

Nº 1
221



INSEMINACION ARTIFICIAL CON SEMEN FRESCO
EN LOBOS MEXICANOS (Canis lupus baileyi)
DEL ZOOLOGICO DE SAN JUAN DE ARAGON

Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista
por:

JOSE RUBEN AGUILAR GARCIA

Asesor: M.V.Z. Rosa María Páramo Ramírez



México, D. F.

1992

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



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 está 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

	<u>Página</u>
RESUMEN.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	6
RESULTADOS.....	9
DISCUSION Y CONCLUSIONES.....	12
CUADROS.....	14
FIGURAS.....	19
LITERATURA CITADA.....	28

RESUMEN

Aguilar García José Rubén. Inseminación Artificial con semen fresco en lobos mexicanos (*Canis lupus baileyi*) del Zoológico de San Juan de Aragón (bajo la dirección de Rosa María Páramo Ramírez).

El lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) es una especie que se encuentra al borde de la extinción, y para salvarla se hace necesario mantener una colonia de reproducción en cautiverio, que asegure su supervivencia, y dicha colonia debe ser aprovechada al máximo. Para lograr éste objetivo se propuso la utilización de la inseminación artificial con semen fresco obtenido mediante electroeyaculación, para aumentar la eficiencia reproductiva y la tasa de natalidad. Para evaluar esta opción, se comparó con la monta natural. Tanto en las hembras asignadas a la inseminación artificial, como en las asignadas a monta natural se tomaron 184 preparaciones fijas de citología vaginal durante 2 temporadas reproductivas para determinar la fecha apropiada para la inseminación artificial. Con los machos se realizaron 7 intentos de electroeyaculación, de los cuales se pudo obtener semen de regular calidad en 4 ocasiones. Se efectuaron 3 inseminaciones, ninguna de ellas con resultados positivos. Las cruces por monta natural, que se efectuaron alrededor de las fechas ideales determinadas mediante citologías vaginales, fueron exitosas, de donde se concluye que la inseminación artificial con semen colectado por electroeyaculación no es la opción más recomendable para elevar la tasa de natalidad de esta especie.

INTRODUCCION

La conservación de especies es un compromiso de nuestra época, ya que el hombre es el principal culpable de muchos de los desequilibrios ecológicos que han acarreado la extinción de una enorme cantidad de especies y amenazan la supervivencia de otras. Una de las especies animales amenazadas de extinción actualmente en nuestro país, es el lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) antes abundante en gran parte del territorio nacional (1,14,18,32) y que ha visto disminuida su población a partir de los años 50, a raíz de una intensa lucha que los ganaderos del norte de la república emprendieron contra el (30).

En la actualidad la población silvestre de lobos mexicanos (*Canis lupus baileyi*) ha disminuido a niveles críticos, ya en 1950 Mc.Bride (18) estimaba su población en no más de 50 individuos, distribuidos principalmente en los estados de Durango y Chihuahua, y estudios más recientes como los de Servin y Treviño (24,27) demuestran que este número ha disminuido a menos de 20 animales, la mayoría de ellos individuos solitarios.

Por tal motivo entre los años 1974-1976, se incluyó al lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) en los catálogos de especies en peligro de extinción (27,28) y en 1982 se implementó en Estados Unidos un programa de recuperación del lobo mexicano (1) iniciando la crianza en cautiverio con 5 animales (4 machos y 1 hembra) capturados en nuestro territorio entre 1972 y 1973 (1,18) de los que se ha logrado obtener 28 ejemplares, de los cuales 6 individuos (3 machos y 3 hembras) fueron reintroducidos a México en Octubre de 1987 y una pareja más fue entregada en custodia al

zoológico de Chapultepec en Diciembre de 1988 (*), aumentando a 15 el número de ejemplares adultos de esta especie que existen en cautiverio, siendo estos 6 machos y 9 hembras, distribuidos en los zoológicos de Aragón, Chapultepec, la Reserva de la Biosfera de la Michilia en Durango y en las estaciones de Aprovechamiento de Vida Silvestre (SEDUE) de San Cayetano en el Edo. de México y de Hermosillo en Sonora.

Hasta la fecha el programa de recuperación del lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) del United States Fish and Wildlife Service ha tenido éxito en reproducir en forma natural a los ejemplares que se encuentran dentro del programa, pero debido a las pocas hembras con las que se inició (2,18,26) dicho plan, la descendencia actual tiene un gran parentesco entre sí (26) por lo que es de vital importancia introducir al proyecto ejemplares de otra línea genética que no tenga relación alguna con los ejemplares ya existentes en el programa del U. S. Fish and Wildlife Service (2,26), para lo que se realizaría una cría intensiva de los ejemplares que se encuentran en cautiverio en nuestro país.

Para lograr este objetivo sería deseable recurrir a técnicas modernas de reproducción, como la citología vaginal, la inseminación artificial y la congelación de semen entre otras. En este aspecto, autores como Durrant (7), Senger (22) y Wildt (31) han utilizado métodos de reproducción artificial como la inducción de estro, inseminación artificial y transplante de embriones en la propagación de especies silvestres gravemente amenazadas de extinción.

En cuanto a la determinación del momento óptimo para realizar la inseminación artificial en perras se utiliza la técnica de citología

(*) Reyes, G.J.M., Biol. SEDUE. Comunicación personal.

vaginal exfoliativa en la que Evans y Cole, citados por Dávalos (5) iniciaron los trabajos desde 1929, y en nuestro país se puede citar un buen número de trabajos al respecto, entre los que destacan los de Dávalos en 1979 (5) y García en 1973 (8). En el caso de los lobos, Seal y colaboradores (23) realizaron un importante trabajo sobre endocrinología del ciclo estral, donde encontraron una correlación positiva entre los niveles séricos de hormonas sexuales con la citología vaginal exfoliativa y con cambios de comportamiento.

En México se puede decir que a partir de 1965 (29) se inició la práctica de la inseminación artificial en perras, existiendo además tanto a nivel nacional como internacional, importantes y abundantes investigaciones sobre los métodos de colección, almacenamiento de semen, así como sobre inseminación artificial de semen canino (3,9,10,13,21). También existen trabajos sobre inseminación artificial en carnívoros silvestres, como los de Seager en lobos (22) y los de electroeyaculación en coyotes, de Bruss (4). Además algunos autores han estudiado el comportamiento reproductivo de los lobos (17,20,25) y una de las conclusiones más importantes a las que han llegado, es el que los lobos son monógamos y poseen jerarquías muy bien definidas. lo que resulta en que, dentro de un grupo de lobos, solo se aparee la pareja dominante, lo que acarrea una consecuente tasa de natalidad baja, conclusión que coincide con lo observado en ambientes naturales por Mech (16), y apoya la idea de utilizar métodos de reproducción artificial que optimicen el potencial reproductivo de los pocos lobos mexicanos (*Canis lupus baileyi*) que aún quedan en nuestro territorio.

HIPOTESIS

Probar si los metodos de inseminación artificial aplicados a los perros pueden ser utilizados en la reproducción en cautiverio del lobo mexicano (Canis lupus baileyi), y con ellos incrementar la tasa de natalidad de esta especie.

OBJETIVOS

Determinar el porcentaje de fertilidad y el número de cachorros paridos por la inseminación artificial con semen fresco en hembras de lobo mexicano (Canis lupus baileyi) y compararlos con los obtenidos de monta natural.

Colateralmente aportar datos que ayuden a la comprensión y a la caracterización de los ciclos reproductivos del lobo gris mexicano (Canis lupus baileyi).

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se realizó durante las temporadas reproductivas de 1987-1988 y de 1988-1989, utilizando 6 ejemplares de lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*), que fueron 2 machos y 4 hembras con edades entre 2.5 y 7 años, de la colección del zoológico de San Juan de Aragón.

A) Formación de grupos: Un grupo fue integrado por el macho marcado como ZA001 de 6 años de edad y las hembras ZA002 y ZA003, ambas de 5 años de edad, donde la hembra ZA002 se mantuvo separada del macho durante toda la temporada reproductiva en ambas ocasiones, y fue la que se utilizó para la inseminación artificial, mientras que la hembra ZA003 se mantuvo con el macho para ser cubierta en forma natural. El otro grupo se formó por el macho marcado NS033 de 3.5 años de edad y las hembras ZA004 y LM045 de 5 y 2.5 años de edad respectivamente, para las dos temporadas reproductivas, y en el cual la hembra ZA004 fue la utilizada para inseminación artificial, manteniéndose separada del macho durante las estaciones reproductivas, mientras que la pareja NS033 y LM045 se mantuvo junta para que se apareara por monta natural.

B) Determinación de la etapa del ciclo estral: Dicha determinación se llevo a cabo mediante la toma de muestras vaginales cada tercer día durante el período comprendido entre el 7 de Enero y el 14 de Febrero para la temporada reproductiva 1987-1988, y del 9 de Enero al 23 de Febrero para la temporada de 1988-1989. Para la toma de muestras se sujetó a las hembras mediante una jaula de contención de pared móvil, y se obtuvieron las muestras introduciendo en la vagina, previa limpieza de la región vulvar, un hisopo estéril de aproximadamente 15 cm. de longitud; con la

muestra así obtenida se prepararon frotis que fijaron con "Citospay" y posteriormente se tiñeron con la tinción tricrómica de Shorr (6,8).

C) Obtención de semen: La obtención de semen se realizó mediante la electroeyaculación alternada de los machos, previa anestesia, para lo cual se utilizó clorhidrato de ketamina a dosis de 10-50 mg./Kg. de peso vivo (11,12), clorhidrato de promazina a dosis de 2.2-6.6 mg./Kg. de peso corporal (15,19) y diazepam a dosis de 1 mg./Kg. de peso corporal (19), administrados mediante un equipo de inyección remota "Telinject", o previa inmovilización del macho mediante una jaula de compresión, después de lo cual se estimuló a los machos con un electroeyaculador para ovinos, con lo que se logró obtener semen en cuatro ocasiones en total en ambas temporadas reproductivas.

D) Evaluación del semen: El semen obtenido fue mantenido en un recipiente a una temperatura de 32°C, mientras era evaluado considerando los siguientes aspectos:

1) Volumen.

2) Color.

3) Movilidad espermática.

Para dicha evaluación se utilizó un microscopio portátil. También se realizaron frotis que se tiñeron con Eosina-Nigrosina, con los que se observó la morfología espermática.

E) Inseminación artificial: Con el semen obtenido durante la temporada 1987-1988 se inseminaron a las lobas ZA002 y ZA004 los días 14 y 18 de Enero de 1988 respectivamente, y con el obtenido en la temporada 1988-1989

se inseminó a la hembra ZA002 el día 10 de Febrero de 1989. Las fechas de inseminación artificial fueron decididas tomando como base el que en los frotis vaginales existiera por lo menos el 70% de células anucleadas. Para la inseminación se emplearon jeringas y pipetas de inseminación desechables, de las utilizadas comunmente para perras, depositando el semen en la parte más craneal de la vagina, levantandose el tren posterior de la hembra inseminada por un lapso de 10 minutos. El manejo se efectuó en una jaula de contención de pared móvil. Finalmente, se mantuvo separadas del macho a las hembras inseminadas hasta 3 días después de la fecha probable de parto, después de la cual fueron reintegradas al grupo.

RESULTADOS

Se obtuvieron en total 184 preparaciones fijas de frotis vaginales, de las cuales 64 correspondieron a la temporada 1987-1988 y 120 a la temporada 1988-1989. en ellas se observaron y cuantificaron en forma porcentual las células superficiales con núcleo (figura 1), las células intermedias y las células anucleadas (figura 2), además de la presencia de los eritrocitos.

Durante la temporada 1987-1988 se observó en la hembra ZA002 un fenómeno consistente en la repentina aparición de frotis característicos de fin de estro e inicio de diestro, después de solo 2 o 3 días de frotis de estro (70-75% de células superficiales), para después de 3 días, aparecer nuevamente frotis característicos de proestro, seguidos de frotis de estro durante 9-10 días (figura 3); por esta razón se inseminó a esa hembra el día que se observó por primera vez el arreglo celular de 33% de células anucleadas, 25% de células intermedias y 42% de células superficiales (típico de fin de estro). Y aun cuando se intentó obtener semen en días posteriores, no fue posible colectarlo para intentar otra inseminación artificial. Con la hembra ZA004 ocurrió algo similar, solo que en esta, después de 5 días de presentar frotis de proestro, se comenzaron a elevar las células anucleadas hasta alcanzar un pico de aproximadamente 65%, para después de 3 días observarse una disminución brusca de dichas células, seguida de un nuevo aumento en el que se presentó un pico de 90% de células anucleadas durante 5 días (figura 5), dando la impresión de haber presentado dos ciclos consecutivos.

La hembra ZA003 presentó frotis de proestro durante 17 días y frotis de estro con porcentajes de células anucleadas entre el 65% y el 95%, durante 21 días; en tanto que la hembra LM045 no presentó actividad sexual en esta

temporada (cuadro 1).

Durante la temporada reproductiva 1988-1989, la hembra ZA002 presentó frotis característicos de proestro durante 25 días y frotis de estro durante 14 días, con un pico de células anucleadas del 80% durante 5 días, y fue inseminada el día 10 de Febrero de 1989, cuando el arreglo celular en el frotis presentó 10% de células superficiales, 25% de células intermedias y 65% de células anucleadas (figura 6). La hembra ZA003 (figura 7) presentó frotis característicos de proestro durante 19 días y frotis de estro durante 20 días, con un pico del 95% de células anucleadas durante 3 días; esta hembra se apareo con el macho ZA001 de manera natural, entre los días 12 y 14 de Febrero de 1989, cuando los frotis de la hembra presentaron 5% de células intermedias, 0% de células superficiales con núcleo y 95% de anucleadas. Por su parte la hembra ZA004 (figura 8) presentó frotis de proestro durante 21 días y de estro durante 21 días, con un pico de células anucleadas del 90% durante un solo día. Con lo que respecta a la hembra LM045, esta sólo se pudo muestrear en muy pocas ocasiones por su carácter extremadamente nervioso y por ello no fue posible realizar una gráfica de distribución celular con sus frotis, como con las otras hembras (figuras 3 a 8). Sin embargo al comparar las muestras de la hembra LM045 con las de la ZA003, parece que ambas presentaron ciclos similares.

Se realizaron 7 intentos de electroeyacuación en total con los dos machos, 5 de los intentos en la temporada 1987-1988, siendo estos los días 14 y 18 de Enero y 4 y 8 de Febrero de 1988 para el macho ZA001 y el 11 de Febrero del mismo año para el macho NS033. Y en la temporada 1988-1989 solo dos intentos los días 10 y 17 de Febrero de 1989, en ambas ocasiones con el macho ZA001. De estos intentos sólo se obtuvo semen en 4 de ellos, 3 en la temporada 87-88 y sólo una ocasión en la 1988-1989; los resultados

de estos intentos de obtención de semen se muestran en el cuadro 2.

El semen obtenido presentó las siguientes características en promedio:

- Volumen: 1.62 ml.
- Color: Blanco lechoso.
- Movilidad espermática en masa: Ondas vigorosas.
- Concentración espermática: No se cuantificó.

Los detalles de las características del semen obtenido en cada colección se describen en el cuadro 3. Los frotis de semen teñidos con Eosina-Nigrosina (figura 9), permitieron observar espermatozoides vivos y viables en un 65-70% aproximadamente y un 30-35% de espermatozoides muertos o con anomalías.

Los resultados de las inseminaciones artificiales fueron negativos, por lo que el porcentaje de fertilidad de estas es de 0%, los resultados de cada una de las inseminaciones se observan en el cuadro 4. Con lo que se refiere a la monta natural, esta se efectuó entre el macho ZA001 y la hembra ZA003 del 10 al 12 de Febrero de 1989, y entre el macho NS033 y la hembra LMO45 del 12 al 14 de Febrero del mismo año; los resultados se encuentran en el cuadro 5.

Cabe mencionar que el macho ZA001 murió a causa de una septicemia el día 20 de Febrero de 1989, y que tal acontecimiento impidió que se realizaran más intentos de electroeyaculación e inseminación artificial.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Al parecer la electroeyaculación no es un método seguro por el cual sea factible obtener de un solo macho, la cantidad y las veces necesarias, el semen para intentar con buenas probabilidades de éxito la inseminación artificial, ya que aun estando dentro de la temporada reproductiva, aparentemente los machos trabajados por este método se tornan refractarios a los estímulos del electroeyaculador después de la primera o segunda ocasion en que se intenta obtener semen de ellos por tal método. Por otra parte, la poca cantidad de semen obtenido (1.62 ml. en promedio), dificultó la evaluación del mismo e impidió que se pudiera inseminar a más de una hembra en cada ocasión. Sin embargo se puede considerar como alentador el hecho de que siendo la primera vez que se intenta obtener semen de lobos mexicanos (Canis lupus baileyi) por electroeyaculación, se obtuviera semen de buenas características cualitativas. En cuanto a las fechas para la inseminación artificial, estas fueron determinadas por la observación de citologías vaginales exfoliativas, pero no fue posible inseminar el número de ocasiones deseable a cada hembra, para tener mayores probabilidades de éxito. En lo que se refiere a las montas naturales, se observó que el periodo de receptividad sexual ocurrió con mayor frecuencia en la segunda semana del estro (figuras 4 y 7).

En base a todo lo anteriormente expuesto, se puede decir que en general los resultados de la inseminación artificial mediante este método no son positivos, pero es necesario hacer mención que por fallas de organización en el zoológico de San Juan de Aragón, no se pudo comprobar si la hembra ZA002 inseminada artificialmente, fue la que parió el 16 de Abril de 1989, o si fue la hembra ZA003, cubierta por monta natural, ya que no fue posible observar el tatuaje de la hembra que parió, y con ello hacer una

identificación objetiva de la misma.

Por otra parte los datos de duración promedio del proestro (19.2 días) y del estro (18.4 días) son los primeros que se obtienen de esta subespecie de lobos, ya que Seal (23) obtuvo datos de la duración promedio de estro y proestro en otra subespecie de lobos en Minesota, y Servin (25) deja entrever apenas una probable duración del estro de 14 a 21 días.

En base a los resultados obtenidos se puede concluir que la inseminación artificial con semen fresco obtenido por electroeyaculación no es una alternativa viable para elevar la tasa de natalidad en esta subespecie, por lo que deberían probarse otras alternativas de reproducción intensiva, como la formación de parejas aisladas, el entrenamiento de cachorros para colectar semen por estímulo manual y la congelación de semen.

CUADRO I HISTORIAL REPRODUCTIVO DE LAS LOBAS DEL ZOOLOGICO DE SAN JUAN DE ARAGON

Hembra	Temporada Año	Edad Años previos	Partos	P r o e s t r o		E s t r o	
				Inicio mes/día	Duración días	Inicio mes/día	Duración días
ZA002	1987-1988	05	-----	1/07	14	1/22	17
ZA003	1987-1988	05	01	1/05	17	1/22	21
ZA004	1987-1988	05	-----	1/05	22	1/28	18
LM045	1987-1988	2.5	-----	*	--	*	--
ZA002	1988-1989	06	-----	1/13	25	11/07	14
ZA003	1988-1989	06	02	1/11	19	1/31	20
ZA004	1988-1989	06	-----	1/09	21	1/30	21
LM045	1988-1989	3.5	-----	1/17	17	11/03	18

* = No presento actividad sexual en esta temporada.

CUADRO 2 RESULTADOS DE LOS INTENTOS DE ELECTROEYACULACION Y DROGAS
EMPLEADAS EN ELLOS

Fecha	Macho	Dosis total de Ketamina	Dosis total Promazina	Dosis total de Diacepam	Volumen eyaculado	Comentarios
14-I-88	ZA001	400mg.	50mg.	10mg.	1.0 ml.	-----
18-I-88	ZA001	400mg.	100mg.	-----	3.0 ml.	-----
04-II-88	ZA001	400mg.	100mg.	20mg.	0.5 ml.	*
08-II-88	ZA001	400mg.	100mg.	20mg.	-----	-----
11-II-88	NS033	450mg.	100mg.	10mg.	-----	*-*
10-II-89	ZA001	250mg.	100mg.	-----	2.0 ml.	-----
17-II-89	ZA001	250mg.	-----	-----	-----	-----

Comentarios:

* = El semen se contaminó con orina.

** = El macho no presento erección y no fue posible desvainar el pene, no se palpo un bulbo peneano de tamaño normal.

CUADRO 3 CARACTERISTICAS DEL SEMEN COLECTADO POR ELECTROEYACULACION

Fecha	Macho	Volumen	Color	Movilidad espermática	% de Anormalidades
14-1-88	ZA001	1.0 ml.	Blanco lechoso	Ondas vigorosas	30%
18-1-88	ZA001	3.0 ml.	Blanco	Ondas vigorosas	30%
4-11-88	ZA001	0.5 ml.	Bianco claro	Ondas vigorosas	35%
10-11-89	ZA001	2.0 ml.	Blanco	Ondas vigorosas	30%

CUADRO 4 INSEMINACION ARTIFICIAL Y SUS RESULTADOS

Fecha I.A.	Macho	Hembra Inseminada	Volumen Insemi.	Día/Ciclo	Fecha probable de parto	Número de cachorros
14-I-1988	ZA001	ZA004	1.0 ml.	12 ^o Proestro	17-III-1988	0
18-I-1988	ZA001	ZA002	3.0 ml.	02 ^o Estro	07-IV-1988	0
10-II-1989	ZA001	ZA002	2.0 ml.	06 ^o Estro	14-IV-1989	*0*

0 - No se pudo comprobar si fue la hembra ZA002, inseminada artificialmente, o la ZA003, por monta natural, la que pario 07 cachorros el día 16 de Abril de 1989.

CUADRO 5 RESULTADOS DEL APAREAMIENTO NATURAL

Pareja formada por Macho	Hembra	Fecha de apareamiento	Fecha probable de parto	Días de gestación	Número de cachorros	Comentarios
ZA001	ZA003	12-11-88	15-IV-88	63	07	*
ZA001	ZA003	14-11-89	18-IV-89	61	07(?)	**
NS033	LM045	12-11-89	16-IV-89	64	03	***

Comentarios:

* = Fueron 06 cachorros machos y 01 hembra. Un macho nació sin vida.

** = No se pudo comprobar si fue la hembra ZA002 o la ZA003 la que parió 07 cachorros el día 16 de Abril de 1989. La madre mató a todos los cachorros durante los 07 días posteriores al parto.

*** = La madre mató a dos de los cachorros entre la primera y segunda semana postparto.

FIGURA 1



Microfotografía (40X) de citología vaginal exfoliativa típica de proestro, donde predominan las células superficiales con núcleo.

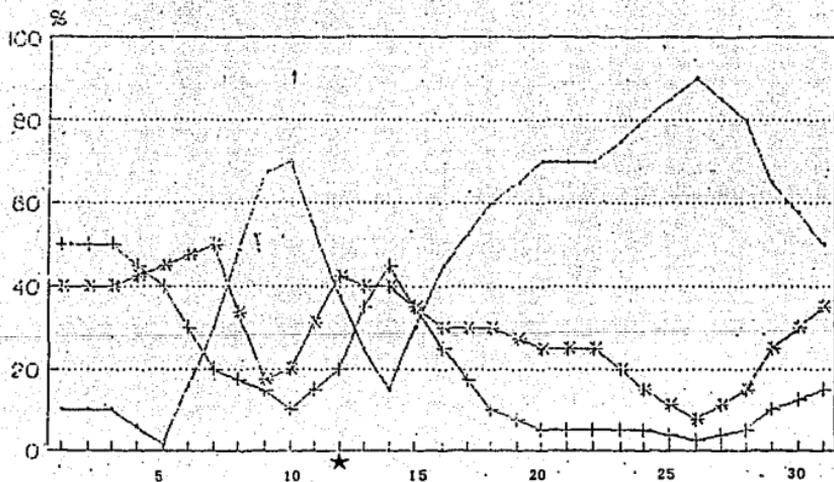
FIGURA 2



Microfotografía (40X) de citología vaginal exfoliativa típica de éstro, donde abundan las células anucleadas.

FIGURA 3

Gráfica de tipos celulares y su porcentaje durante el proestro y estro de la loba ZA002 en la temporada 1987-1988.



★ Inseminación Artificial.

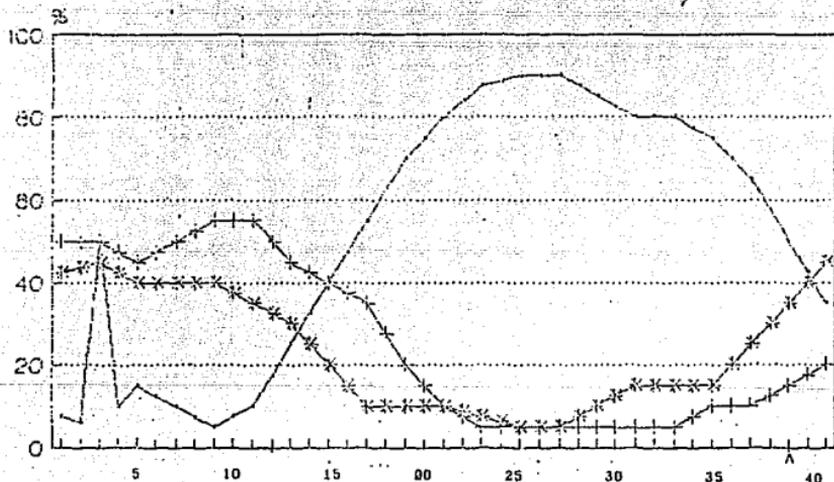
—*— Células superficiales.

—+— Células intermedias.

—x— Células anucleadas.

FIGURA 4

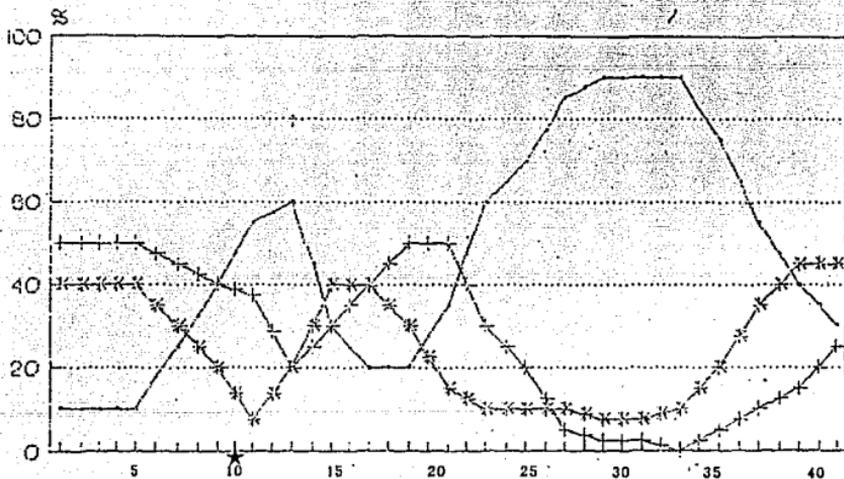
Gráfica de tipos celulares y su porcentaje durante el proestro y estro de la loba ZA003 en la temporada 1987-1988.



- A Aporeamiento natural.
- *- Células superficiales.
- +- Células intermedias.
- Células anucleadas.

FIGURA 5

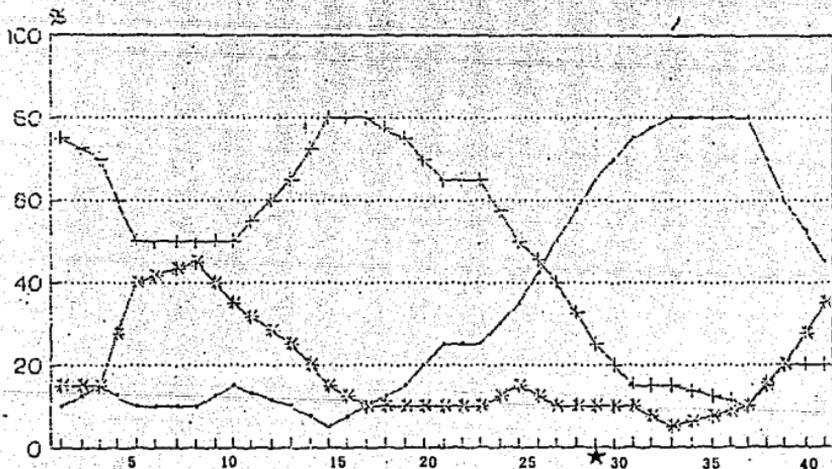
Gráfica de tipos celulares y su porcentaje durante el proestro y estro de la hebra ZA004 en la temporada 1987-1988.



- ★ Inseminación Artificial.
- *— Células superficiales.
- +— Células intermedias.
- — — Células anucleadas.

FIGURA 6

Gráfica de tipos celulares y su porcentaje durante el estro y proestro de la hembra ZA002 en la temporada 1988-1989.



★ Inseminación Artificial.

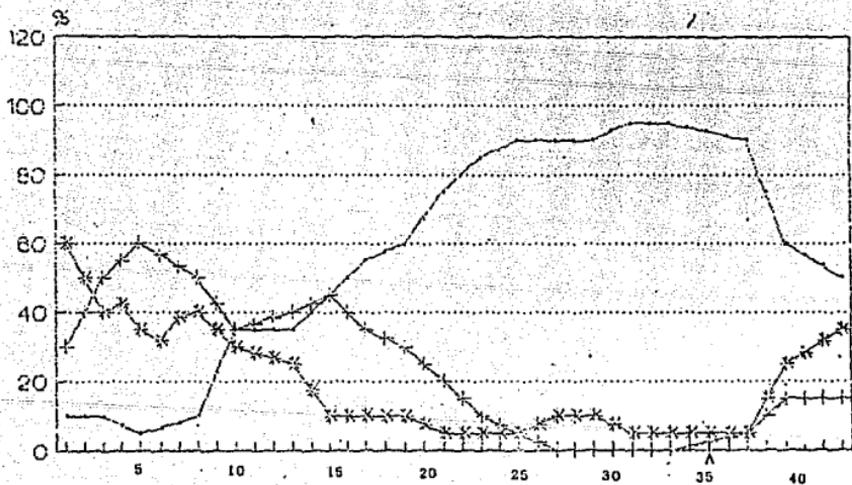
* Células superficiales.

+ Células intermedias.

~ Células enucleadas.

FIGURA 7

Gráfica de tipos celulares y su porcentaje durante el proestro y estro de la loba ZA003 en la temporada 1988-1989.



▲ Apareamiento natural.

* Células superficiales.

+ Células intermedias

— Células anucleadas.

FIGURA 3

Gráfica de tipos celulares y su porcentaje durante el proestro y estro de la hebra ZA004 en la temporada 1988-1989.

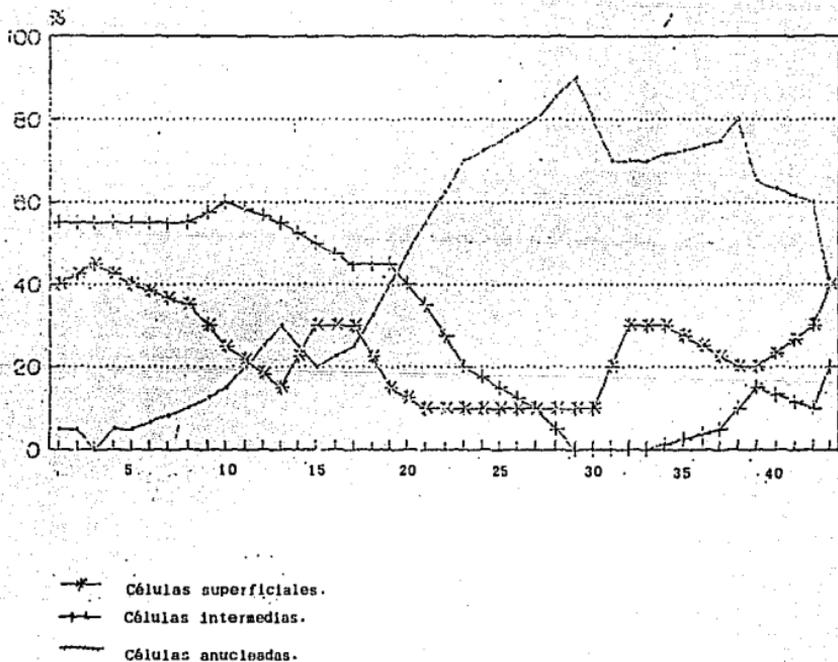


Figura 9



Microfotografía (40X) de frotis de semen de lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*) teñida con Eosina-Nigrosina.

LITERATURA CITADA

- 1.- Amos, N.: Mexican Wolf Recovery Plan. New Mexico Department of fish and game. Fish and Wildlife Endangered Species Office. Albuquerque New Mexico, (1982).
- 2.- Amos, N.: Mexican Wolves in Captivity: A Review of the Linage Originating in the 1960s at the Arizona-Sonora Desert Museum. New Mexico Department of fish and game. Mex. Wolf. Recov. Team., Santa Fe, New Mexico, (1980).
- 3.- Andersen, K.: Fertility of Frozen Dog Semen. Acta Vet. Scand. 13: 128-130, (1972).
- 4.- Bruss, M.L., Green, J.S. and Stellflug, J.N.: Electroejaculation of the Coyote. Theriogenology. 20: 53-59, (1983).
- 5.- Dávalos, A.G.: Contribución al estudio del ciclo estral de la perra por medio de citología exfoliativa vaginal. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Autónoma de Nuevo Leon, Monterrey, N.L., 1979.
- 6.- Di Flore, M.S.A.: Nuevo Atlas de Histología, 2ª ed. El Ateneo editorial., Buenos Aires, Argentina, 1976.
- 7.- Durrant, B.S., Oosterhuis, J.E. and Hoge, M.L.: The application of artificial reproduction techniques to the propagation of selected endangered species. Theriogenology. 25:25-32, (1986).
- 8.- García, R.J.: Citología exfoliativa vaginal en perras. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, 1973.
- 9.- Gill, H.P. and Kirk, R.W.: Artificial insemination of Beagle bitches with freshly collected, liquid-stored and frozen-stored semen. Amer. J.

LITERATURA CITADA

- 1.- Ames, N.: Mexican Wolf Recovery Plan. New Mexico Department of fish and game. Fish and Wildlife Endangered Species Office. Albuquerque New Mexico, (1982).
- 2.- Ames, N.: Mexican Wolves in Captivity: A Review of the Linage Originating in the 1960s at the Arizona-Sonora Desert Museum. New Mexico Department of fish and game. Mex. Wolf. Recov. Team., Santa Fe, New Mexico. (1980).
- 3.- Andersen, K.: Fertility of Frozen Dog Semen. Acta Vet. Scand. 13: 128-130, (1972).
- 4.- Bruss, M.L., Green, J.S. and Stellflug, J.N.: Electroejaculation of the Coyote. Theriogenology., 20: 53-59, (1983).
- 5.- Dávalos, A.G.: Contribución al estudio del ciclo estral de la perra por medio de citología exfoliativa vaginal. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Autónoma de Nuevo Leon, Monterrey, N.L., 1979.
- 6.- Di Fiore, M.S.A.: Nuevo Atlas de Histología, 2ª ed. El Ateneo editorial., Buenos Aires, Argentina, 1976.
- 7.- Durrant, B.S., Oosterhuis, J.E. and Hoge, M.L.: The application of artificial reproduction techniques to the propagation of selected endangered species. Theriogenology., 25:25-32, (1986).
- 8.- Garcia, R.J.: Citología exfoliativa vaginal en perras. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, 1973.
- 9.- Gill, H.P. and Kirk, R.W.: Artificial insemination of Beagle bitches with freshly collected, liquid-stored and frozen-stored semen. Amer. J.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Vet. Res., 31: 1807-1813, (1970).

10.- Kibble, R.M.: Artificial insemination in dogs. Am. J. Vet. Sci. 45: 194-199, (1969).

11.- Kreeger, T.J. and Seal, U.S.: Xylazine hydrochloride - ketamine hydrochloride immobilization of wolves and it's antagonism by tolazoline hydrochloride. J. Wildl. Dis. 22: 397-402, (1986).

12.- Kreeger, T.J. and Seal, U.S.: Failure of yohimbin hydrochloride to antagonize, ketamine hydrochloride immobilization of gray wolves. J. Wildl. Dis. 22: 600-603, (1986).

13.- Lees, G.E. and Castelberry, M.W.: The use of frozen semen for artificial insemination of German shepherd dogs. J. Amer. Hosp. Ass. 13: 382-386, (1977).

14.- Leopold, A.S.: Fauna Silvestre de México, 2ª ed. IMERNAR, México, D.F., 1977.

15.- Martin, I.C.A.: The principles and practice of electroejaculation of mammals. In: Artificial Breeding of Non domestic Animals. P.F. Watson ed. 127-152. Academic Press, New York, (1978).

16.- Mech, D.L.: Reproductivity, mortality and population trends of wolves in Northeastern Minnesota. J. Mamm. 58: 559-574, (1977).

17.- Medjo, D.C. and Mech, D.L.: Reproductive activity in nine and ten month-old wolves. J. Mamm. 57: 406-408, (1976).

18.- Mc.Bride, R.T.: The Mexican wolf (Canis lupus baileyi). A historical review and observations on it's status and distribution. U.S.F.W.S., Albuquerque, New Mexico, 1980.

19.- Ocampo, C.L. y Sumano, L.H.: Anestesia Veterinaria en pequeñas especies. Mc Graw-Hill de México, México D.F. 1985.

- 20.- Peters, R.: Mammalian communication. A behavioral analysis of meaning. Brooks/Cole Publishing Company., Monterey California, 1980.
- 21.- Seager, S.W.J.: Collection, storage and insemination of canine semen. Lab. An. Scien. 22: 177-182, (1971).
- 22.- Seager, S.W.J., Platz, C.C Jr. and Hodge, W.: Successful pregnancy using frozen semen in wolf (Canis lupus irremotus) Int. Zoo. Yb. 15: 140-143, (1975).
- 23.- Seal, U.S., Plotka, E.D., Packard, J.M. and Mech, D.L.: Endocrine correlates of reproduction in the wolf. I. Serum progesterone, estradiol and L.H. during estrous cycle. Biol. Reprod. 21: 1057-1066, (1979).
- 24.- Servin, M.J.I.: Estudio para la recuperación del lobo mexicano (Canis lupus baileyi) en el Estado de Durango. II Etapa., Inst. Ecol., México, D.F., 1986.
- 25.- Servin, M.J.I.: Sobre el comportamiento reproductivo del lobo mexicano (Canis lupus baileyi). Memorias del I Simposio sobre fauna silvestre. México D.F., Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. 1983, 79-85, Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M. Fac. Med. Vet. Zoot. U.N.A.M. México, D.F., (1983).
- 26.- Shields, W.M., Tempelton, A. and Davis, S.: Genetic assessment of the current captive breeding program for the Mexican Wolf (Canis lupus baileyi). Final report. New Mexico Department of fish and game. U.S.F.W.S., New Mexico, (1987).
- 27.- Treviño, F.J.: Status of the Mexican Wolf and Grizzly Bear in Northern México and Southwestern U.S.. Wkshop. Proc. U.S.D.I. First General Technical Report., 78-80, Rio Rico, Arizona, 1983.
- 28.- U.S. Fish and Wildlife Service: Endangered and Threatened species of Arizona and New Mexico. U.S.F.W.S., New Mexico, 1987.

29.- Uslar de la P. R.: Primera inseminación artificial de la perra en México. Tesis de licenciatura. Esc. Nal. de Vet. Zoot. U.N.A.M., México, D.F., 1965.

30.- Villa, R.B.: Combate contra lobos y coyotes en el norte de México. (Sus repercusiones en la salubridad, en la economía y en la conservación de fauna silvestre). Instrucciones para el uso del 1080. An. Inst. Biol. U.N.A.M., 31: 340-373. Inst. Biol. U.N.A.M., México D.F., 1960.

31.- Wildt, D.E., Schiwe, M.C., O'Brien, S.J., Schmidt, P.M., Goodrowe, K.L., Howard, J.G., Phillips, L.G. and Bush, M.: Developing animal model systems for embryo technologies in rare endangered wildlife. Theriogenology, 25: 33-51. (1986).

32.- Young, S.P. and Goldman, E.A.: The wolves of North America. Am. Wildl. Inst., Washington D.C., 1944.