

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



UTILIZACION DE ACETATO DE FLUOROGESTONA
IMPREGNADO EN ESPONJAS INTRAVAGINALES E
IMPLANTES SUBCUTANEOS USADOS DE SC 21009
PARA LA SINCRONIZACION DEL ESTRO EN BO-
RREGAS ROMNEY MARSH.

TESIS

Que para obtener el Titulo de
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
Presenta:

LUIS FERNANDO PEÑA TORRES

8085

Mexico, D.F. 1978



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

I.- INTRODUCCION.....	1
II.- MATERIAL Y METODOS.....	6
III.- RESULTADOS Y DISCUSION...	9
IV.- CONCLUSIONES.....	22
V.- APENDICES.....	23
VI.- BIBLIOGRAFIA.....	33

A MIS PADRES:

EMILIO PEÑA RIVERA
MERCEDES TORRES DE PEÑA

CON AMOR, ADMIRACION Y RESPETO,
QUE SIENTO POR ELLOS.

A MI ESPOSA:

YOLANDA CRISTINA SERNA DE PEÑA

CON SINCERO Y GRANDE AMOR.

A MI HIJA:

YURITZEL PEÑA SERNA

CON GRAN AMOR DE PADRE.

A MIS HERMANOS:

IRMA GRACIELA
MA. ANTONIETA
JOSE EMILIO
FCO. JAVIER
ENRIQUE EDUARDO
MA. MERCEDES

A QUIENES QUIERO ENTRAÑABLEMENTE, POR TENER SU CARÍO
COMO UNA POSESION REAL EN ESTA VIDA.

A MIS ABUELOS:

ENRIQUE Y HELIODORA
PABLO Y MERCEDES

CON AMOR Y RESPETO.

A MIS ASESORES:

M.V.Z., M.S. ROBERTO RUIZ DIAZ
M.V.Z., M.S. MANUEL VILLARREAL Y PUGA

QUIENES CON SU AYUDA Y ORIENTACION, HICIERON
POSIBLE LA REALIZACION DE ESTA TESIS.

A MI JURADO:

M.V.Z. ARMANDO ANTILLON RIONDA
M.V.Z. J. MANUEL BERRUECOS VILLALOBO
M.V.Z. JOSE DE LA PUENTE
M.V.Z. JORGE TOLOSA SANCHEZ
M.V.Z. LAURA MARTINEZ FIGUEROA

I N T R O D U C C I O N

Entre los animales domésticos que el hombre explota, destaca la especie ovina (Ovis aries) que posee aptitudes para producir lana y carne principalmente, así como, leche y pieles' en forma secundaria. A pesar de esto la ganadería ovina no ha recibido la atención que merece en base a su potencial de producción.

En nuestro país las explotaciones de ganado ovino no tienen' empadres controlados; por lo general los sementales y hembras conviven en los mismos potreros durante períodos prolongados sin que se haga una selección previa de los machos. Lo anterior, aunado a otras prácticas de manejo inadecuadas hace -- que en los hatos ovinos la eficiencia reproductiva sea pobre. Para lograr superar esta situación se cuenta con diversos métodos de manejo entre los cuales se menciona la Inseminación Artificial (I.A.) la cual ha sido empleada con buenos resultados en ganado bovino.

En los ovinos la I.A. tiene especial importancia porque, al' igual que en los bovinos, con dicha técnica se lograría un -- mejoramiento genético rápido de la especie y se evitarían -- los cruzamientos indeseables y la consanguinidad.

Mediante la I.A. se pueden utilizar de una manera racional, - sementales que hayan sido seleccionados por sus características productivas y que se sabe de antemano, van a ser capaces de mejorar un hato determinado.

Una de las principales limitantes para establecer un programa de I.A. es la detección de celos y lo prolongado de los - períodos de empadres. La utilización de sincronizadores del' estro, facilitaría programar los períodos de cubrición y simplificaría la detección de calores ya que esto solamente tendría que hacerse en un lapso no mayor de tres días (Robinson 1971).

A partir de los primeros intentos para sincronizar los celos en bovinos y ovinos, utilizando inyecciones de progesterona, (Christian y Casida, 1948; Dutt y Casida, 1948; Ulberg y Lindley, 1960) se han realizado numerosos trabajos al respecto. Así vemos que Pincus y Merrill (1961) pioneros en esta área, encontraron que los progestágenos mas potentes, eran aque-

llos en los que se cambia el radical del carbón 17. Entre dichos compuestos podemos mencionar el 6 alfa metil 17 acetoxi' progesterona (A.M.P.). En base a los resultados obtenidos por los autores arriba citados, varios investigadores utilizaron' el A.M.P., mezclado con el alimento, para controlar el ciclo' estral en las ovejas (Brunner, Hansel y Hogue, 1964; Hogue, - Hansel y Bratton, 1962; Southcotl, Braden y Maule, 1962).

Posteriormente Brunner, Hansel y Hogue (1964) usaron el A.M.' P. en combinación con suero de yegua preñada (S.Y.P.) logran- do sincronizar al 75% de las ovejas tratadas.

Otros autores, mediante el uso de implantes' del progestágeno S ll estrus, combinado con S.Y.P. lograron sincronizar el 98% - de las borregas tratadas y obtuvieron un 97% de concepción - utilizando I.A. (Bratanov, et al., 1972). En otro estudio, - Xenoulis, Minotakis y Tsamis (1972) al emplear los implantes' arriba mencionados, sincronizaron al 80% de las borregas tra- tadas y obtuvieron un 65% de concepción al primer servicio.

Falkenberg, Hulet y Kaltenbach (1971) trabajando con borregas, obtuvieron un 85% de sincronización después de utilizar im--- plantes subcutáneos de silicón que contenían 375 mg de proges- terona en combinación con 17 beta estradiol y S.Y.P. Los im---

plantes subcutáneos que contienen el progestágeno 19 alfa acetoxi-11 beta metil 19 nor preg 4 ene 3, 2 diona (SC 21009) -- funcionan como sincronizadores del estro y de la ovulación en ganado bovino, (Hernández y González, 1975; Paredes, 1975; Pérez, Rodríguez y González, 1975). Otros investigadores (González, Ruíz y Wiltbank, 1975), al utilizar dichos implantes, lograron inducir y sincronizar el celo en vaquillas prepúberes sin afectar adversamente la fertilidad. En este trabajo, en un lapso de 48 días quedó gestante el 73% del hato de animales tratados y sólo el 27% del lote testigo.

Wiltbank (1976) encontró que el implante del SC 21009, que inicialmente contiene 6 mg de la droga, tiene después de su empleo una dosis residual de 3 mg del progestágeno. Por ello algunos autores (Taboada, De los Santos y Ruíz, 1976^a; Taboada, De los Santos y Ruíz, 1976^b) pensaron que estos implantes podrían ser usados dos veces para la sincronización del celo en bovinos.

Hernández (1977) al trabajar con borregas Rambouillet y con implantes subcutáneos impregnados del progestágeno SC 21009, que ya habían sido utilizados 2 veces en vacas, encontró el 65% de los animales entraron en calor en las primeras 72 ho--

ras de retirados de los implantes y que el 55% de las hembras inseminadas no repitieron celo.

En otros trabajos realizados en Grecia (Vlachos, 1961 y 1963) tanto en ovejas como en cabras, se obtuvieron resultados promisorios en la sincronización de estros mediante el uso de esponjas intravaginales impregnadas del progestágeno acetato de fluorogestrona. En dicho experimento se logró inducir y sincronizar el celo al 80% de los animales en un período de 72 - horas, de los cuales el 75% quedó gestante.

En estudios realizados posteriormente, con esponjas intravaginales se obtuvieron buenos porcentajes de sincronización, sin embargo, la eficiencia reproductiva fue pobre (Robinson, 1965; Robinson y Lamond, 1966).

Hernández (1977) empleando esponjas intravaginales impregnadas de A.F.G., sincronizó al 85% de las borregas tratadas en un período de 72 horas, y con un porcentaje de fertilidad de 80%.

Por lo anteriormente citado el objetivo del presente trabajo es el de evaluar las esponjas de fluorogestrona y los implantes usados de SC 21009 como sincronizadores del celo en borregas australianas de la raza Romney Marsh.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó en los Centros Experimentales Pecuarios y Desarrollo Ganadero localizados en Ajuchitlán, Qro., pertenecientes a la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (S.A.R.H.).

El estudio se inició el 15 de febrero de 1976 y se utilizaron un total de 90 borregas de la raza Romney Marsh, las cuales se distribuyeron al azar en los siguientes grupos: I compuesto por 35 borregas a las cuales se les colocó subcutáneamente en el pabellón auricular un implante, usado una vez, del progestágeno SC 21009. El grupo II formado por 35 hembras a las que se les colocó una esponja intravaginal impregnada de A.F. G. El lote III fue el testigo con 20 animales que no recibieron tratamiento alguno.

Hubo una fase previa de 15 días en la cual las borregas fueron observadas para la detección de calores. Los implantes y las esponjas fueron extraídos después de 14 días. Una vez retirados los implantes y las esponjas, la detección de celos se hizo a intervalos de 6 horas durante los 7 primeros días del período de I.A.. Posteriormente la observación de los ani

males se realizó cada 12 horas por 21 días más.

El hato se mantuvo en corrales con el mismo sistema de manejo y alimentación. El servicio se hizo mediante I.A. a las 12 y 24 horas después de que las borregas se detectaron en calor, utilizando la técnica descrita por Entwistle y Martin (1972). Las pipetas que se usaron son similares a las empleadas en la I.A. en los bovinos, las cuales fueron recortadas por la mitad. También se usaron jeringas insulínicas, las que permitieron medir con exactitud el volumen del semen que se utilizó en la I.A.

Para la obtención del semen se utilizaron vaginas artificiales armadas según el modelo de Cornell (Mc Donald, 1973) y se trabajaron 10 borregos de la raza Romney Marsh (apéndice I y II). Después de coleccionar el semen se determinó el volumen obtenido y se hizo una primodilución semen: diluyente de 1:5 respectivamente, utilizándose (apéndice III) el diluyente descrito por Negreire (1973). Una vez realizada la primodilución se determinó la motilidad y la concentración espermática (apéndice IV). La concentración y volumen utilizados para efectuar la I.A. fueron de 20×10^6 y de 0.2 ml respectivamente (Hafez, 1974). Para la determinación de la concentración -

espermática se utilizó el colorante rosa de bengala (apéndice V).

Los valores obtenidos fueron analizados utilizando la Chi cuadrada, según las indicaciones de Snedecor y Cochran (1973).

RESULTADOS Y DISCUSION

En el grupo de las borregas que se implantaron con el progestágeno SC 21009, se observó (Gráfica 1) que el 80% de los animales mostraron celo durante los primeros tres días después de retirados los implantes. Dicho valor es superior al obtenido por Hernández (1977) al emplear el SC 21009 en borregas - Rambouillet y al 63% de sincronización observada por Falkenberg, Hulet y Kaltenbach (1971) quienes utilizaron implantes' impregnados de 375 mg de progesterona cristalizada.

En el lote de borregas a las que se les colocaron las esponjas intravaginales de A.F.G., hubo una incidencia de calores' de 71.4% (Gráfica 2) los cuales se presentaron tres días después de que dichas esponjas se retiraron. Este porcentaje es' ligeramente inferior a lo encontrado en otros estudios con A. F.G. (Robinson, 1971; Holst y Moore, 1970; Hernández, 1977) - en los cuales se han obtenido hasta un 85% de sincronización. Deweese, Glimp y Dutt (1970), al emplear esponjas intravaginales con 40 y 60 mg de M.A.P. obtuvieron un 100 y 95% de presentación de estros respectivamente, en un período de 5 días. Cabe mencionar que dichos autores concluyeron que la utiliza-

ción de esponjas intravaginales impregnadas con el progestágeno no son tan efectivas como utilizar el progestágeno en el alimento.

Es interesante mencionar que en los lotes I y II no hubo presentación de celos después del período de 0 - 3 días.

Ello quizá se deba a que el presente trabajo se realizó al -- inicio de la época en que las borregas comenzaban a presentar el anestro estacional; lo cual también pudo ocasionar la baja incidencia de calores en la fase previa a la detección de estros. Por lo anterior se podría pensar que los tratamientos a base de los implantes y de las esponjas vaginales sirvieron -- para inducir y sincronizar el celo en los animales tratados.

También existe la posibilidad de que aquellos animales que no presentaron calor después del tratamiento hayan tenido estros silenciosos, fenómeno que ya ha sido mencionado por varios autores (Grant, 1933; Cole y Miller, 1935; Roux, 1936; Schinckel, 1954; Robinson, 1971).

En el grupo de las borregas testigo el 45% presentó celo durante los tres primeros días del período de I.A. Durante los 30 días de la época de cubrición en este lote se detectó un -- 90% de borregas en calor. Sin embargo se observa (Grafica 3) '

que los estros se presentaron en forma uniforme durante los cincuenta y cuatro días en que los animales fueron observados para la detección de celos. A diferencia de los lotes tratados, en el testigo las borregas siguieron presentando calor durante el período de I.A.; quizás esta presentación irregular de estros en los tres lotes experimentales, se deba a que los animales todavía no se encontraban adaptados a nuestro medio, ya que cuando se realizó el presente trabajo las borregas sólo tenían 60 días de haber llegado a nuestro país. El hecho de que las hembras utilizadas eran primíparas también pudo ser determinante, para que se presentara el fenómeno arriba mencionado, ya que es bien sabido que cuando estos animales comienzan a ciclar es muy frecuente detectar ciclos estrales irregulares (Roberts, 1971).

En el Cuadro 1, se puede observar que la mejor presentación de calores para el período de 0 - 3 días correspondió al lote implantado. No se encontró diferencia ($P < 0.05$) entre éste y el grupo de animales en los que se utilizaron las esponjas intravaginales; sin embargo en estos dos grupos los porcentajes de estros para el período de 0-3 días fueron significativamente mayores que los del grupo testigo.

Para el período de 0-30 días los porcentajes de celos fueron' de 80%, 71.42% y 90% para los lotes de implantes, esponjas y' testigo respectivamente, sin que estos valores fueran dife-- rentes estadísticamente ($P < 0.05$).

Por lo anterior podemos decir que la sincronización obtenida' para los tratamientos utilizados fue buena y que estos podrí-- an servir para hacer práctica la I.A. en las borregas. En el cuadro 2 se observan los intervalos en horas, del final del - tratamiento-inicio del celo y final del tratamiento-primer -- servicio. Se puede observar que en el lote tratado con espon-- jas, dichos intervalos fueron mas cortos que en los de las bo-- rregas implantadas, siendo esta diferencia altamente signifi-- cativa ($P < 0.01$).

En el presente experimento el intervalo entre el retiro de - los progestágenos y la aparición del celo fue menor a la ob-- servada por Hernández (1977). No se encontró explicación ade-- cuada para este fenómeno, ya que las esponjas utilizadas en - los dos estudios eran del mismo lote; en el caso de los im-- plantes, los del presente trabajo sólo se habían empleado una' vez, mientras que los del experimento de Hernández (1977) ya habían sido utilizados dos veces, por lo que en este caso la'

cantidad residual del progestágeno supuestamente era menor. Debido a lo antes mencionado era lógico esperar que en el trabajo de Hernández (1977) el intervalo fin del tratamiento-primer calor fuera mas corto. Cabe mencionar que Robinson (1971) también obtuvo diferencias en los mencionados intervalos al trabajar con borregas de una sola raza y con esponjas de A.F.G.

En el cuadro 3 se puede observar que los porcentajes de fertilidad fueron relativamente bajos y que no hubo diferencias en los tres lotes experimentales. O sea, que aparentemente los tratamientos no afectan la fertilidad. Esto difiere de lo encontrado en los primeros trabajos de sincronización en borregas en donde los porcentajes de concepción al primer servicio eran bajos después de un tratamiento con progestágenos (Foote y Matthews, 1962; Brunner, Hansel y Hogue, 1964).

La fertilidad obtenida en los tres lotes, fue similar a la mencionada por Holts y Moore (1970) quienes obtuvieron un 49.1% de concepción cuando utilizaron esponjas de A.F.G. También es interesante hacer notar que en el caso de los lotes sincronizados los animales se cargaron en un período de tres días. La baja fertilidad que se obtuvo se puede deber a que la eficiencia reproductiva de las borregas disminuye considerablemente al fi

nal del invierno e inicios de la primavera. O sea, al final de la época de apareamiento, que fue cuando se realizó el presente trabajo. Así vemos que Robinson (1971) obtuvo porcentajes de fertilidad del 70.5% en el otoño contra 13.6% en la primavera en borregas que habían sido sincronizadas con esponjas intravaginales, similares a las utilizadas en este trabajo.

Los porcentajes de concepción fueron inferiores a lo encontrado por Hernández (1977) quien, al trabajar con borregas Rambouillet, obtuvo un 80 y 55% de fertilidad en lotes tratados con esponjas e implantes respectivamente. La diferencia tal vez se deba a que el estudio de Hernández (1977) se realizó en el otoño y con ovejas que habían nacido en el área de Ajuchitlán, Qro. O sea, que ya se encontraban perfectamente adaptadas a la zona.

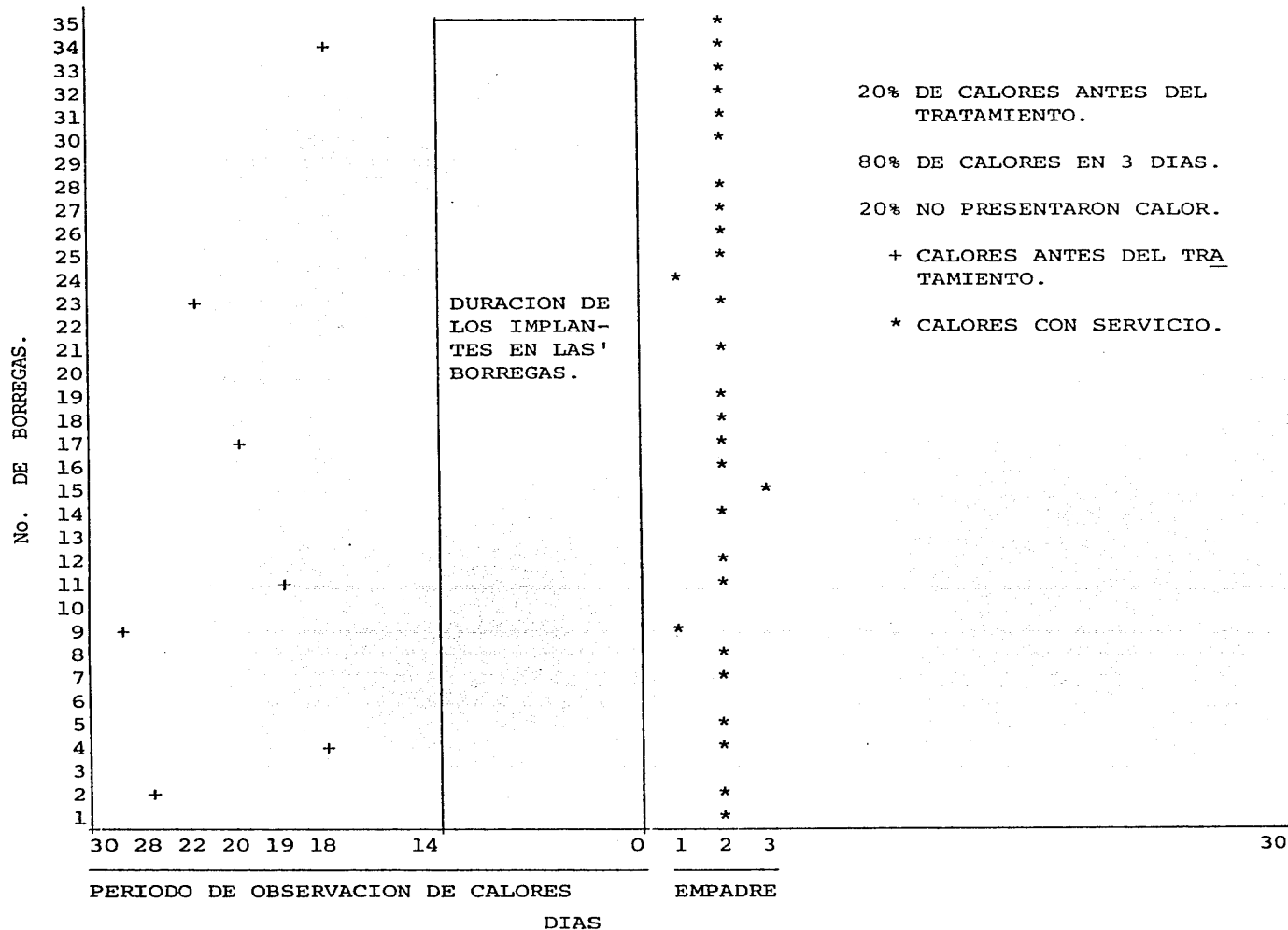
Después de dos años de tener información de las borregas Romney Marsh, de Ajuchitlán, Qro., podemos decir que estos animales han mostrado tener ciclos estrales estacionales bien definidos. Esto es diferente a lo que habíamos observado en ovejas Rambouillet las cuales ciclan, en nuestra estación experimental, durante el otoño, invierno y primavera. Lo anterior -

concuerta con lo mencionado por Hafez (1974) en el sentido de que las borregas Rambouillet ciclan por períodos mas prolongados que las Romney Marsh. Por todo lo anterior y lo encontrado en el presente estudio se puede decir, que la época en que se realizó el presente estudio no es la mas adecuada para empadrear ovejas de la raza Romney Marsh. Quizás si nuestro experimento se hubiese realizado en el otoño los porcentajes de fertilidad obtenidos hubieran sido adecuados.

Por otro lado tal vez, la baja fertilidad obtenida en los tres lotes experimentales, se puede deber a que se empleó semen fresco diluído, el cual ya es sabido sólo es viable de 18 a 24 horas (Hafez, 1974). Probablemente cuando se tenga una técnica adecuada para la congelación y preservación del semen de borrego, los índices de concepción sean superiores a los obtenidos en este trabajo y se puedan establecer programas intensivos de sincronización y de I.A.

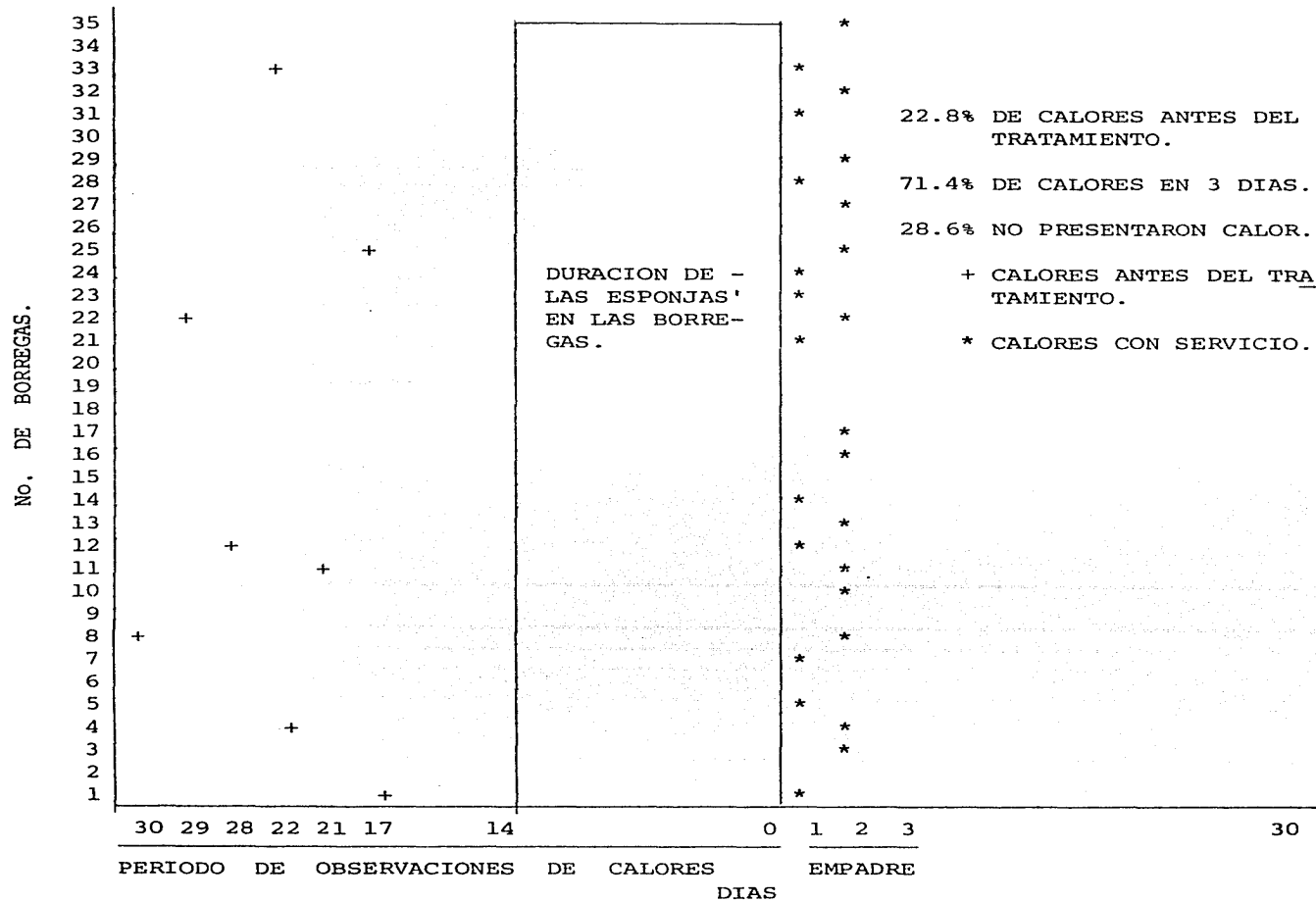
GRAFICA 1

DISTRIBUCION DE CALORES Y PORCENTAJES DE NO RETORNO AL ESTRO.
(GRUPO DE IMPLANTES)



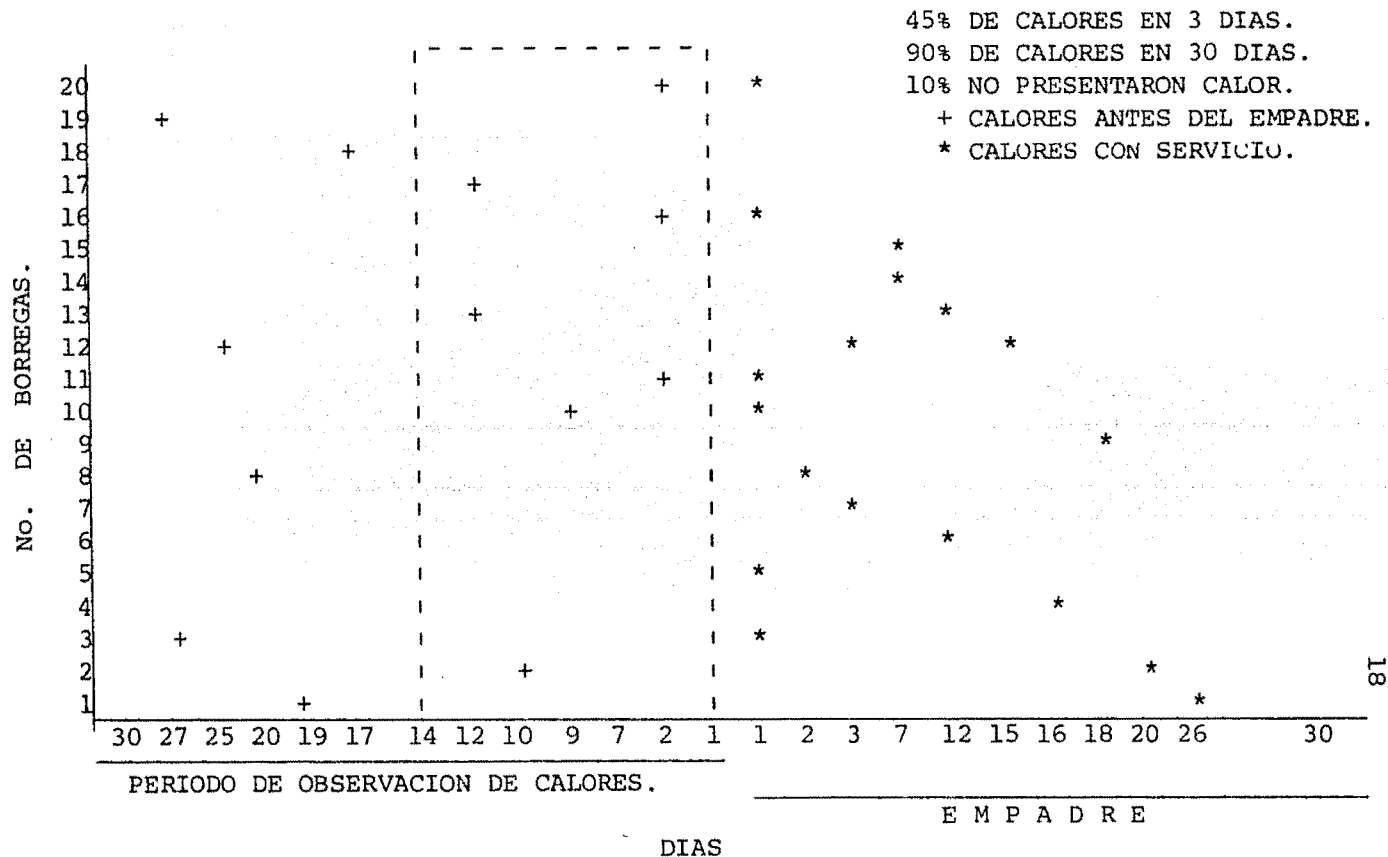
GRAFICA 2

DISTRIBUCION DE CALORES Y PORCÉNTAJES DE NO RETORNO AL ESTRO.
(GRUPO DE ESPONJAS)



GRAFICA 3

DISTRIBUCION DE CALORES Y PORCENTAJES DE NO RETORNO AL ESTRO.
(GRUPO TESTIGO)



CUADRO 1

PORCENTAJE DE PRESENTACION DE CALORES
DESPUES DE RETIRADOS LOS IMPLANTES Y'
ESPONJAS.

PERIODO (días)	TRATAMIENTOS		
	IMPLANTES (35)	ESPONJAS (35)	TESTIGO (20)
0-1	5.71 ^a	31.43 ^b	30.00 ^b
0-2	77.14 ^a	71.42 ^a	35.00 ^b
0-3	80.00 ^a	71.42 ^a	45.00 ^b
0-30	80.00 ^a	71.42 ^a	90.00 ^a

Entre paréntesis número de animales.

a,b Cifras en la misma línea con diferente literal
difieren ($P < 0.05$).

CUADRO 2

INTERVALOS EN HORAS TRANSCURRIDOS DESDE
EL RETIRO DE LOS IMPLANTES AL INICIO -
DEL CELO Y PRIMER SERVICIO.

GRUPOS	INICIO DEL CELO	PRIMER SERVICIO
Implantes	24:79 ^a ₊ 12.22	36:79 ^a ₊ 12.22
Esponjas	17:22 ^b ₊ 4.27	29:07 ^b ₊ 4.23

a,b Cifras en la misma columna con diferente literal difieren ($P < .01$).

₊ Desviación estandard.

CUADRO 3

PORCENTAJE DE FERTILIDAD EN LAS BORREGAS
EXPUESTAS.¹⁾

	IMPLANTES	ESPONJAS	TESTIGO ²⁾
No de borregas	35	35	20
No de borregas paridas	14	16	11
Porcentaje de fertilidad	40 ns	45.7 ns	55 ns

1) En todos los casos se utilizó inseminación artificial.

2) Treinta días de empadre.

ns No significativo ($P < .05$).

CONCLUSIONES

Las esponjas de A.F.G. y los implantes usados de SC 21009 pueden servir para sincronizar el estro en borregas Romney Marsh. Con esta sincronización se puede hacer práctica la I.A. en borregas.

Los progestágenos empleados no afectan aparentemente la fertilidad.

Los bajos porcentajes de fertilidad, obtenidos en los animales tratados y testigos, probablemente se debieron a problemas de adaptación de las hembras utilizadas y a los problemas que representa el utilizar semen fresco diluído.

Cuando se cuente con una buena técnica para la congelación y preservación de semen de borregos, quizá se pueda hacer práctica la I.A. en las borregas.

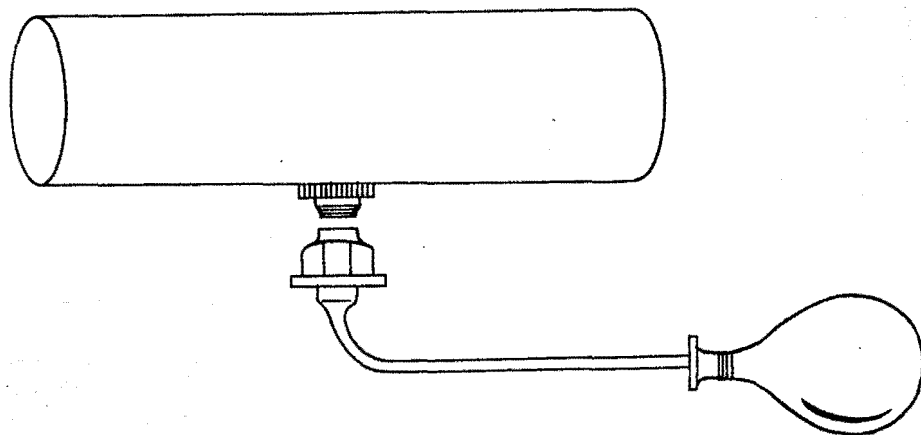
La fertilidad se podría mejorar si este tipo de progestágenos se utilizase al inicio del otoño.

A P E N D I C E I

Técnica para la preparación de la vagina artificial.

Material:

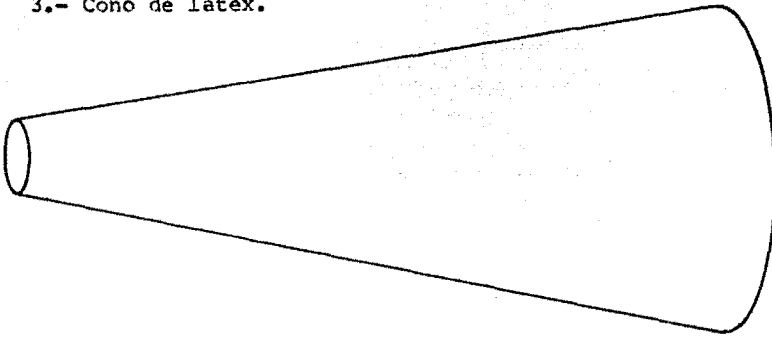
1.- Tubo duro (vagina) con su válvula y perilla de presión.



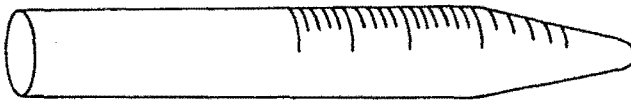
2.- Cámara de látex.



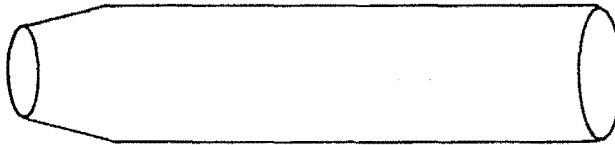
3.- Cono de látex.



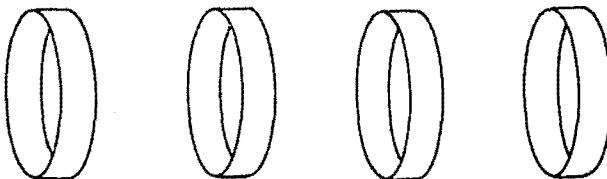
4.- Tubo para colección de semen.



5.- Protector del tubo colector.



6.- Ligas de látex para presionar los extremos de la vagina artificial.



Para armar la vagina artificial se introduce en la parte interna del tubo duro la cámara de látex (Fig. 1) en sus extremos quedan unas porciones sobrantes, las cuales se doblan hacia la parte externa del tubo duro (Fig. 2). Posteriormente - en la parte interna o luz que quedan en la cámara de látex se introduce el cono de latex, en cual en su extremo derecho queda una porción que también se doble hacia la parte externa -- del tubo duro, procediéndose a ligar la parte derecha del mismo (Fig. 3). Del extremo izquierdo del cono de látex sobresale una porción (boca angosta) en la cual debe insertarse el tubo colector graduado (Fig. 4).

A dicho tubo colector se le debe proteger con un recipiente - de polietileno (Fig. 4) en el cual se coloca agua a 38°C para así evitar choques a los espermatozoides por cambios bruscos de temperatura. Al utilizar la vagina artificial se debe lubricar con una substancia gelosa estéril en la parte interna del cono de látex o sea en el orificio de penetración del pene del borrego y por ese mismo orificio, se puede determinar la temperatura con un termómetro.

El cono de latex y el tubo colector graduado deben de ser esterilizados, ya que por estos dos implementos tienen contacto directo con el semen.

Fig. 1



Fig. 2

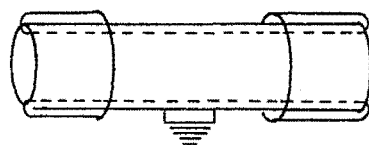
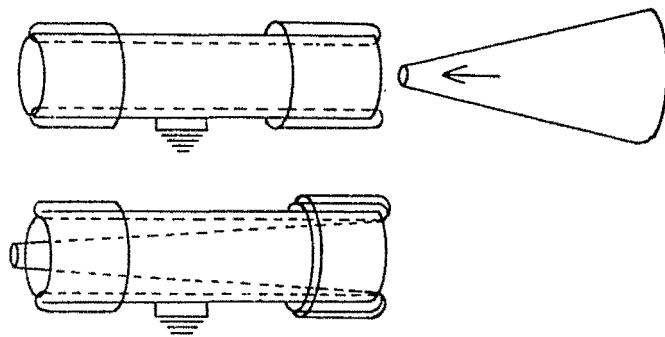


Fig. 3



A P E N D I C E I I

Técnica para recolección de semen.

Una vez armada la vagina artificial, se procede a llenarla -- con agua a 40oC introducida esta agua por una válvula, procediéndose entonces a la recolección, utilizándose para ello un potro de monta o una borrega en calor. Al inicio de la monta' por el macho, la persona encargada de realizar la recolección, se colocará en la parte lateral derecha o izquierda para así' facilitar la desviación del pene y la introducción del mismo' en la vagina artificial. Antes de hacer la colección se deben de dar dos o tres montas falsas.

A P E N D I C E III

Técnica para la preparación del diluyente Negreire, (1973).

Ingredientes:

1.000	ml de agua bidestilada estéril.
100	g de leche descremada en polvo.
1,000.000	de U.I. de penicilina.
1	g de estreptomicina.

La técnica consiste en colocar inicialmente en la probeta 500 ml de agua bidestilada estéril, a la cual posteriormente le - agregamos los 100 g de leche descremada en polvo.

La dilución de agua - leche ya preparada le agregamos - - - - 1,000.000 de U.I. de penicilina la cual ya se encuentra diluída en agua bidestilada estéril (5 ml), al igual que 1 g de estreptomicina y finalmente aforamos a 1.000 ml.

Una vez hecho lo anterior y ya evaluado el semen se calcula - el diluyente a utilizar y éste se calienta a 38°C para hacer la dilución de semen-diluyente, posteriormente lo colocamos - en un baño maría, en un cuarto frío y así ir bajando la temperatura 3 o 4°C por hora hasta llegar a 4°C y así conservarlo hasta ser utilizado para la I.A.

A P E N D I C E IV

Técnicas para evaluación de semen.

Inmediatamente después de realizada la recolección del semen, este debe de ser enviado al laboratorio manteniéndolo a una temperatura de 38°C . En el laboratorio se procede a introducir el tubo colector con el semen en baño maría a 38°C . Se hace la lectura y se anota el volumen eyaculado. De este se toma una gota de semen con una pipeta Pasteur previamente calentada a 38°C . Al semen ya colocado con el portaobjetos se le -- agrega una o dos gotas de citrato de sodio al 2.9% o solución salina fisiológica y se procede a la determinación del porcentaje de motilidad espermática. La evaluación es subjetiva y se efectúa tomando en consideración el movimiento progresivo y lineal de los espermatozoides.

Para la determinación de la concentración tomamos del eyaculado obtenido 0.1 ml al que se le agrega 7.9 ml de citrato de sodio al 2.9%, teniendo así una dilución de 1:80. De la dilución anterior tomamos 1 ml y lo agregamos a 1.5 de colorante rosa de bengala, quedándonos una dilución de 1:200. De la dilución de 1:200 se toma la cantidad suficiente para llenar la

pipeta cuenta glóbulos. Después de agitar y mezclar perfectamente se llena la cámara de Spencer, la cual se deja en reposo durante 5 minutos lo que nos facilita el conteo espermático.

La cámara de Spencer tiene un cuadrante que consta de 25 divisiones, de los cuales sólo tomamos en consideración 5 de -- ellos, como son: superior izquierda, superior derecha, inferior derecha, inferior izquierda y la central. Los espermatozoides comprendidos dentro de cada cuadro y los comprendidos en sus líneas limitantes superior e izquierda los tomamos en cuenta para evitar tener que realizar el conteo dos veces.

Obteniendo el volumen, motilidad y concentración procedemos a calcular el número de espermatozoides eyaculados (NEE), número de espermatozoides vivos (NEV), número de dosis que se obtienen del eyaculado y cantidad de diluyente a utilizar.

Ejemplo:

Volumen..... 2 ml

Motilidad..... 70%

Concentración..... 470×10^6

Calculamos el NEE y lo obtenemos de la siguiente forma:

Volumen x Concentración = NEE o sea $2 \times 470 \times 10^6 = 940 \times 10^6$.

Calculamos el NEV: $NEE \times \text{Motilidad}$ o sea $940 \times 10^6 \times 70 = 658 \times 10^6$.

Para determinar cuantas dosis obtenemos del eyaculado dividimos el NEV (658×10^6) entre los 20×10^6 de espermatozoides' que se requieren por dosis, o sea:

$$658 \times 10^6 \div 20 \times 10^6 = a \text{ 32.9 dosis.}$$

Para determinar la cantidad de diluyente que necesitamos se multiplica el número de dosis x volumen por dosis y el resultado es: $32.9 \times .2 = 6.58$ ml de volumen final, al cual le disminuimos el volumen del semen (2 ml) quedando por agregar - 4.58 ml de diluyente y así tener un volumen final de 6.58, -- que dividido entre el volumen por dosis (.2 ml) nos resulta 32.9 dosis del eyaculado obtenido.

A P E N D I C E V

Técnica para la preparación del colorante rosa de bengala.

Ingredientes:

100 ml de agua bidestilada

2.9 g de citrato de sodio

3.0 g del colorante en polvo (rosa de bengala)

1 ml de formol al 10% de concentración.

Para la preparación de la solución madre colocamos en una probeta 100 ml de agua bidestilada mas 2.9 g de citrato de sodio, quedando una solución al 2.9%. De la anterior solución colocamos en otra probeta 50 ml mas 3 g de colorante rosa de bengala y por último agregamos 1 ml de formol al 10% de concentración y aforamos a 100 ml con los 50 ml de la solución preparada inicialmente.

Ya preparada la solución madre tomamos 15 gotas y las agregamos a 100 ml de solución de cloruro de sodio al 3%. O 20 gotas de la solución madre en 100 ml de agua destilada obteniendo así el colorante a utilizar para determinar la concentración espermática.

B I B L I O G R A F I A

Brunner, M. A., W. Hansel and D. E. Hogue, 1964. Use of 6 methyl-17 acetoxy progesterone and pregnant mare serum' to induce and synchronize estrus in ewes, J. Anim. -- Sci., 23:32-36.

Bratanov, K., Kastov, K. Tilev, and N. Nicolov, 1972. Application of progesterone pellets for induction and synchronization of oestrus in anestrus ewes. Proc. VII - Inter. Cong. on Anim. Reprod. and Artif. Insem., - -' 2:952-953.

Cole, H. H. and R. F. Miller, 1935. Changes in the reproductive organs of the ewe with some data bearing of their' control, Am. J. Anat., 57:39.

Christian, R. E. and L. E. Casida, 1948. The effects of the - progesterone in altering the estrus cycle of the cow, J. Anim. Sci., 7:540 (abstr.).

Deweese, W. P. Glimp and R. H. Dutt, 1970. Comparison of Me--droxy progesterone acetate orally and vaginal sponges for synchronizina estrus in ewes, J. Anim. Sci., - -' 31:394-397.

- Dutt, R. H. and L. E. Casida, 1948. Alteration of the estrual cycle in sheep by use of progesterone and its effects upon subsequent ovulation and fertility, *Endocrinol.*, 43, 4, 208.
- Entwistle, R. W. and I. C. A. Martin, 1972. Effects of composition of diluent, method of addition of glycerol, freezing rate and storage temperature on the revival of ram spermatozoa after deep-freezing, *Aust. J. Biol. Sci.*, 25:379-385.
- Falkenberg, J. A., C. V. Hulet and C. C. Kaltenbach, 1971. -- Effects of hormone combinations on estrus ovulation and fertility in ewes, *J. Anim. Sci.*, 32:1206-1211.
- Foote, W. C., and D. J. Matthews, 1962. Effect of progesterone injection on synchronization of estrus and on subsequent fertility in the ewe, *Proc. Western Section - Amer. Soc. Anim. Sci.*, 13:VII-1.
- González P. E., R. Ruíz y J. N. Wiltbank, 1975. Inducción y sincronización del estro en vaquillas prepúberes mediante administración de estrógenos y un progestágeno, *Tec. Pec. en Méx.*, 28:17-23.
- Grant, R. 1933, Occurrence of ovulation without heat in the -

ewe, Nature. 131:802.

Hafez, E. S. E. 1974. Reproduction in Farm Animals. 3rd. edition. Ed. Lea and Febiger. Philadelphia, U. S. A.

Hernández, G. E. y E. González, 1975. Efecto de la sincronización del estro y suplementación energética en vacas - en agostadero en Chihuahua. Resúmenes de la XII Reunión Anual. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarías. S. A. G. p. 39.

Hernández, C. H., 1977. Sincronización del Estro en ovejas -- Rambouillet mediante la utilización de esponjas intra vaginales impregnadas de acetato de fluorogestersona e implantes usados del progestágeno SC 21009. Tesis Profesional. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U. N. A. M.

Hogue, D. E., W. Hansel and W. D. Bratton, 1962. Fertility on ewes bred naturally and artificially after estrus cycle synchronization with a normal progestational - -' agent, J. Anim. Sci., 21:625-630.

Holst, P. J. and Moore, N. W., 1970. Control of oestrus and - ovulation by progesterone and cronolone administered' either intramuscularly or intravaginally and subse- -'

- quent fertility, Aust. J. Anim. Rep. 21:371-382.
- Mc Donald, L. E., 1973. Reproducción y Endocrinología Veterinarias, Ed. Interamericana, S. A., México.
- Negreire, M., 1973. Inseminación Artificial en ovejas utilizando semen fresco diluído, L'elevage 22:17.
- Paredes B. M. R., 1975. Utilización de un progestágeno en combinación con Valerato de Estradiol para la sincronización de dos estros consecutivos en ganado bovino. Tesis Profesional. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. U. N. A. M.
- Pérez, J., O. Rodríguez y E. González, 1975. Utilización de valerato de estradiol y un progestágeno para resolver problemas de anestro en vacas y vaquillas cebú. Resúmenes XII Reunión Anual. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. S. A. G. p. 117.
- Pincus, G. and A. P. Merrill, 1961. The role of steroids in the control of mammalian ovulation, pp. 37-48. Ed. C. A., Ville. Pergamon Press, New York.
- Roberts, S. J. 1971. "Veterinary Obstetrics and Genital Disease" 2nd edition Published by the Author Ithaca New York.

Robinson, T. J. 1965. Use of progestagen impregnated sponges' inserted intravaginally or subcutaneously for the control of the oestrus cycle in the sheep. Nature. - - - 206:39-41.

Robinson, T. J., and D. R. Lamond, 1966. Control of reproduc--tion in sheep and cattle, Proc. of the Aust. Soc. - - . Anim. Prod. 6:10-15.

Robinson, T. J. 1971. The seasonal nature of reproductive phenomena in the sheep, variation in the fertility following synchronization of oestrus. J. Reprod. Fert., -' 24:19-27.

Roux, L. L., 1936. Sex physiology of sheep. Onderstepoort, J. Vet. Sci. Anim. Ind. 2:465.

Schinckel, P. G., 1954. The effect of the presence of the ram on ovarian activity in the ewe, Aust. J. Agr. Res. -' 5:465-469.

Southcotl, W. H., A. W. H. Braden and G. R. Maule, 1962. Syn--chronization of oestrus in sheep by and orally active progesterone derivative. Aust. Agr. Sci. 13:190.

Snedecor, W. G. and W. G. Cochran, 1973. Statistical Methods. The Iowa State University Press. Ames, Iowa U. S. A.

Taboada, J. J., S. de los Santos y R. Ruíz, 1976^a. Sincronización del estro en vacas horras y vaquillas utilizando la dosis residual del implante previamente usados del progestágeno SC 21009 en combinación con valerato de estradiol y progesterona. Resúmenes XII Reunión Anual. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. S. - A. G. p. 121.

Taboada, J. J., S. de los Santos y R. Ruíz, 1976^b. Sincronización e inducción de pubertad en vaquillas, reutilizando implantes del progestágeno SC 21009 y la adminis-- tración de hormonas esteroides. Resúmenes XII Reunión Anual. Instituto Nacional de Investigaciones Pecua-- rias. S. A. G. p. 121.

Ulberg, L. C. and C. E. Lindley, 1960. Use of progesterone -- and estrogen in the control of reproductive activi-- ties in beef cattle, J. Anim. Sci., 19:1132-1136.

Vlachos, K., 1963. Resultate der Künstl. Besamung der Ziegen in Nordgriechenland während des Jahres 1961. Bull of - the Hellen, Vet. Med. Soc., Vol. 24:1.

Vlachos, K., 1961. Die Anwendung der Künstl. Besam beiden - - Kleinen Wieder Kävren. Bull of the Hellen, Vet. Med.'

Soc., Vol. 24:4.

Wiltbank, J. N., 1976. Comunicación personal.

Xenoulis, P. C., C. S. Minotakis, and C. Tsamis, 1972. The --
evaluation of progesterone implants and M. A. P. im--
pregnated sponges for the advancement of the breeding
season in ewes. Proc. VII Intern, Cong. on Anim. Re--
prod. and Artif. Insem. Munich, 2:988-999.