en las etapas finales del ciclo del celo. (Martin *et al.*, 2006). Por otra parte no hay pruebas que demuestren que la desnutrición afecta a la ovulación antes de la oleada de LH o la liberación de estrógenos, pero sí afecta a la capacidad de respuesta a estrógenos exógenos. (Gibson y Robinson 1971; Martin *et al.*, 2004). En la hembra el proceso de la ovulación es dependiente de GnRH, pero los efectos nutricionales sobre la tasa de ovulación parecen estar medidas principalmente a través de vías que dependen muy poco de un cambio en la secreción de la GnRH, LH y FSH (Parker *et al.*, 1972). La severa desnutrición es uno de los muchos factores sugeridos como causa de la pérdida de embriones, pero, Paradójicamente, también hay pruebas de que un exceso en la alimentación temprana puede causar la mortalidad del embrión (Martin *et al.*, 2006). Esto es al parecer debido a un aumento en la liquidación de la progesterona y por lo tanto, una degradación del medio ambiente uterino (Martin *et al.*, 2004). Además, en virtud de la alimentación y la alimentación durante las primeras etapas del desarrollo embrionario pueden tener consecuencia a largo plazo para los embriones que sobreviven a causa del fenómeno de la programación de oocitos (Martin *et al.*, 2006). Por otra parte se tiene poca información de la sobrealimentación en los machos, sin embargo, hay algunos reportes de que el sobrepeso afecta principalmente los encuentros sexuales ya que la perceptibilidad puede verse afectada (Eright *et al.*, 1990).

Efecto de la nutrición sobre el comportamiento sexual

El comportamiento sexual de los pequeños rumiantes no parece verse afectado por la alimentación a menos que se produzca un cambio extremo en la masa corporal y las reservas de energía hayan afectado a las actividades motoras. (Parker *et al.*, 1972). Por otra parte, la sobrealimentación

también reduce la eficacia de la conducta de apareamiento, por que el sobre peso en los animales los vuelve torpes (Osolski, 1975).

Influencia de la alimentación de las hembras en su respuesta al efecto macho

El nivel de alimentación de las hembras puede influir su respuesta al efecto macho (Wright et al., 1990; Mellado et al., 1994). La proporción de hembras que muestran comportamiento estral y que ovulan en respuesta al efecto macho es mayor en las hembras bien alimentadas que en las subalimentadas. En efecto, Wright et al., (1990) demostraron que un 70% de las hembras con nutrición normal presentan estro en un periodo de 14 días de contacto con los machos, mientras que sólo el 20% de las hembras con alimentación restringida fueron detectadas en estro en ese mismo periodo. Estudios realizados han demostrado que un 78% de hembras mantenidas en pastoreo extensivo y que disponen de una buena condición corporal muestran conducta estral en un lapso de 8 días de contacto con los machos; en cambio, sólo un 62% de las hembras emaciadas presentan estro en período que se prolonga hasta los 12 días de contacto con los machos (Mellado et al., 1994). Estos datos demuestran que las hembras con mayor peso corporal responden mejor al efecto macho. La tasa ovulatoria es otra variable influenciada por la nutrición de las hembras expuestas al efecto macho (Lindsay et al., 1975; Rattray et al., 1981). Estudios realizados en razas estacionales subalimentadas han demostrado que una complementación alimenticia ejerce un importante efecto sobre la tasa ovulatoria (Smith et al., 1990; Robinson, 1990; Lassoued et al., 1993). En efecto, Rhind et al., (1989), Molle et al., (1997) y Nottle et al. (1997) reportaron que una complementación alimenticia de 14 ó de 7 días, en hembras subalimentadas antes del contacto con los machos, incrementó la tasa ovulatoria con respecto a las hembras no complementadas. Sin embargo, la proporción de hembras que ovularon o mostraron estro no fue diferente entre las hembras complementadas y las no complementadas (Knight et al., 1975). La suplementación nutricional

mejora la ovulación y las tasas de preñez en hembras bajo condiciones naturales de pastoreo y expuestas al efecto macho (Martin *et al.*, 2006). Por otra parte (Fitz-Rodríguez *et al.* 2009) realizaron otro estudio para determinar si una suplementación de 0, 7, 14 o 28 días, a partir del día 9 después de la introducción de los machos mejora la respuesta sexual de las cabras locales del norte de México. La proporción de hembras que quedaron preñadas en el grupo suplementado durante 14 y 28 días fue mayor que en el grupo de hembras que no fue suplementado (Fitz-Rodríguez *et al.*, 2009).

Literatura citada

- Aller, J. F., Fernandez, O., and Sanchez, E. (2009). Fixed-time artificial insemination in red deer (*Cervus elaphus*) in Argentina. *Anim. Reprod. Sci.* **115**, 312–316.
doi:10.1016/J.ANIREPROSCI.2008.11.018
- Asher, G. W., Kraemer, D. C., Magyar, S. J., Brunner, M., Moerbe, R., and Giaquinto, M. (1990). Intrauterine insemination of farmed fallow deer (*Dama dama*) with frozen–thawed semen via laparoscopy. *Theriogenology* **34**, 569–577. doi:10.1016/0093-691X(90)90012-I
- Asher, G. W., Fisherb, M. W., Fennessyb, P. F., Mackintoshb, C. G., Jabboura, H. N., and Morrow, C. J. (1993). Oestrus synchronization, semen collection and artificial insemination of farmed red deer (*Cervuselaphus*) and fallow deer (*Dama dama*). *Anim. Reprod. Sci.* **33**, 241–265.
doi:10.1016/0378-4320(93)90118-B
- Bowers, S. D., Brown, C. G., Strauch, T. A., Gandy, B. S., Neuendorff, D. A., Randel, R. D., and Willard, S. T. (2004). Artificial insemination following observational versus electronic methods of oestrus detection in red deer does (*Cervus elaphus*). *Theriogenology* **62**, 652–663.
doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2003.11.019
- Chemineau, P. (1993). Environment and animal reproduction. *World Anim. Rev.* **77**, 2–14. Cook, R. C., Murray, D. L.,
- Cook, J. G., Zager, P., and Monfort, S. L. (2001). Nutritional influences on breeding dynamics in elk. *Can. J. Zool.* **79**, 845–853. doi:10.1139/Z01-050
- dos Santos-Zanetti, E., Furlan-Polegato, B., and Barbanti-Duarte, J. M. (2010). Comparison of two methods of synchronization of oestrus in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*). *Anim. Reprod. Sci.* **117**, 266–274. doi:10.1016/J.ANIREPROSCI.2009.05.010
- Fernandez-Santos, M. R., Estesó, M. C., Montoro, V., Soler, A. J., and Garde, J. J. (2006).

Cryopreservation of Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) epididymal spermatozoa: effects of egg yolk, glycerol and cooling rate. *Theriogenology* **66**, 1931–1942. doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2006.05.012

Fernández-Santos, M. R., Martínez-Pastor, F., Matias, D., Domínguez- Rebolledo, A. E., Estesó, M. C., Montoro, V., and Garde, J. J. (2009). Effects of long-term chilled storage of red deer epididymides on DNA integrity and motility of thawed spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* **111**, 93–104. doi:10.1016/J.ANIREPROSCI.2008.02.001

Garde, J. J., Martínez-Pastor, F., Gomendio, M., Malo, A. F., Soler, A. J., Fernández-Santos, M. R., Estesó, M. C., García, A. J., Anel, L., and Roldán, E. R. (2006). The application of reproductive technologies to natural populations of red deer. *Reprod. Domest. Anim.* **41**(Suppl 2), 93–102. doi:10.1111/J.1439-0531.2006.00773.X

Haigh, J., Berezowski, J., and Woodbury, M. R. (2005). A cross-sectional study of reproductive indices and fawn mortality in farmed white-tailed deer. *Can. Vet. J.* **46**, 413–416.

Hopkins, P. S., Nolan, C. J., and Pepper, P. M. (1980). The effects of heat stress on the development of the foetal lamb. *Aust. J. Agric. Res.* **31**, 763–771. doi:10.1071/AR9800763

Jacobson, H. A., Bearden, H. J., and Whitehouse, D. B. (1989). Artificial insemination trials with white-tailed deer. *J. Wildl. Manage.* **53**, 224–227. doi:10.2307/3801338

Jones, P. D., Strickland, B. K., Demarais, S., and Blaylock, A. C. (2010). Reproductive characteristics of white-tailed deer in Mississippi. *Southeast. Nat.* **9**, 803–812. doi:10.1656/058.009.0414

Lambe, J., Forbes, W., Olcott, B. M., Sanders, D. E., Godke, R. A., and Gentry, G. T. (2010). Effect of GnRH on fixed-timed artificial insemination pregnancy rates of white-tailed deer. *Reprod. Fertil. Dev.* **22**, 170. doi:10.1071/RDV22N1AB24

- Macmillan, K. L., and Peterson, A. J. (1993). A new intravaginal progesterone-releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrus synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Anim. Reprod. Sci.* **33**, 1–25. doi:10.1016/0378-4320(93) 90104-Y
- Mader, T. L., Davis, M. S., and Brown-Brandl, T. (2006). Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* **84**, 712–719. doi:10.3168/JDS.S0022-0302(85)81118-8
- Magyar, S. J., Biediger, T., Hodges, C., Kraemer, D. C., and Seager, S. W. J. (1989). A method of artificial insemination in captive white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Theriogenology* **31**, 1075–1079. doi:10.1016/ 0093-691X(89)90491-3
- Malo, A. F., Garde, J. J., Soler, A. J., Garcí'a, A. J., Gomendio, M., and Roldan, E. R. S. (2005). Male fertility in natural populations of red deer is determined by sperm velocity and the proportion of normal spermatozoa. *Biol. Reprod.* **72**, 822–829. doi:10.1095/BIOLREPROD.104.036368
- Martínez-Pastor, F., Martínez, F.,Álvarez, M., Maroto-Morales, A., García- Alvarez, O., Soler, A. J., Garde, J. J., de Paz, P., and Anel, L. (2009). Cryopreservation of Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) spermatozoa obtained by electroejaculation. *Theriogenology* **71**, 628–638. doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2008.09.033
- McCorkell, R. B., Woodbury, M. R., and Adams, G. P. (2007). Evaluation of an ovarian synchronization scheme for fixed-time artificial insemination in wapiti. *Theriogenology* **67**, 1217–1223. doi:10.1016/J.THERIOGEN OLOGY.2007.01.006
- McMillan, W. H., and Asher, G. W. (2007). Development of large-scale commercial AI for genetic improvement in farmed red deer in New Zealand. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* **67**, 82–90.
- Mellado, M., and Meza-Herrera, C. A. (2002). Influence of season and environment on fertility of goats in a hot–arid environment. *J. Agric. Sci.* **138**, 97–102. doi:10.1017/S0021859601001630

- Monfort, S. L., Asher, G. W., Wildt, D. E., Wood, T. C., Schiewe, M. C., Williamson, L. R., Bush, M., and Rall, W. F. (1993). Successful intrauterine insemination of Eld's deer (*Cervus eldi thamin*) with frozen–thawed spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* **99**, 459–465. doi:10.1530/JRF.0.0990459
- Montane', J., Marco, I., Manteca, X., Lo'pez, J., and Lavi'n, S. (2002). Delayed acute capture myopathy in three roe deer. *J. Vet. Med. Series A – Physiol. Pathol. Clin. Med.* **49**, 93–98. doi:10.1046/J.1439-0442.2002.JV409.X
- Morrow, C. J., Penfold, L. M., and Wolfe, B. A. (2009). Artificial insemination in deer and non-domestic bovids. *Theriogenology* **71**, 149–165. doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2008.09.001
- Mylrea, G., Evans, G., and English, A. (1991). Conception rates in European fallow does (*Dama dama dama*) following intrauterine insemination with frozen–thawed semen from Mesopotamian fallow (*Dama damamesopotamica*) and crossbred (*Dama dama dama x Dama dama mesopotamica*) bucks. *Aust. Vet. J.* **68**, 294–295. doi:10.1111/J.1751-0813.1991.TB03258.X
- Swihart, R. K., Weeks, H. P., Jr., Easter-Pilcher, A. L., and DeNicola, A. J. (1998). Nutritional condition and fertility of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) from areas with contrasting histories of hunting. *Can. J.Zool.* **76**, 1932–1941.
- Wildt, D. E. (1989). Reproductive research in conservation biology: priorities and avenues for support. *J. Zoo Wildl. Med.* **20**, 391–395.
- Willard, S. T., Hughes, D. M., Jr., Bringans, M., Sasser, R. G., White, D. R., Jaques, J. T., Godfrey, R. W., Welsh, T. H., Jr., and Randel, R. D. (1996). Artificial insemination, hybridization and pregnancy detection in sika deer (*Cervus nippon*). *Theriogenology* **46**, 779–789. doi:10.1016/S0093-691X(96)00236-1

Willard, S. T., Neuendorff, D. A., Lewis, A. W., and Randel, R. D. (2002). A comparison of transvaginal artificial insemination procedures for use in commercially-farmed deer. *Small Rumin. Res.* **44**, 135–140. doi:10.1016/S0921- 4488(02)00048-2

ARTICULO

Factors affecting reproductive performance of white-tailed deer subjected to fixed-time artificial insemination or natural mating

Miguel Mellado ^{A,D}, Claudia G. Orta ^A, Eloy A. Lozano ^B, Jose E. Garcia ^A, Francisco G. Veliz ^C and Angeles de Santiago ^C.

^aAutonomous Agrarian University Antonio Narro, Department of Animal Nutrition, Saltillo, 25315, Mexico.

^bAutonomous Agrarian University Antonio Narro, Department of Natural Resources, Saltillo, 25315, Mexico

^cAutonomous Agrarian University Antonio Narro, Department of Veterinary medicine, Torreon, 27059, Mexico

^dCorresponding autor. Email: mmellbosq@yahoo.com

Abstract

The objectives of this study were to examine the effects of several factors affecting fawning rate, litter size, litter weight and neonatal fawn mortality in white-tailed deer inseminated either transcervically or by means of laparoscopy. Oestrus synchronisation with a controlled internal drug release (CIDR)-based protocol and fixed-time artificial insemination (FTAI) was conducted in 130 white-tailed deer (*Odocoileus virginianus texanus*) during three 5 reproductive seasons (2007–2009; 271 services) in a game-hunting ranch in a hot–arid environment (26840 N, 1018250 W).

Ninety additional non-treated does were exposed to bucks for natural mating. Fawning rate did not differ between AI methods (40.0 vs 45.0% for transcervical and laparoscopic AI, respectively). Overall fawning rate (proportion of all does fawning after FTAI and a subsequent period of buck exposure) did not differ between transcervical (89.5%), laparoscopic (80.3%) or natural (88.9%) insemination. Litter size per fawning doe was higher ($P,0.05$) in naturally-served does 10 (1.65_0.48) than in transcervically-inseminated does (1.40_0.51) or in laparoscopically-inseminated does (1.48_0.50). The main conclusion was that no enhancement of fawning rate or litter size occurred as a result of intrauterine deposition of semen by laparoscopy compared with the transcervical insemination technique.

Additional keywords: *fawning rate, fawn mortality, laparoscopic insemination, transcervical insemination.*

Received 23 February 2012, accepted 3 May 2012, published online xx xxxxx xxxx

1. Introduction

In recent years, there has been an important interest in using artificial insemination (AI) in white-tailed deer hunting ranches. Some of the reason for the increased use of AI in deer in game ranches is the genetic improvement of the herd, which represents higher income for producers due to higher prices of high-scoring bucks. In addition, AI provides an avenue for infusing genes between wild stocks, some of which may be genetically stagnant (Wildt 1989), as a result of the genetic isolation of wild populations kept in fenced ranches. An additional advantage of AI is the reduction in costs of

transporting animals and the reduction of risk of introducing diseases.

Moreover, ovulation induction (McCorkell *et al.* 2007; dos Santos-Zanetti *et al.* 2010), semen collection and freezing (Fernández-Santos *et al.* 2006, 2009; Martínez-Pastor *et al.* 2009) and AI techniques (Garde *et al.* 2006; Morrow *et al.* 2009) have all been greatly improved for the family Cervidae exhibiting seasonal cycles, and are now widely accessible to most deer farmers. The success of any AI program is dependent on many factors, such as nutritional condition (Swihart *et al.* 1998; Cook *et al.* 2001) and differences in fertility between bucks (Malo *et al.* 2005), among many others. With the introduction of controlled internal drug release (CIDR; Macmillan and Peterson 1993), an effective oestrus synchronisation system was developed for cervids. CIDR prevents oestrus and ovulation from occurring during its administration, and a single injection of gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) at CIDR withdrawal induces release of LH, leading to ovulation of the dominant follicle (Lambe *et al.* 2010). This protocol allows fixed-time artificial insemination (FTAI) in does, because they are inseminated around the time of ovulation. The impact of components affecting AI success has not been thoroughly studied for white-tailed deer; therefore, the objective of this study was to determine the effect of year, weather conditions at AI time and buck on fawning rate of does induced to ovulate and subjected to FTAI. An additional objective was to assess the effect of various factors affecting litter size of does. Further aims of this study were to: (1) estimate the neonatal mortality rate in fawns in this white-tailed deer operation, (2) identify the major causes of perinatal mortality for fawns at the study site and (3) determine the relationship between these causes and sex of fawn, birthweight, weather conditions on day of birth and litter size.

Materials and methods

Experimental location

The study was conducted in a commercial hunting ranch located in the Chihuahuan desert (26840 N, 1018250 W) with an average of 1380m above sea level. The frost-free days in this area extend from March to November. The site is semiarid, receiving an average of 330mm of annual precipitation primarily from June to October (75% of total precipitation). Summer rainfall generally occurs as high-intensity, short-duration storms conducive to runoff, while winter precipitation is erratic, and occurs as low-intensity, longer-duration rain periods. Average maximum daily temperatures range from 28.8°C in January to 37.28°C in July. Average minimum daily temperatures range from 0.78°C in January to 12.38°C in July. In this rangeland abundant woody species include *Larrea tridentata* (DC.) Cov., *Flourensia cernua* DC and *Agave lechuguilla* Torr. Dominant grasses are *Bouteloua curtipendula* (Michx) Torr., *Bouteloua gracilis* (Willd. ex Kunt) Lag. ex Griffiths, *Buchloe dactyloides* (Nutt.) Engelm. and *Stipa clandestina* Hack. Common forb species include *Croton dioicos* Cav., *Sphaeralcea angustifolia* (Cav.) D. Don. and *Solanum elaeagnifolium* Cav. The ranch is grazed exclusively by deer with a population below the habitat's carrying capacity.

Deer management

The ranch has a population of around 170 white-tailed deer (*Odocoileus virginianus texanus*). Deer density was .1 animal per 7 ha, with multiple internal subdivisions to facilitate whitetailed deer management. Access from pastures to yards was through a raceway leading to the entrance of central holding pens. The ranch has a 3-m high woven-wire perimeter fence. Free water was distributed across the ranch through concrete troughs at a density of 0.5 permanent water sources

per km². Deer are offered supplemental feed year round (concentrate containing 14% crude protein) to ensure the highest growth rate. Feeding was to sustain stable populations as winter conditions fluctuate from mild to severe (native winter ranges are impacted or depleted to the point that they can no longer support desired numbers of animals without excessive land use conflicts). When the parturition period approached, inseminated does were penned in open corrals and received 250 g of pelleted concentrate (12% crude protein) plus 800 g oat hay per head per day. Newborn fawns were weighed on scales accurate to 0.1 kg and tagged. Death of fawns at the time or shortly after fawning was recorded. For technical reasons, it was not possible to weigh fawns regularly; thus, only birthweight was recorded. In the case of naturally-served does, prediction of parturition was not possible due to uncertainty of the time of breeding; thus, these animals were penned after fawning, and therefore fawns' birthweights were not registered in this group of offspring, because in many cases several days had elapsed after birth.

Artificial insemination

All procedures involving does were in compliance with Autonomous Agrarian University Antonio Narro Animal Care and Use Committee guidelines. On three consecutive years (2007–2009), the oestrus of 289 multiparous white-tailed deer does was synchronised applying a protocol commonly used for cervids (Asher *et al.* 1993), which consists of the insertion of an intravaginal progesterone device (CIDR, 0.3 g progesterone; Pfizer Animal Health, New York, NY, USA) for 14 days. An intramuscular (i.m.) injection of 200 IU equine chorionic gonadotropin (eCG, Folligon; Intervet, Mexico City, Mexico) was given the day the CIDR was removed. CIDRs were inserted and removed while does were restrained in a deer-handling chute. During the first year of the study, 20 does were intracervically inseminated, but none were inseminated by laparoscopy. During the next two years all does (122 for

2008 and 129 for 2009) were inseminated by laparoscopy. Eighteen out of the 289 synchronised does were not available for FTAI due to death of does (predation) or loss of the CIDR device. Some does were inseminated in more than 1 year. For transcervical insemination does were sedated with xylazine hydrochloride (Rompun; Bayer, Mexico City, Mexico) administered i.m. at 3 mg kg⁻¹. Transcervical inseminations were performed 60–3 h after CIDR withdrawal with does in a vertical position, rump upward (propped up with a hay bale under the abdomen), dilating the vagina with a non-spermicidal lubricated vaginal speculum with light source (25–175 mm for yearlings or 25–200 mm for adults). Frozen–thawed semen imported from the USA was deposited as far into the external os of the cervix as possible, using a standard French-style AI insemination gun to suit 0.25-mL straws (Nasco, Fort Atkinson, WI, USA). Semen from 29 different bucks from three different suppliers from the USA was used for both transcervical and laparoscopic inseminations. For laparoscopic insemination, does were fasted for 24 h before surgery. Anaesthesia was induced with a combination of ketamine hydrochloride (Ketalar, 2 mg kg⁻¹; Pfizer) and xylazine hydrochloride (Rompun, 0.8 mg kg⁻¹; Bayer) administered i.m. Prior to surgery and with does under anaesthesia, a Size 7 polyethylene catheter was inserted through the urethra (5 cm), and all urine was removed from the bladder. The catheter was secured in place against the pressure of micturition by holding it, by hand, by an experienced assistant. Does were restrained in dorsal recumbency in an inclined laparotomy cradle. One mL of 2% lidocaine hydrochloride (Phoenix Pharmaceutical, Inc., St Joseph, MO, USA) was administered subcutaneously at the cranial area of the udder. Surgical instruments were sterilised with a chlorhexidine diacetate solution (Nolvasan solution; Fort Dodge, Mexico City, Mexico) between does.

One-centimetre incisions through the skin were made over the sites of local anaesthesia. Two independent 7-mm laparoscopic trocar-cannula units were inserted through the ventral abdominal

wall and peritoneum. Carbon dioxide was insufflated through one of the cannula to distend the abdomen. The trocars were removed and a rigid endoscope was inserted through one cannula and the loaded insemination pipette through the other cannula. After locating the uterus with the endoscope, semen was inserted into each horn, 4 cm from the bifurcation, using half the total dose per horn (0.25-mL straw; semen thawed at 35°C for 30 s) by means of an insemination pipette (Aspic UA 091; IMV, L'Aigle, France). After instrument removal, puncture sites were sutured. All inseminations were carried out by the same individual. A sample of 0.1 mL of the thawed semen was taken from each straw, which was examined under the microscope at 39°C, in order to ensure an adequate percentage of cells showing progressive forward motility. After insemination, does were removed to a closed bedded pen in the building where they recovered from anaesthesia. Does were turned out with bucks (five does per adult buck; none used in the AI program) 30 days after insemination. No pregnancy determination was carried out because does were part of a planned release into fenced rangeland following AI. For all does, fawning dates were recorded and gestation periods were calculated. Successful AIs were determined on the basis of fawning dates and insemination dates. Meteorological data were obtained from a meteorological station located 3 km away from the ranch for the duration of the study. Information consisted of daily maximum temperatures and relative humidity. This information was used to calculate temperature–humidity index (THI) for each day, using the following equation (Mader *et al.* 2006). Ambient temperature refers to the highest daily temperature in degrees Celsius and RH is maximum relative humidity:

$$\text{THI} = (0.8 \times \text{ambient temperature}) + (\% \text{RH} / 100) \\ \times (\text{ambient temperature} - 14.4) + 46.4$$

Data and statistical analysis

Variables studied were fawning rate at FTAI, expressed as successful fawning of those does artificially inseminated, and overall fawning rate, expressed as the proportion of does fawning after FTAI and a subsequent period of buck exposure. Inseminations were regarded as successful if parturition took place between 194 and 207 days after AI. Other variables were litter size (defined as the number of fawns at birth; sum of alive and dead), litter weight (defined as the sum of the birthweights of the fawns born per doe) and offspring mortality rate, which was calculated as follows: $(\text{number of fawns that died during the first week of life})/(\text{number of fawns born alive}) \times 100$.

Data on fawning rate were analysed using the GENMOD procedure of SAS (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA) with the logit-link function, to account for the binary nature of the fawning rate as well as the repeated breeding records per doe and unbalanced data. A first-order autoregressive correlation structure was assumed among records within doe. Effects included in the model were the temperature–humidity

index (THI) at FTAI, THI three days after AI, buck and year of insemination. The initial model included interaction effects. Models for subsequent analyses were reduced by eliminating nonsignificant interactions ($P < 0.05$). Data on litter size were analysed using least-squares procedures (GLM procedure of SAS). To determine the factors involved in fawn mortality (three years combined), pregnancy length, sex, birthweight, THI on day of birth and litter size were included as independent variables in a Cox proportional-hazards model as implemented in the PHREG procedure in SAS. Deaths derived from predation and dystocia were excluded from this analysis. Pregnancy length was divided into two classes: lesser or greater than 196 days. Likewise, fawn birthweight was divided into two classes: lesser or greater than 3 kg. Classes for THI were lesser or greater than 74 units.

We acknowledge the limitations of our dataset (highly unbalanced data). We recognise that a greater number of observations for transcervical insemination would have improved the validity of our study. However, obtaining precise quantitative information and large numbers of white-tailed deer does for reproduction studies is costly and not always an option for conservation managers.

Results

Of the 289 does initially synchronised to ovulate, two failed to retain the CIDR device and were excluded from further study. Sixteen other does were removed because they died some weeks after AI, due mainly to predation by cougars; thus 271 services were included in the study. Fawning rates for methods of artificial insemination are presented in Table 1. There was no significant difference in fawning rate between does intracervically inseminated and those does inseminated with frozen-thawed semen by laparoscopy 60 h after progestagen withdrawal. Overall fawning rates (does fawning as a result of FTAI and a subsequent period of buck exposure) were not different for does induced to oestrus and ovulation for FTAI and non-treated does bred by natural mating.

Litter size of does induced to ovulate and transcervically inseminated did not differ compared with does subjected to laparoscopic intrauterine insemination, but does not subjected to the oestrus synchronisation protocol and bred by natural service had greater ($P < 0.05$) litter size than oestrus-induced does. Litter weight was not different ($P > 0.05$) when does were transcervically or laparoscopically inseminated after an induced ovulation.

There was no difference ($P > 0.05$) in fawning rate between does inseminated with high (<74) or moderate (>74) THI (Table 2). Likewise, there was no evidence of a detrimental effect of high THI three days after FTAI. Fawning rates (Table 2) were not different for the three years included in this study. Buck effect was an important source of variation for fawning rate, litter size and litter weight in

this study. Litter size was significantly lower when does were inseminated with high ambient temperature (THI >74) compared with moderate ambient temperature ($P<0.05$, Table 2).

Overall fawn neonatal mortality was 7.1%. Predation was the second-most important source of death (6 out of 23 deaths=26%) of all neonates, with cougars having the greatest impact. Dystocia accounted for 18% of fawn deaths, whereas deaths

Table 1. Fawning rate, litter size and litter weight in white-tailed does inseminated transcervically or by means of laparoscopy with frozen-thawed semen

^{ab}Means without a common superscript letter differ, $P<0.05$. AI, artificial insemination; FTAI, fixed-time artificial insemination

Breeding method	Fawning rate at FTAI (%) ^A	Overall fawning rate(%) ^{A,B}	Litter size ^C	Litter weight (kg) ^C
Transcervical AI	40.0(8/20)	89.5(17/19)	1.40±0.51 ^a	4.31±1.58
Laparoscopic AI	45.0(113/251)	80.9(203/251)	1.48±0.50 ^a	4.77±1.28
Natural mating	-	88.9(80/90)	1.65±0.48 ^b	-

^ANumbers in brackets are actual numbers of animals from which % was derived.

^BOverall fawning rate: proportion of all does fawning after fixed-time artificial insemination and a subsequent period of buck exposure.

^CValues are mean±s.e.m.

Table 2. Effect of temperature]humidity index (THI) at fixed-time artificial insemination (FTAI), THI 3 days after FTAI, year and buck on fawning rate, litter size and litter weight

^{ab}Means without a common superscript letter differ, $P < 0.05$

Variable	Fawning rate at FTAI (%) ^A	Litter size ^B	Litter weight (kg) ^B
THI at FTAI			
<74	49.2 (64/130)	1.54±0.5 ^a	5.03±1.3 ^a
>74	40.4 (57/141)	1.40±0.05 ^b	4.44±1.2 ^b
THI 3 days after FTAI			
<71	46.3(74/160)	1.52±0.5	4.86±1.25
>71	42.3(47/111)	1.42±0.5	4.58±1.34
Year			
2007	42.1(37/88)	1.36±0.49	4.15±1.13 ^a
2008	49.4 (44/89)	1.55±0.50	4.94±1.31 ^b
2009	42.6(10/94)	1.49±0.50	5.02±1.27 ^b
Buck (n=29) ^C	0-100	1-2	3.3-5.7

^ANumbers in brackets are actual numbers of animals from which percentagewas derived.

^BValues are mean±s.e.m.

^CFor bucks, all response variables differ, $P < 0.05$; values for this effect areranges.

resulting from unknown reasons were 56%. Pregnancy length (200_2.9 days), sex (males¼41%), birthweight, THI the day of birth and litter size did not affect neonatal mortality of fawns.

Discussion

In the present study two AI techniques were compared, with information from different years and different numbers of inseminations. We acknowledge that this is not an optimal experimental set-up. These limitations should be considered to placethese research findings in context, and to interpret the validity of the conclusions. However, obtaining precise quantitative information about the reproductive processes in white-tailed deer using FTAI is problematic, because it is difficult to work with large numbers of non-captive does for this kind of study.

Two does died during the process of intrauterine laparoscopic insemination, which indicates that does were subjected to severe handling and restraint stress and they apparently died of capture myopathy and trauma during handling (Montane´ *et al.* 2002). Fawning rate combining both artificial insemination methods was 44.6%, a figure very close to that found in other studies where FTAI has been used in cervids (Monfort *et al.* 1993; Willard *et al.* 1996; Aller *et al.* 2009). Also, similar fawning rates have been obtained in cervids with AI after detected oestrus (Bowers *et al.* 2004).

The present study demonstrated that similar fawning rates can be achieved in white-tailed deer after laparoscopic intrauterine insemination or transcervical insemination with frozen–thawed semen at a fixed interval from oestrus induced by a progesterone-impregnated CIDR device. The minor differences noted in fawning rate between the two AI methods in the present study suggest that the transvaginal approach to achieve passage through the cervix for intracervical semen deposition was effective to accumulate adequate numbers of spermatozoa in the cervix for acceptable fawning rates. With the same AI gun used in the present study, other researchers (Willard

et al. 2002) attained intrauterine inseminations most of the time in whitetailed does. This is not in line with our experience, as we rarely reached the uterus with the insemination gun.

Higher fawning rates (between 60 and 80%) have been observed either with laparoscopic intrauterine AI in fallow (Asher *et al.* 1990) and sika deer (Willard *et al.* 1996), or with transcervical AI with an oestrus synchronisation treatment and frozen–thawed semen in farmed red deer (McMillan and Asher 2007) or when inseminations were conducted in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) after oestrus detection (Jacobson *et al.* 1989; Magyar *et al.* 1989).

The lower fawning rates in the present study compared with other studies probably resulted from the use of semen of lower quality (the production of frozen deer semen is currently unregulated and unstandardised). Furthermore, higher pregnancy rate in farmed cervid species in other studies could be due to the tamer nature of these animals, which did not exhibit the degree of handling stress expressed by white-tailed deer. Additionally, there are other variables affecting the AI process, such as season of semen collection (the best semen is from bucks during peak of rut), doe handling, individual animal's stress tolerance, diet and environment, among others, which explain the great differences in rates of success when using AI in cervids.

Since in the present study differences in fawning rates were negligible between AI techniques, it seems that a transvaginal approach would be advantageous for use in white-tailed deer because it is easier, faster, more cost effective and less invasive than laparoscopic AI. Moreover, there are very few highly- trained personnel in laparoscopic AI techniques in Mexico.

Since does recover uneventfully after laparoscopic surgery, it was not a surprise to find a high fawning rate in those does that failed to become pregnant when inseminated by laparoscopy,

and were subsequently bred by natural mating on rangeland. Thus, application of an AI program based on laparoscopic procedures followed by exposure of does to bucks on rangeland results in an overall fawning rate comparable to that obtained with natural mating alone.

Does fawning to natural mating had higher litter size than does that were artificially inseminated. There is no ready explanation for a critical factor that limited the number of fawns per doe fawned, but the results suggest that the oestrus synchronization protocol used in the present study probably affected follicle development, oocyte maturation, ovulation rate or early embryo development. The values for litter size found in the present study in the artificially-inseminated does is similar to that observed by other researchers (Jacobson *et al.* 1989; Lambe *et al.* 2010), but higher than that found in other studies (Magyar *et al.* 1989) in artificially-inseminated captive white-tailed deer.

On the other hand, litter size of does bred by natural mating was similar to values reported by other authors (Jones *et al.* 2010) in wild populations of white-tailed deer in Mississippi. THI at FTAI time or three days after AI did not influence fawning rates. However, cooler ambient conditions at FTAI (ITH <74) did improve litter size and litter weight. Other researchers have documented the detrimental effect of high ambient temperature during the reproductive period on litter size in goats (Chemineau 1993; Mellado and Meza-Herrera 2002) and sheep (Hopkins *et al.* 1980). For the 29 bucks used in the study, there was a clear difference in the fawning rate for these animals. The highly-significant individual buck differences in fawning rate is not new, because it has been demonstrated that individual bucks markedly affected fawning rates (Mylrea *et al.* 1991).

No influence of ambient temperature and humidity at fawning on fawn mortality was apparent, and contrary to our predictions, mortality of fawns was not associated with smaller body size at birth. Moreover, neither pregnancy length nor sex affected mortality rate of fawns. The lack of significance of variables studied may be explained by the small number of fawn deaths (10 out of 323 fawns,

excluding 13 fawns killed by cougars) in the present study. The overall deaths by complications of dystocia were very close to the 1.1% found in Canadian and American white-tailed deer farms (Haigh *et al.* 2005).

In conclusion, these results indicate that fixed-time transcervical insemination of frozen–thawed semen may be as effective as fixed-time intrauterine insemination by laparoscopy 60 h after CIDR removal and eCG injection in white-tailed deer. Results also indicate that both transcervical and laparoscopic insemination techniques have no effect on fawning rate when does are naturally mated following the AI procedures. Furthermore, pregnancy length, sex, birthweight, THI the day of birth and litter size were not important factors affecting neonatal mortality of fawns.

Acknowledgements

The authors gratefully thank Ing. Rosendo Valde´z for providing the animals and facilities to carry out this study. The authors also thank the staff of the ranch Los Pirules, Coahuila, Mexico, for routine animal handling and care.

References

- Aller, J. F., Fernandez, O., and Sanchez, E. (2009). Fixed-time artificial insemination in red deer (*Cervus elaphus*) in Argentina. *Anim. Reprod. Sci.* **115**, 312–316.
doi:10.1016/J.ANIREPROSCI.2008.11.018
- Asher, G. W., Kraemer, D. C., Magyar, S. J., Brunner, M., Moerbe, R., and Giaquinto, M. (1990). Intrauterine insemination of farmed fallow deer (*Dama dama*) with frozen–thawed semen via laparoscopy. *Theriogenology* **34**, 569–577. doi:10.1016/0093-691X(90)90012-I
- Asher, G. W., Fisherb, M. W., Fennessyb, P. F., Mackintoshb, C. G., Jabboura, H. N., and Morrow, C. J. (1993). Oestrus synchronization, semen collection and artificial insemination of farmed red deer (*Cervuselaphus*) and fallow deer (*Dama dama*). *Anim. Reprod. Sci.* **33**, 241–265.
doi:10.1016/0378-4320(93)90118-B
- Bowers, S. D., Brown, C. G., Strauch, T. A., Gandy, B. S., Neuendorff, D. A., Randel, R. D., and Willard, S. T. (2004). Artificial insemination following observational versus electronic methods of oestrus detection in red deer does (*Cervus elaphus*). *Theriogenology* **62**, 652–663.
doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2003.11.019
- Chemineau, P. (1993). Environment and animal reproduction. *World Anim. Rev.* **77**, 2–14. Cook, R. C., Murray, D. L.,
- Cook, J. G., Zager, P., and Monfort, S. L. (2001). Nutritional influences on breeding dynamics in elk. *Can. J. Zool.* **79**, 845–853. doi:10.1139/Z01-050
- dos Santos-Zanetti, E., Furlan-Polegato, B., and Barbanti-Duarte, J. M. (2010). Comparison of two methods of synchronization of oestrus in brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*). *Anim. Reprod. Sci.* **117**, 266–274. doi:10.1016/J.ANIREPROSCI.2009.05.010
- Fernandez-Santos, M. R., Estes, M. C., Montoro, V., Soler, A. J., and Garde, J. J. (2006).

Cryopreservation of Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) epididymal spermatozoa: effects of egg yolk, glycerol and cooling rate. *Theriogenology* **66**, 1931–1942. doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2006.05.012

Fernández-Santos, M. R., Martínez-Pastor, F., Matias, D., Domínguez- Rebolledo, A. E., Estesó, M. C., Montoro, V., and Garde, J. J. (2009). Effects of long-term chilled storage of red deer epididymides on DNA integrity and motility of thawed spermatozoa. *Anim. Reprod. Sci.* **111**, 93–104. doi:10.1016/J.ANIREPROSCI.2008.02.001

Garde, J. J., Martínez-Pastor, F., Gomendio, M., Malo, A. F., Soler, A. J., Fernandez-Santos, M. R., Estesó, M. C., García, A. J., Anel, L., and Roldán, E. R. (2006). The application of reproductive technologies to natural populations of red deer. *Reprod. Domest. Anim.* **41**(Suppl 2), 93–102. doi:10.1111/J.1439-0531.2006.00773.X

Haigh, J., Berezowski, J., and Woodbury, M. R. (2005). A cross-sectional study of reproductive indices and fawn mortality in farmed white-tailed deer. *Can. Vet. J.* **46**, 413–416.

Hopkins, P. S., Nolan, C. J., and Pepper, P. M. (1980). The effects of heat stress on the development of the foetal lamb. *Aust. J. Agric. Res.* **31**, 763–771. doi:10.1071/AR9800763

Jacobson, H. A., Bearden, H. J., and Whitehouse, D. B. (1989). Artificial insemination trials with white-tailed deer. *J. Wildl. Manage.* **53**, 224–227. doi:10.2307/3801338

Jones, P. D., Strickland, B. K., Demarais, S., and Blaylock, A. C. (2010). Reproductive characteristics of white-tailed deer in Mississippi. *Southeast. Nat.* **9**, 803–812. doi:10.1656/058.009.0414

Lambe, J., Forbes, W., Olcott, B. M., Sanders, D. E., Godke, R. A., and Gentry, G. T. (2010). Effect of GnRH on fixed-timed artificial insemination pregnancy rates of white-tailed deer. *Reprod. Fertil. Dev.* **22**, 170. doi:10.1071/RDV22N1AB24

- Macmillan, K. L., and Peterson, A. J. (1993). A new intravaginal progesterone-releasing device for cattle (CIDR-B) for oestrus synchronization, increasing pregnancy rates and the treatment of post-partum anoestrus. *Anim. Reprod. Sci.* **33**, 1–25. doi:10.1016/0378-4320(93) 90104-Y
- Mader, T. L., Davis, M. S., and Brown-Brandl, T. (2006). Environmental factors influencing heat stress in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* **84**, 712–719. doi:10.3168/JDS.S0022-0302(85)81118-8
- Magyar, S. J., Biediger, T., Hodges, C., Kraemer, D. C., and Seager, S. W. J. (1989). A method of artificial insemination in captive white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Theriogenology* **31**, 1075–1079. doi:10.1016/ 0093-691X(89)90491-3
- Malo, A. F., Garde, J. J., Soler, A. J., Garcí'a, A. J., Gomendio, M., and Roldan, E. R. S. (2005). Male fertility in natural populations of red deer is determined by sperm velocity and the proportion of normal spermatozoa. *Biol. Reprod.* **72**, 822–829. doi:10.1095/BIOLREPROD.104.036368
- Martínez-Pastor, F., Martínez, F.,Álvarez, M., Maroto-Morales, A., García- Alvarez, O., Soler, A. J., Garde, J. J., de Paz, P., and Anel, L. (2009). Cryopreservation of Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) spermatozoa obtained by electroejaculation. *Theriogenology* **71**, 628–638. doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2008.09.033
- McCorkell, R. B., Woodbury, M. R., and Adams, G. P. (2007). Evaluation of an ovarian synchronization scheme for fixed-time artificial insemination in wapiti. *Theriogenology* **67**, 1217–1223. doi:10.1016/J.THERIOGEN OLOGY.2007.01.006
- McMillan, W. H., and Asher, G. W. (2007). Development of large-scale commercial AI for genetic improvement in farmed red deer in New Zealand. *Proc. N.Z. Soc. Anim. Prod.* **67**, 82–90.
- Mellado, M., and Meza-Herrera, C. A. (2002). Influence of season and environment on fertility of goats in a hot–arid environment. *J. Agric. Sci.* **138**, 97–102. doi:10.1017/S0021859601001630

- Monfort, S. L., Asher, G. W., Wildt, D. E., Wood, T. C., Schiewe, M. C., Williamson, L. R., Bush, M., and Rall, W. F. (1993). Successful intrauterine insemination of Eld's deer (*Cervus eldi thamin*) with frozen–thawed spermatozoa. *J. Reprod. Fertil.* **99**, 459–465. doi:10.1530/JRF.0.0990459
- Montane´, J., Marco, I., Manteca, X., Lo´pez, J., and Lavi´n, S. (2002). Delayed acute capture myopathy in three roe deer. *J. Vet. Med. Series A – Physiol. Pathol. Clin. Med.* **49**, 93–98. doi:10.1046/J.1439-0442.2002.JV409.X
- Morrow, C. J., Penfold, L. M., and Wolfe, B. A. (2009). Artificial insemination in deer and non-domestic bovids. *Theriogenology* **71**, 149–165. doi:10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2008.09.001
- Mylrea, G., Evans, G., and English, A. (1991). Conception rates in European fallow does (*Dama dama dama*) following intrauterine insemination with frozen–thawed semen from Mesopotamian fallow (*Dama damamesopotamica*) and crossbred (*Dama dama dama x Dama dama mesopotamica*) bucks. *Aust. Vet. J.* **68**, 294–295. doi:10.1111/J.1751-0813.1991.TB03258.X
- Swihart, R. K., Weeks, H. P., Jr., Easter-Pilcher, A. L., and DeNicola, A. J. (1998). Nutritional condition and fertility of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) from areas with contrasting histories of hunting. *Can. J.Zool.* **76**, 1932–1941.
- Wildt, D. E. (1989). Reproductive research in conservation biology: priorities and avenues for support. *J. Zoo Wildl. Med.* **20**, 391–395.
- Willard, S. T., Hughes, D. M., Jr., Bringans, M., Sasser, R. G., White, D. R., Jaques, J. T., Godfrey, R. W., Welsh, T. H., Jr., and Randel, R. D. (1996). Artificial insemination, hybridization and pregnancy detection in sika deer (*Cervus nippon*). *Theriogenology* **46**, 779–789. doi:10.1016/S0093-691X(96)00236-1

Willard, S. T., Neuendorff, D. A., Lewis, A. W., and Randel, R. D. (2002). A comparison of transvaginal artificial insemination procedures for use in commercially-farmed deer. *Small Rumin. Res.* **44**, 135–140. doi:10.1016/S0921- 4488(02)00048-2