N-215
2ej.

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES

INSEMINACION ARTIFICIAL EN OVINOS: ESTUDIO RECAPITULATIVO DE 1981 A 1991

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

JUAN JOSE RADILLO DIAZ

ASESORES: M.V.Z. ANTONIO ORTIZ HERNANDEZ
M.V.Z. ROSA BERTHA ANGULO MEJORADA

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F 1992

Universidad Nacional Autónoma de México
UNAM
Biblioteca Central
Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

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

Pagina

RESUMEN.....1

I. INTRODUCCION.....1

II. CARACTERISTICAS REPRODUCTIVAS DE LA HEMBRA.....4

III. EVALUACION DEL SEMENTAL.....7

IV. EFECTO DE FACTORES EXTRINSECOS
SOBRE LA REPRODUCCION.....15

4.1 Temperatura.....16

4.2 Fotoperíodo.....16

V. RECOLECCION DE SEMEN.....20

5.1 Vagina artificial.....21

5.2 Electroeyaculador.....22

VI. DILUCION DEL SEMEN.....24

VII. PRESERVACION DEL SEMEN.....27

7.1 Almacenamiento líquido.....28

7.2 Congelamiento de semen.....30

VIII. INSEMINACION ARTIFICIAL.....34

8.1 Inseminación vaginal.....34

8.2 Inseminación cervical.....35

8.3 Inseminación intrauterina.....38

8.4 Inseminación intraperitoneal.....43

IX. MOMENTO DE LA INSEMINACION.....43

X. CONTROL HORMONAL DEL CICLO ESTRAL.....47

XI. DATOS EXPERIMENTALES.....54

XII. ANALISIS DE LA INFORMACION.....56

LITERATURA CITADA.....66

CUADROS

Pagina

1. Medias ± desviaciones estándar para longitud cervical y número de anillos cervicales. Porcentaje de tipos de os cervical en diferentes razas ovinas.....6a

2. Número mínimo de espermatozoides de carnero (en millones) requerido para asegurar fertilidad adecuada en la borrega.....27

3. Indice de partos con relación a la profundidad de la inseminación cervical en ovejas Merino (usando semen fresco sin diluir y diluido).....38

4. Influencia potencial de un semental y corderos producidos anualmente con monta natural, IA con semen fresco e IA con semen congelado.....58

5. Efectos del tipo de semen, número de inseminaciones, sitio de inseminación, y número total de espermatozoides inseminados sobre los porcentajes de partos en borregas luego de la IA.....60

6. Gestación en borregas después de inseminación cervical y vaginal.....61

7. Gestación en borregas tras diferentes métodos de inseminación con semen congelado de carnero.....62

8. Efectos del tipo de semen, sitio de inseminación y número de espermatozoides depositados en el útero sobre la fertilidad de las borregas.....63

9. Partos y número de corderos nacidos tras la inseminación de borregas con semen de carnero fresco y congelado.....64

10. Fertilidad del semen de carnero congelado y suplementado o no con PGF2alfa previo a su congelación.....65

R E S U M E N

Radillo Díaz Juan José. Inseminación Artificial en Ovinos: Estudio recapitulativo de 1981 a 1991. (Bajo la dirección del M.V.Z. Antonio Ortíz Hernández y la M.V.Z. Rosa Berta Angulo Mejorada).

En este trabajo se analizó la información bibliográfica más relevante de 1981 hasta 1991, relacionada con la inseminación artificial (IA) en ovinos. Esto incluye las diversas técnicas de IA estudiadas hasta el momento, tomando en cuenta su naturaleza experimental o práctica, quirúrgica y no quirúrgica, momento óptimo de aplicación, sitio y número de inseminaciones, dosis y tipo de semen empleado (fresco, diluido, congelado), efecto sobre la productividad, resultados obtenidos y ventajas y desventajas de cada técnica. Así mismo se hará mención de temas relacionados con la IA, como son la sincronización de estros, los efectos que ejercen los agentes sincronizadores sobre la productividad, y parámetros reproductivos de la especie ovina. Al final del trabajo se incluyen cuadros que resumen los requerimientos de cada técnica y los resultados obtenidos con cada una en cuanto a fertilidad, gestación y partos.

I. INTRODUCCION

La inseminación artificial (IA) es un método reproductivo en que las células sexuales masculinas son depositadas dentro del tracto genital femenino por medios distintos al de la cópula natural. Este método ha producido, y a la vez promete grandes logros en materia del control reproductivo ovino (4, 32,43).

Para alcanzar niveles de fertilidad comparables a los obtenidos en aquellos sistemas donde el macho tiene acceso irrestricto a las hembras en estro, la I.A. deberá efectuarse bajo estrictas condiciones de tiempo (momento en que se realiza), sitio de deposición del semen, y calidad, cantidad (concentración espermatica por dosis de inseminado) y características del mismo (fresco, diluido, congelado) (22,37).

Otros factores claves para la obtención de buenos resultados con la IA son la eficiencia en la detección de estros (o conocimiento preciso del tiempo de ovulación), y el momento óptimo para llevarla a cabo tomando en cuenta el tipo de inseminación que se aplicará, y por lo tanto el sitio donde será depositado el semen (40,82).

La inseminación artificial en ovinos está lejos de ser una técnica nueva. Lleva más de 50 años practicándose, originalmente en la Unión Soviética, y de manera rutinaria, aunque comercialmente limitada, en otros países de Europa Oriental; además en Francia, Irlanda, Australia, Nueva Zelanda y muchos otros países por varias décadas (37).

La aplicación de la IA a la especie ovina se ha visto obstaculizada por la anatomía del cervix de la hembra. El canal cervical de la borrega es angosto y tortuoso. Para fines prácticos, esto ha limitado la deposición de semen a su entrada (51,54,55,58,97). Esto a su vez limita la utilización de semen congelado en la especie ovina, ya que de no efectuarse una inseminación intrauterina, la fertilidad obtenida con semen congelado resulta inaceptablemente baja (76,80,81).

Existen otras razones por las cuales la IA en ovinos no ha tenido la misma aceptación generalizada que en otras especies, como la bovina. A menudo, el costo de poner en práctica un programa de IA supera el beneficio económico en una industria como la ovina, que frecuentemente opera con márgenes de ganancia pequeños. La baja fertilidad obtenida con semen congelado también ha sido un factor limitante importante. Sin embargo, recientes avances técnicos han mejorado la eficiencia de la IA en ovinos (40).

Los productores interesados en hacer uso de la técnica deberán evaluar detalladamente sus objetivos, esperanzas, costos probables y beneficios potenciales, ya que como cualquier otra tecnología, la IA conlleva tanto ventajas como desventajas (35,82).

Mediante la IA se han logrado, y aun quedan por lograrse, grandes avances en lo referente al control reproductivo del ganado ovino. Sin embargo, el potencial y la aplicación de la IA se han visto limitados por ciertos factores intrínsecos a la implementación de programas de IA, como son la incapacidad de reproducir fielmente todos los aspectos presentes en un

apareamiento natural, la detección de calores, la utilización de registros y el gasto económico que pudiera representar el programa (37,40,82).

El presente trabajo tiene la finalidad de reunir y proporcionar la información bibliográfica más actualizada sobre el tema de la IA en ovinos, para que de esta manera pueda ser consultada por estudiantes, docentes y productores.

II. CARACTERISTICAS REPRODUCTIVAS DE LA HEMBRA

Se considera a la borrega como una hembra poliéstrica estacional, siendo su estacionalidad mucho más marcada que la del macho. La presentación del estro es dependiente del fotoperíodo; teniendo un efecto inhibitorio los días largos y un efecto estimulante los días cortos (16,65).

La duración del ciclo estral es de 17 días en promedio, siendo normal el rango de 14 a 20 días; y la duración del estro es de 30 horas (32,99,110). Este período generalmente se acorta en hembras primerizas y hembras viejas multiparas; así mismo, factores de estrés también pueden reducir el período (32). En términos generales, las hembras primerizas tienen una eficiencia repoductiva inferior a la de hembras maduras (34).

Como ya se explicó, el hecho de que la concentración espermática en las dosis de inseminación en ovinos sea tan elevada, y de que existan tantas técnicas de inseminación diferentes, se debe principalmente a lo dificultoso que resulta el cervix de la hembra al paso del semen y los instrumentos de inseminación (109).

Así mismo, el desarrollo de un programa de IA con semen congelado que resulte práctico y comercial depende de la existencia de una técnica para depositar semen en el útero a través del cervix; un obstáculo, entonces, es la presencia de anillos cervicales, que son excéntricos y que están espaciados a intervalos irregulares. El canal cervical consta de 3 porciones distintas: la sección caudal, con forma de manguera y que constituye la entrada al primer anillo, la sección cen-

tral, donde se concentran los anillos más grandes y que termina aproximadamente en el punto medio; y la sección craneal, que llega hasta el útero y donde los anillos son más pequeños y menos bien definidos (51).

Por si fuera poco, la vagina de la borrega presenta pliegues vaginales que producen espacios ciegos alrededor de la apertura cervical. El reconocer los patrones vaginales es importante para introducir la pipeta de inseminación en la os cervical (51). Parece ser que el número de pliegues aumenta con la edad.

Al parecer, no hay diferencias notables entre los tipos de os con respecto a la longitud del cervix, el número de anillos presentes, o el diámetro de los puntos más ancho y más angosto (51). Tampoco se ha podido encontrar una asociación entre tipos de os y medidas del canal cervical, por lo cual un inseminador no podrá usar los tipos de os para pronosticar diferencias en longitud, número de anillos o punto más angosto del canal cervical de las hembras a inseminar; tampoco se sabe que el peso, la edad o el número de partos tengan alguna correlación con la longitud del cervix o el número de anillos que presente (51,60).

Se intentó una clasificación sencilla de los tipos de os cervical para procurar simplificar el paso de los instrumentos de inseminación por ese primer obstáculo. La clasificación, tras observar el tracto reproductivo de 100 hembras en estro fue la siguiente: En forma de roseta, que consiste en un manojo de pliegues vaginales, y que representó el 35% del total;

de pliegue sencillo (un solo pliegue vaginal), 35% del total; de pico de pato, dos pliegues vaginales encontrados, 15%; y en espiral, con tejido vaginal enroscado, el 15% restante (51).

En un estudio se intentó atravesar el cervix de la oveja con tres instrumentos diferentes; una aguja flexible, una aguja hipodérmica corta y una aguja hipodérmica larga, para ver si era posible depositar semen en el útero. Se observó que entre más anillos tenía el cervix, más se dificultaba el paso a través de él. Independientemente de esto, los porcentajes de éxito para atravesar el cervix con dichos instrumentos fueron nulos (92).

Además de lo anterior, existen diferencias en las características fisiológicas de las hembras, que llevan a variaciones en los requerimientos de semen. De igual manera, existen varios factores que influencían el desempeño reproductivo de las hembras como serían factores instrínsecos (edad y raza), y extrínsecos (nutrición y fotoperíodo) (21,22).

Cuadro I.

Medias ± desviaciones estandar para longitud cervical y numero de anillos cervicales. Porcentaje de tipos de os cervical en diferentes razas ovinas.

Raza	n	Longitud cervical (cm)	No. de anillos	Tipo de os: Pico de pato (%)	Roseta (%)	Pliegue (%)	Espiral (%)
Suffolk	53	6.6 ± 1.1	4.8 ± 1.0	17	34	45	4
Cheviot	8	7.3 ± 0.6	5.6 ± 0.5	25	75	0	0
Suffolk Cruza	6	7.0 ± 1.2	4.7 ± 0.8	0	50	38	12
Dorset	5	6.7 ± 0.8	4.6 ± 0.9	20	40	20	20
Leicester	4	7.1 ± 1.1	4.8 ± 1.0	0	50	50	0
Clun Forest	2	6.3 ± 0.1	4.0 ± 0.0	100	0		0
Hampshire Cruza	1	4.7	5.0	0	0		0
Total	79						

Tomado de Halbert et. al. (51)

Os cervical externa en forma de roseta; manojo de pliegues vaginales (51)

Os cervical externa en espiral; tejido vaginal enroscado (51)

Os cervical externa tipo pico de pato; dos pliegues vaginales (51)

Os cervical externa de pliegue unico (51)

III. EVALUACION DEL SEMENTAL

El papel del semental dentro de las explotaciones ovinas es de gran importancia, ya que su capacidad reproductiva será determinante en el aprovechamiento de las hembras que ahí se encuentren. Aquel semental cuyas características reproductivas sean ineficientes repercutirá negativamente en todos los parámetros del rebaño, independientemente de la calidad de los vientres que se tengan. Por ello, antes de incluir a un macho en un programa de empadre, ya sea por IA o monta natural, es necesario evaluar su capacidad reproductiva. El examen para determinar si un macho puede ser usado como semental comprende los siguientes puntos importantes: 1) examen clínico general, 2) de enfermedades específicas, 3) de los órganos genitales, 4) evaluación de la libido y 5) evaluación del semen (19,40).

1) En este punto se obtiene información necesaria para determinar si el animal se encuentra en buen estado de salud, ya que un animal enfermo no sólo amenaza la salud del rebaño, sino que posiblemente tendrá reducida su actividad reproductiva. El examen clínico del semental se inicia por la anamnesis, en que se busca conocer la fertilidad anterior del animal, la de sus padres, y el por qué de la evaluación (ya sea porque se sospecha de infertilidad o de alguna enfermedad). De esta manera quedarán al descubierto alteraciones que pudieran afectar la capacidad reproductiva en forma temporal o permanente. Es de particular importancia constatar el buen funcionamiento del sistema locomotor, ya que la cópula depende en gran parte de los miembros, tanto anteriores como posteriores. Además, el

examen clínico deberá contener la historia clínica, que incluirá tratamientos, vacunaciones, desparasitaciones, historia reproductiva y observaciones (19,20,40).

2) En el examen de enfermedades específicas se busca determinar la presencia o ausencia de agentes infecciosos o parasitarios. Deberá prestarse especial atención a las enfermedades de tipo reproductivo, que en el caso de los ovinos serían tricomoniasis, brucelosis, campylobacteriosis y tuberculosis. Suponiendo que el semental resultara positivo a alguna de estas enfermedades, deberá ser eliminado como reproductor hasta recuperarse del proceso, o ser eliminado definitivamente del rebaño. Debe mencionarse que una de las ventajas de la IA es la prevención y control de enfermedades, ya que al eliminarse el contacto directo macho-hembra se previene la diseminación de enfermedades venéreas y de otros tipos (35,40).

3) En el examen de los órganos genitales, sólo es posible revisar su aspecto exterior, debido a la talla que tienen en el ovino.

Primeramente se observarán los testículos para confirmar que hayan descendido al escroto y verificar que sean simétricos entre sí. Tras la apreciación visual se procede a la palpación para conocer la consistencia testicular y su grado de deslizamiento en el escroto. La consistencia testicular se ve alterada en procesos inflamatorios y degenerativos, así como en casos de hipoplasia, mientras que el deslizamiento dentro del escroto puede verse afectado por la presencia de adherencias (19,40).

El epidídimo se palpa en sus tres porciones (cuerpo, cabeza

y cola), para conocer su volumen, y posible dilatación o inflamación. Los cordones espermáticos se palpan para establecer comparaciones entre ellos y determinar alguna asimetría (19).

En cuanto al prepucio, deberá confirmarse que el orificio no sea tan estrecho como para obstaculizar la exteriorización del pene. Este último puede palparse a través de la piel para determinar la presencia de estructuras anormales, como serían tumores.

Por su parte, el ducto deferente deberá ser duro y facil de palpar. Otra estructura importante a revisar es el proceso uretral, ya que resulta fácilmente dañado durante la trasquila, o como resultado de cálculos urinarios. Aquellos animales con defectos tales como criptorquidismo, hipoplasia testicular, espermiostasis o varicocele deberán ser excluidos del programa de inseminación (40).

La palpación de las estructuras mencionadas debe ser indolora, por lo cual la manifestación de dolor puede considerarse como indicativa de un proceso inflamatorio.

4) Un factor que a menudo se descuida al seleccionar sementales es su capacidad de dar servicio y su vigor sexual, es decir, su libido. Esta puede conocerse mediante una prueba de servicio, en la cual el macho es presentado con hembras en estro. El no montar puede deberse a daños físicos como artritis, o lesiones en las patas o en el pene, lo cual deberá diferenciarse de una libido deficiente (17,91).

En el carnero se han utilizado diferentes métodos para evaluar la libido, siendo los más utilizados el tiempo de reacción (tiempo transcurrido desde que el carnero es sometido a

un estímulo adecuado, como una hembra en estro, y el momento en que ocurre la primera cópula), el número de servicios por parte del macho en un período determinado, y el llamado "puntaje" de la libido. En este último se califica al animal de acuerdo a una escala que va del 0 al 10. El 0 corresponde a animales que no muestran interés sexual; el 1 que mostraron interés sexual una vez; 2, que mostró franco interés sexual en la hembra en más de una ocasión; 3, búsqueda activa de la hembra con interés sexual persistente; 4, una monta o intento de monta, sin dar servicio; 5, dos montas, o intentos de monta, sin dar servicio; 6, más de dos montas o intentos de monta, sin dar servicio; 7, un servicio seguido de pérdida del interés sexual; 8, un servicio seguido de interés sexual incluyendo montas o intentos de montar; 9, dos servicios seguidos de una pérdida del interés sexual; 10, dos servicios seguidos de interés sexual, incluyendo montas, intentos de montar o más servicios (20,24). Esta prueba se realiza en un período de cinco minutos.

5) Finalmente, es de gran importancia que el semental produzca semen de buena calidad y en cantidad suficiente. En cuanto a la evaluación del semen existen muy diversas pruebas y procedimientos.

Cabe recordar que la fertilidad, y probablemente la prolificidad de las hembras, está influenciada por las características del semen que reciben, pero que los requerimientos absolutos para asegurar una fertilidad máxima varían (22).

Después de su recolección, deberá ser evaluada cuidadosamente la calidad y cantidad de cada uno de los eyaculados. Así

mismo, se requiere de un manejo delicado para no disminuir la viabilidad del semen. Esto implica evitar condiciones desfavorables durante y después de la recolección: Todo el equipo utilizado en la recolección del semen debe estar limpio, esteril, seco y a una temperatura no menor de 30°C (40).

Los eyaculados varían en cuanto a calidad y cantidad. La cantidad de espermatozoides por eyaculado depende del volumen y la concentración del semen; mientras que en la calidad se consideran características como motilidad y morfología de los espermatozoides. Las pruebas para la evaluación del eyaculado se dividen en: 1) macroscópicas, en que se valoran volumen, olor y color (todas a evaluarse lo antes posible tras la recolección); 2) microscópicas, en que se ven movimiento, concentración, morfología, porcentaje de espermatozoides vivos, muertos y anormales, y pureza; 3) biológicas, que evalúan porcentaje de preñez, resistencia del espermatozoide y viabilidad; y 4) bioquímicas, que consideran el coeficiente respiratorio, Índice de fructólisis, poder deshidrogenante y acidez, entre otras (14,40).

1) El volumen promedio del eyaculado recolectado en vagina artificial es de 1 ml., y con electroeyaculador de 0.5 a 1.0 ml., dependiendo en ambos casos de la edad y estado del animal, la frecuencia de recolección y la habilidad del operador (40,79).

El color normal del semen (recién obtenido) deberá ser blanco cremoso, mientras que se habla de que tiene un olor característico, que se percibirá de manera diferente en caso de que la muestra esté contaminada con orina (40).

2) En cuanto a movimiento se observan el movimiento en masa y el movimiento progresivo, que generalmente se evaluan al poner una gota de semen sobre una laminilla que se observará a 40 o 100 aumentos. Para el movimiento en masa se fija un tabulador subjetivo que va del 0 al 5, correspondiendo el 0 a semen muerto y el 5 a semen de muy buena calidad (movimiento muy notorio), en que se consideraría que 90% o más de los espermatozoides son activos. El 4 equivale a semen de buena calidad (70-85% de las células son activas); 3 = semen regular (45-65% de las células son activas); 2 = semen pobre (sólo 20-40% de las células están vivas y su motilidad es pobre); 1 = muy pobre (sólo alrededor del 10% de las células están vivas); 0 = muerto (los espermatozoides son inmóviles). Las muestras con 4 o 5 de calificación pueden utilizarse para IA, mientras que aquellas con 3 o menos deberán ser descartadas ya que reducirán la fertilidad (40).

La cuantificación de espermatozoides móviles se hace en muestras que fueron diluidas, pudiendo resultar una motilidad disminuida tras su almacenamiento. Aquí se observa la proporción de espermatozoides con movimiento progresivo, es decir, el porcentaje de espermatozoides de la muestra que se mueven hacia adelante en la laminilla (40).

La concentración de espermatozoides se refiere al número de éstos por unidad de volumen (ml), y de ella dependerá el índice de dilución. El semen de carnero de buena calidad contiene en promedio 3.5 a 6 mil millones de espermatozoides/ml. La concentración puede determinarse con base en la consistencia (a nivel de campo), en que una puntuación de 5 corresponde a

cremoso espeso; 4 a cremoso; 3 a cremoso delgado; 2 a lechoso; 1 a nublado; y 0 a transparente. Para hacer evaluaciones más específicas se usan el hemocitómetro (donde se cuantifica el número de espermatozoides en una muestra de tamaño definido para luego calcular el total del eyaculado), y el colorímetro, que se basa en la cantidad de luz que pasa a través de una muestra (40).

La examinación morfológica del semen es una prueba detallada de la calidad del semen. Todo eyaculado contiene algunos espermatozoides anormales, y es de esperarse que muestras con una elevada proporción de éstos resulten en una baja fertilidad. Resulta impráctico examinar de esta manera todos los eyaculados dentro de un programa de IA, sin embargo es recomendable hacer muestreos periódicos del pie de cría y siempre a animales nuevos que ingresen al hato con fines reproductivos.

Para la evaluación morfológica del semen se usa la tinción de eosina-nigrosina, que permite observar anormalidades como son espermatozoides decapitados, macrocefálicos, microcefálicos, de cola enroscada, cabeza alargada, cuello o cola rota y acrosoma anormal. Las muestras de semen con más de 15% de anormalidades totales no deberán utilizarse para IA (40).

3) En lo que respecta a las pruebas biológicas, tomando en cuenta las técnicas de inseminación actualmente disponibles, la evaluación más significativa de la calidad del semen es la proporción de hembras que paren como resultado de una inseminación con un número determinado de espermatozoides. No obstante, este tipo de evaluación es laboriosa por el número de hembras requerido, ademas de tener un valor práctico limitado,

ya que la calidad del semen sólo se conocerá un tiempo después de haber sido utilizado. De tal manera que se ha desarrollado la rutina de examinar las características antes mencionadas del semen con miras a pronosticar la fertilidad que podría resultar de su uso. Las relaciones entre las características medidas y la fertilidad resultan mejor evaluadas tras la IA, donde pueden estandarizarse el número de espermatozoides inseminados y el número y tiempo de las inseminaciones (22).

Es posible, e incluso probable, que existan diferencias en la calidad del semen que no puedan detectarse mediante las técnicas actuales disponibles, por lo cual es recomendable evaluarlo directamente a través de la inseminación de hembras cuando quiera que esto sea práctico (22).

4) Existen numerosas pruebas bioquímicas para conocer la calidad del semen, que aún no se evalúan en el carnero. Incluyen pruebas metabólicas como índice de fructólisis o tiempo de reducción del azul de metileno, y técnicas para examinar la estructura y función de los acrosomas. Al aplicarse al semen de toro, estas pruebas no proporcionaron más información sobre la fertilidad del semen que otras pruebas más sencillas como las relacionadas con motilidad (89).

Una prueba reciente es aquella en que se miden los cambios en el nivel de fructosa seminal. Se ha visto que dichos cambios son paralelos a los cambios en el nivel de la testosterona, por lo cual conociendo los niveles de fructosa en el semen podrá estimarse la actividad androgénica del animal. Algunos autores encontraron que el cambio de días largos a días cortos indujo un incremento en el nivel de fructosa de 2.6 a 5.7

mg/ml^{-1} , correspondiente a un aumento en el nivel de testosterona. Lo inverso ocurrió al cambiar de días cortos a largos (73).

Recientemente, han comenzado a utilizarse nuevas técnicas como el ultrasonido para determinar la funcionalidad del semental. Mediante el ultrasonido se ha logrado determinar con precisión la circunferencia escrotal, lo cual resulta de utilidad al saber que existe una correlación positiva entre dicha circumferencia y la motilidad del semen, así como una correlación negativa entre la circunferencia escrotal y el porcentaje de anormalidades morfológicas del semen; es decir, a menor circunferencia escrotal, mayor proporción de espermatozoides morfologicamente anormales (23,87).

El tamaño testicular también constituye un buen indicio de la producción espermática testicular en machos de varias especies, y es también susceptible de ser medido a través del ultrasonido.

IV. EFECTO DE FACTORES EXTRINSECOS SOBRE LA REPRODUCCION

Aquellos factores que afectan a todos los sementales dentro del rebaño son los que tendrán mayor impacto sobre la fertilidad del mismo. Estos incluyen factores ambientales como temperatura, fotoperíodo y nutrición. Las investigaciones en esta área son difíciles, ya que dichos factores también pueden estar afectando a las hembras. Por tanto puede dificultarse el establecer si el efecto de dichos factores sobre la fertilidad de las hembras se debe a su efecto directo sobre éstas, o si

está mediado por el efecto sobre los machos (22).

4.1 TEMPERATURA

Se ha visto que ciertos factores medioambientales como las temperaturas extremas y la lluvia afectan negativamente la capacidad reproductiva de los carneros, ya que ambas condiciones predisponen a períodos de inactividad sexual prolongados (42, 59).

Es posible inducir un deterioro severo en las características seminales, con la concomitante reducción en fertilidad, al colocar a sementales en cuartos calientes (22). Así mismo, se sabe que durante períodos de temperaturas elevadas, tanto machos como hembras buscarán la sombra. Esto favorece la dispersión del rebaño, con lo cual se reduce el contacto sexual entre los animales (24,42).

Con la IA, que generalmente se realiza bajo condiciones controladas, se elimina así otro factor que puede resultar detrimental a la reproducción ovina.

4.2 FOTOPERIODO

Es bien conocido que los ovinos responden de manera inversa a la duración de horas luz. Es decir, su actividad reproductiva se incrementa como respuesta al acortamiento de horas luz (28,30,31).

La actividad testicular del semental ovino está profundamente influenciada por los cambios en el fotoperíodo. Este influencía no sólo el tamaño de los testículos, sino también la calidad del semen. El volumen y la motilidad seminal tienden a incrementarse a medida que se aproxima la temporada de aparea-

miento. La exposición a días largos (mayor cantidad de horas luz) produce regresión testicular, y una correspondiente reducción en la calidad del semen, mientras que los días cortos corresponden a incrementos en circunferencia escrotal y calidad del semen (motilidad y volumen) (18,74,77,89,116).

Los días en que el fotoperíodo es decreciente inician el desarrollo testicular al estimular la secreción de la hormona folículo-estimulante (FSH) y luteinizante (LH), las cuales a su vez inducen la secreción de testosterona. Los días de fotoperíodo creciente inducen la regresión testicular al inhibir la secreción de gonadotropina, y por ende, la secreción de testosterona (75).

Se ha encontrado que cuando la temperatura ambiental es constante, la exposición a días cortos continuos elimina la depresión estacional de la función testicular, manteniéndose niveles elevados de testosterona y altos índices de espermatozoides móviles por eyaculado (73).

Con esto podría pensarse que al fijar artificialmente condiciones de fotoperíodo corto se mantendría una adecuada función testicular y buena calidad seminal, para eliminar así la depresión estacional en la producción espermatica. Sin embargo, se ha visto que los testículos de carneros mantenidos bajo un fotoperíodo constante presentan ciclos espontáneos de desarrollo y regresión. En un experimento se expuso a un grupo de carneros a un régimen de fotoperíodo largo (16 horas luz y 8 de oscuridad por día). Como era de esperarse, se presentó una regresión testicular (después de 12 semanas); pero al prolongar estas condiciones por 16 semanas, se observó que los tes-

tículos comenzaban a desarrollarse nuevamente de manera espontánea. Esto indica que aunque los fotoperíodos largos inhiben la función reproductiva, dicho efecto se pierde tras un determinado tiempo (6,63).

Viendo esto puede concluirse que los carneros muestran una fotorefractariedad reproductiva, ya que los cambios en la actividad testicular se manifiestan independientemente del fotoperíodo (6).

En aquellas razas muy influenciadas por el fotoperíodo, como la Ile-de- France o Suffolk, las características seminales tienden a ser mejores en el otoño que en la primavera, y existen pruebas de que el fotoperíodo también afecta la fertilidad de los sementales en estas razas. Estos efectos fotoperiódicos están mediados a través de la liberación de melatonina. Incluso se ha visto que los tratamientos con implantes de melatonina pueden considerarse como una alternativa a la fotoestimulación para la preparación de carneros fuera de la temporada reproductiva (6,7,16,48,53,77,115).

El tratamiento consiste en la aplicación de implantes de liberación lenta (aplicados subcutaneamente en la base de la oreja) con 18 mg. de melatonina a intervalos de 5 semanas (53).

Así mismo se han aplicado implantes de melatonina en borregas, lo cual resultó en en que 93.3% y 100% de las hembras tratadas (con dosis de 0.33 mg./día y 0.66 mg./día) e inseminadas naturalmente quedaran gestantes, comparado con 80% para el grupo control. De igual manera, el número de corderos nacidos vivos por hembra gestante fue de 1.92 y 2.0 en las borre-

gas tratadas, comparado con 1.88 para las del grupo control (33).

También se logró adelantar la época de empadre en las hembras tratadas a partir de la aplicación de los implantes, a 88.8 y 87.3 días respectivamente en las hembras tratadas, comparado con 108 días en las del grupo control (33).

No se han observado efectos detrimentales con respecto a la duración de los ciclos estrales, número de cuerpos lúteos y supervivencia embrionaria en borregas tratadas con melatonina (33,53).

A pesar del importante efecto que ejerce el fotoperíodo sobre el peso testicular de los carneros, la influencia de la nutrición sobre ellos es aún mayor. La manipulación en la ingestión de proteína y energía de los sementales puede tener efectos significativos sobre su producción de espermatozoides (22).

Bajo condiciones de apareamiento natural, la capacidad de los sementales de proporcionar a las hembras un número adecuado de espermatozoides depende de la frecuencia con que sirven a las borregas y el número de espermatozoides por eyaculado (96).

A este respecto se ha encontrado que los carneros manifiestan preferencias por ciertas hembras en estro, por lo cual la distribución de espermatozoides entre aquellas que estén en celo será desigual, y en algunas incluso no se alcanzarán niveles adecuados para garantizar la fertilización. Asimismo, la jerarquía que se establece entre carneros implica que sólo los

dominantes inseminarán a las hembras en calor, existiendo la posibilidad de que dicho semental no sea el más fértil de los presentes (103,105).

En estos casos, de existir un problema de infertilidad en el rebaño, éste puede no detectarse hasta muy entrada la época de empadre. En los rebaños grandes, la infertilidad generalmente no se detecta sino hasta después de la época de partos, y a veces ni entonces, si se trata de un problema pequeño y no hay buenos registros. Con la IA se elimina la cuestión de jerarquías entre machos y el riesgo potencial de sementales infértiles (24,88).

V. RECOLECCION DE SEMEN

Existen 2 métodos para la recolección de semen en los ovinos; mediante la vagina artificial y por medio de la estimulación eléctrica (43). Se prefiere más el primero por ser rápido y sencillo, no estresar al macho, y por obtenerse de él un semen de mejor calidad. La frecuencia de las recolecciones que se hagan mediante la vagina artificial depende de la edad, temperamento y condición del animal. Aunque los carneros son capaces de montar y eyacular 10, 15 o más veces en un día, con cada eyaculado disminuyen el volumen y la concentración de semen (9). Para obtener semen de buena cantidad y calidad se ha visto que un régimen de 3 a 5 recolecciones diarias por períodos de 4 a 5 días, con 2 a 3 días de descanso entre ellos, da buenos resultados (40,103).

La estimulación eléctrica puede usarse al requerirse semen de un macho que no pueda ser entrenado a usar la vagina arti-

ficial (generalmente por tener algun impedimento físico). Tiene las desventajas de ser muy incómodo para el animal, no pueden hacerse recolecciones frecuentes, y el semen puede contaminarse con orina durante su obtención. El semen recolectado por este método generalmente es de mayor volumen pero de menor concentración que el recolectado con vagina artificial. Sin embargo, la estimulación eléctrica sí es útil para probar la fertilidad de un número grande de machos (40,79).

5.1 Vagina Artificial

La vagina artificial es el método preferido para la recolección del semen. Los machos seleccionados deberán ser entrenados para eyacular dentro de ella. El entrenamiento de los sementales deberá comenzar de 2 a 3 semanas antes que el programa de inseminación; tiempo suficiente para que dicho entrenamiento sea adecuado, para que pueda evaluarse el semen a utilizar, y para reemplazar a machos ineficientes. El momento óptimo para realizar el entrenamiento es en la temporada de apareamiento, ya que el impulso sexual está a su máximo, además de tenerse la presencia de hembras en estro que pueden servir de estímulo al carnero (40).

La vagina artificial es una imitación de la vagina de la borrega y proporciona estimulación térmica (temperatura) y mecánica (presión) al pene erecto del semental, ambas necesarias para provocar la eyaculación. Consta de un tubo exterior (20 cm. x 5.5 cm) de hule, plástico u otro material sintético con buenas propiedades aislantes, y un forro interno de hule u otro material sintético adecuado, como el latex. El forro in-

terno debera rebasar en 2 a 3 cm al forro exterior para poder doblarse sobre el mismo y asegurarse en los extremos con ligas, para formar un compartimiento hermético. El forro interno debe estar bien estirado para formar una superficie completamente lisa, sin arrugas. Asimismo, no deberá tener rugas (40).

El espacio entre el tubo externo y el forro interno se llena a la mitad con agua a 48-50°C. En uno de los extremos, el forro es lubricado con vaselina hasta una profundidad de no más de 3 cm. En el otro extremo se introduce un tubo de ensayo estéril a una profundidad de 1.5 a 2 cm. La vagina deberá inflarse con aire a través de la llave, de tal manera que ejerza presión, pero sin obstaculizar la entrada del pene (40).

La temperatura de la vagina en el instante previo a la recolección de semen debe ser de 42-45°C, lo cual puede ser verificado con un termómetro. El recipiente usado para recibir el eyaculado deberá ser precalentado a 30-37°C para evitar daño a los espermatozoides (40).

En cuanto a la predisposición del macho, se ha visto que la inmovilización de la hembra constituye el mayor estímulo al comportamiento copulatorio del carnero. Las feromonas sexuales no son tan importantes en el ovino como en otras especies domésticas, ya que se sabe que incluso carneros anósmicos son capaces de detectar a las hembras en estro tan eficientemente como machos intactos. Así, para estimular a montar al semental se usa un maniquí o una hembra en calor atada a un potro (24).

5.2 Electroeyaculador

Existen diferentes tipos de estimuladores eléctricos, sien-

do los más utilizados los electrodos rectales bipolares, en los cuales los estímulos son de 10 o 15 volts (15 en caso de que el recto del carnero esté reseco). El instrumento se lubrica e inserta en el recto del animal a una profundidad de 15-20 cm. Debe extenderse el pene mediante el enderezamiento de la flexura sigmoidea. Se utilizan estímulos cortos (3-8 segundos) a intervalos de 15-20 segundos. A pesar de la incomodidad y contracturas musculares que se presentan, no hay daños permanentes, no obstante se ha concluído que los eyaculados naturales son preferibles como indicadores de producción de semen y fertilidad potencial, pues la variabilidad de la respuesta a la electroeyaculación constituye un problema, y la mayoría de los ovinos responden desfavorablemente al uso de estímulos eléctricos en su manejo (10,40,79,100,106).

La implementación de un programa de IA implica un manejo intensivo, que a su vez requerirá de períodos reproductivos más cortos y por tanto una mayor frecuencia eyaculatoria de los sementales para cargar más hembras, particularmente cuando el estro es sincronizado. Al respecto se encontró que eyaculaciones sucesivas afectan la cantidad mas no la calidad del eyaculado. La fertilidad de los eyaculados, en base a los índices de partos de las hembras inseminadas, fuera natural o artificialmente, no se vio afectada por una frecuencia de cinco eyaculados diarios por 17 días consecutivos. Con este gran potencial reproductivo de los carneros, se hacen aún más patentes las ventajas de la IA (9).

VI. DILUCION DEL SEMEN

Esta se realiza por razones técnicas y biológicas. Las razones técnicas se refieren a que bajo condiciones de apareamiento natural, el macho deposita varios miles de millones de espermatozoides en la vagina de la hembra, de los cuales sólo 100 a 140 millones penetran al cervix. Al usar la IA, tanto el volumen como el número de espermatozoides por inseminado pueden reducirse en comparación con una monta natural, lo cual permite inseminar un número relativamente grande de hembras con un solo eyaculado (29,40,103).

En la IA de hembras en estro natural con semen fresco se habla de dosis con 100-125 millones de espermatozoides totales (cifra que aumenta a 200 millones en hembras tratadas con progestágenos) independientemente de si se trata de inseminación cervical o intrauterina, para asegurar un nivel de fertilidad normal (50-70%) (35,66,82). En el caso de usar semen congelado, las dosis generalmente son mayores (400 millones de espermatozoides) (35), debido al efecto detrimental de la congelación sobre la viabilidad espermática. El volumen recomendado para IA cervical e intrauterina con semen fresco es de 0.05-0.20 ml; mientras que para la inseminación vaginal se recomiendan dosis mayores (0.30 a 0.50 ml.) (37,40,82).

Las razones biológicas para la dilución del semen tienen que ver con proporcionar nutrientes a los espermatozoides, protegerlos contra cambios de pH, y proporcionar un medio isotónico. Además, se protege a los espermatozoides contra shock hipotérmico en caso de ser enfriados para su almacenamiento a

corto plazo, o congelados para su uso futuro (40).

En el caso de IA cervical o vaginal, los diluyentes sintéticos más utilizados contienen hidroximetil aminometano (tris), o citrato como buffers, glucosa o fructosa como fuente de energía, y yema de huevo para proteger la membrana celular del espermatozoide contra cambios de temperatura. A continuación se presentan dos diluyentes sintéticos para la conservación de semen fresco:

Diluyente yema de huevo-tris-fructosa

Tris (hidroximetil aminometano) (g)	3.634
Fructosa (g)	0.50
Acido cítrico (monohidrato) (g)	1.99
Yema de huevo (ml)	14
Agua destilada cbp	100 ml

Diluyente yema de huevo-glucosa-citrato

Citrato de sodio (2H 0)(g)	2.37
Glucosa (g)	0.80
Yema de huevo (ml)	20
Agua destilada cbp	100 ml

Evans, G. y Maxwell, W.M.C. 1988

En el caso de inseminación intrauterina se recomienda el diluyente alternativo PBS (salina fosfato buferada) con inclusión de antibióticos, ya que no se considera conveniente in-

yectar una proteína extraña (presente en la yema de huevo) al lumen uterino, a través de la pared del útero (37).

Existe ya una preparación comercial, Dulbeco PBS, a la cual se recomienda añadir 1000 UI de penicilina sódica y 1 mg de sulfato de estreptomicina (40).

Bajo condiciones de campo, el diluyente más disponible es la leche de vaca, que puede utilizarse entera, descremada o reconstituida. Deberá calentarse a 92-95°C por 8-10 minutos para inactivar los factores tóxicos en su fracción proteica, mas no debe hervirse. Cabe recordar que en cualquiera de los casos mencionados, el diluyente siempre deberá agregarse al semen, y no a la inversa, ya que esto puede provocar shock a los espermatozoides y reducir su motilidad (35,37,82).

Antes de diluir el semen, deberán determinarse el volumen del inseminado y el número de espermatozoides. En cuanto al volumen, el límite inferior está determinado por el volumen mínimo que pueda manejarse con conveniencia y precisión. El límite superior lo determina la capacidad del órgano o sitio de inseminación de retener el semen. Para inseminación vaginal se recomiendan de 0.30 a 0.50 ml., para la cervical 0.05-0.20 ml., y para la intrauterina 0.05-0.10 ml. (29,40,50,62,66,70, 84,86,97,98,114).

En cuanto al número de espermatozoides por inseminado, deberán tomarse en cuenta el sitio de deposición del semen, si la inseminación es o no quirúrgica, y el tipo de semen usado (fresco, almacenamiento liquido frío, o congelado).

Cuadro 2. Número mínimo de espermatozoides de carnero (en millones) requerido para asegurar una fertilidad adecuada en la borrega.

	TIPO DE SEMEN		
Tipo de inseminación	Fresco	Almacenamiento frío (líquido)	Congelado
Inseminación vaginal	300	ineficiente	ineficiente
Inseminación cervical	100	150	180
Inseminacion intrauterina (transcervical-no quirúrgica)	400	150	150
Inseminacion intrauterina (por laparoscopía-quirúrgica)	20	20	20

Con datos de: (39,40,50,52,78,80,81).

Como puede verse, la IA en ovinos requiere de un número mucho mayor de espermatozoides que en otras especies domésticas. Esto se debe a la anatomía del cervix de la borrega, que es angosto y tortuoso, por lo cual en él quedan atrapados gran cantidad de espermatozoides que no logran pasar al útero (51, 57,58).

VII. PRESERVACION DEL SEMEN

El almacenamiento exitoso del semen permite un uso más generalizado de sementales y la preservación de material genético para uso futuro. En el siglo XIX se realizaron varios estudios sobre diversos medios y métodos para la conservación del semen. Sin embargo, fue la labor de Ivanov en 1907 (62) sobre

medios sintéticos para la dilución de espermatozoides, que llevó al desarrollo en gran escala de la IA en los animales domésticos, principalmente en la Unión Soviética. La IA en bovinos y ovinos se basó más que nada en diluyentes de fosfato buferados, donde el semen era diluido y mantenido a 30°C hasta por una hora antes de ser usado (82).

La conservación de semen tiene la finalidad de prolongar la capacidad fertilizadora de los espermatozoides al detener o disminuir su motilidad y reacciones metabólicas. El semen de carnero puede conservarse en forma líquida, para su utilización a corto plazo, o congelarse para usarse en el largo plazo (8,40).

En ambos casos es posible prolongar la vida de los espermatozoides por varios días, aunque el período en que se mantiene la capacidad fertilizadora de las células germinales es menor que su período de viabilidad (37,40,76,80,81,82,98).

7.1 Almacenamiento líquido (a corto plazo):

El método consiste en disminuir la temperatura del semen diluido de 30°C (temperatura de dilución) a 15°C o, más comunmente, a 5°C, manteniéndolo a estas temperaturas hasta su utilización. Los diluyentes más utilizados en el caso de semen refrigerado son yema de huevo-tris-fructosa, yema-glucosa-citrato o leche de vaca. Con ellos se busca proteger a los espermatozoides contra shock hipotérmico al enfriarlos (3,11,26, 47,102,108).

Para controlar el crecimiento microbiano, deben añadirse 1,000 UI de penicilina sódica y 1 mg. de sulfato de estrepto-

micina a cada mililitro de diluyente (40).

El enfriamiento para alcanzar los 15 o 5°C deberá hacerse de manera gradual en 1-1.5 horas y 2-3 horas respectivamente. Cuando la temperatura de refrigeración es de 5°C, deberá cuidarse que ésta se mantenga durante todo el almacenamiento, ya que a temperaturas mayores no se logra una inhibición adecuada de la motilidad y el metabolismo espermático (26,40,102,108).

La motilidad de los espermatozoides puede mantenerse durante varios días a 5°C, no obstante su fertilidad disminuye a razón de 10-35% por día de almacenamiento. El período máximo de almacenamiento con el cual es posible obtener niveles máximos de fertilidad con inseminación cervical es de 24 horas. El semen refrigerado a 15°C deberá inseminarse de 6-12 horas de obtenido (40).

La principal causa de disminución de la fertilidad del semen refrigerado parece ser la obstaculización en su transporte del cervix al sitio de fertilización (oviducto). Se ha visto que el cervix es el sitio inicial en la inhibición del transporte espermático en las borregas, sin considerar lo ya dificultoso que resulta para los espermatozoides atravesarlo, dada su tortuosidad. Si a esto añadimos el hecho de la viabilidad disminuida del semen refrigerado, los niveles de fertilidad disminuyen considerablemente. Es por esto que se han utilizado diversos compuestos, que ya sea añadidos al semen inseminado, o inyectados a la hembra cerca del momento de inseminación, incrementan el numero de espermatozoides recuperados posteriormente de los oviductos. Estos compuestos incluyen prostaglandina E y F2alfa, y estradiol 17-beta (1,2,4,55,58,64).

Recientemente, en Nueva Zelanda se ha desarrollado una nueva técnica para almacenar semen ovino hasta por 3 días a temperatura ambiente. Esto se logra mediante la inactivación de los espermatozoides por centrifugación a través de una solución de Ficoll al 7%. Después de 3 días de almacenamiento se recuperó una alta proporción de espermatozoides móviles (80%). Además, al medir el flujo de iones Ca se vio que los espermatozoides inmóviles aún tenían membranas plasmáticas intactas. Más aún, estos espermatozoides inmóviles eran resistentes al shock hipotérmico. No obstante, la fertilidad obtenida tras la IA con los espermatozoides reactivados fue desalentadora, por razones aún no bien comprendidas (35).

7.2 Congelamiento de Semen:

Este método consiste en congelar el semen a -196°C con nitrógeno líquido, con lo cual las reacciones metabólicas de los espermatozoides se detienen por completo.

El realizar la IA cervical con semen congelado generalmente resulta en índices de concepción del 10 al 40%, lo cual resulta inaceptable comercialmente. Esto parece deberse a la reducción en el transporte del semen congelado a través del cervix de la hembra (por su viabilidad disminuida), y posiblemente también a una retención reducida en el tracto reproductivo femenino (8,15,37,47,55,78,82,96,101,107).

Los mejores niveles de partos logrados en la inseminación cervical con semen congelado bajo condiciones experimentales han sido de 50-55 %, muy por debajo de los obtenidos con semen fresco sin diluir o diluido (65-75%) (40).

El éxito de la inseminación intrauterina por laparoscopía con semen congelado ha distraído la atención de las deficiencias existentes en las técnicas de criopreservación del semen ovino. La inseminación por laparoscopía, aunque tecnicamente factible, no constituye una alternativa costeable para la mayoría de los productores de ovinos. El uso de semen congelado sería mucho más difundido de poderse obtener una fertilidad aceptable mediante la inseminación vaginal o cervical; sin embargo, a pesar de numerosas investigaciones, las técnicas de congelación de semen de carnero aún no se han refinado al grado de cumplir este requisito (4,37,82).

La década de los 80's vio poca mejoría en cuanto a métodos de preservación de semen de carnero congelado para IA. El semen se conserva para su uso a corto plazo (enfriamiento o conservación líquida) o a largo plazo (congelación), de manera muy similar a como se hacía hace 10 años (37).

Los diluyentes para la congelación de semen ovino deben poseer las mismas propiedades que los diluyentes usados para semen fresco. Es decir, deben estar burerados contra cambios de pH y tonicidad, y contener una fuente de energía. Además, deben contener un agente (como la yema de huevo) que proteja a la membrana celular durante el enfriamiento a 5°C, y un agente crioprotector (generalmente glicerol) que proteja a la membrana contra daños durante la congelación (40,82).

No han habido mejorías recientes en la fertilidad de semen congelado atribuibles al desarrollo de diluyentes. Los adelantos más recientes en este campo provienen de la Unión Soviética y Europa Oriental. Los diluyentes más utilizados actualmen-

te en la URSS para semen congelado son medios con sacarosa y lactosa, diluyentes que se combinan con un antioxidante como el butilhidroxitolueno, 2,6-di-t-butil-1,4-cresol,echinocromo A (extracto del erizo de mar), o vitamina E, con la finalidad de minimizar la oxidación de fosfolípidos y ácidos grasos insaturados en la membrana celular (37).

Existen limitaciones para la utilización de semen congelado de carnero que no se presentan en otras especies domésticas. Estas tienen que ver con la técnica de inseminación; en la vaca, la inseminación intrauterina es un procedimiento relativamente sencillo debido al grado de apertura del cervix bovino durante el estro. Esto permite realizar la inseminación con números relativamente bajos de espermatozoides descongelados, y el eyaculado del toro puede diluirse considerablemente previo a su congelación. Esto asegura que los espermatozoides serán conservados en un medio sintético diseñado específicamente con propiedades crioprotectoras, con escasa contribución del plasma seminal, que no es un medio crioprotector. El eyaculado del carnero no puede diluirse en la misma proporción que el del toro, ya que de hacerlo no habría suficientes espermatozoides en el pequeño volumen requerido para la inseminación cervical, a menos que éstos fueran a ser reconcentrados al descongelar, procedimiento laborioso y a menudo perjudicial (35).

Es posible que la inseminación laparoscópica permita ahora una mayor dilución precongelatoria del semen, pero para lograrse la meta a largo plazo de inseminación cervical o vagi-

nal satisfactorias con semen congelado, se requerirá de un método de criopreservación con índice de dilución precongelatorio bajo (37).

Dado que la inseminación intrauterina con semen congelado es exitosa, se puede concluir que las técnicas de criopreservación se han refinado lo suficiente para conservar la capacidad fertilizadora del espermatozoide. Sin embargo, no han logrado preservarse la motilidad y viabilidad de los espermatozoides en un grado que asegure su paso completo a través del tracto genital femenino (4,37).

VIII. INSEMINACION ARTIFICIAL

La inseminación artificial puede definirse como un método reproductivo en que las celulas sexuales masculinas son depositadas dentro del tracto genital femenino por medios distintos al de la cópula natural (32,43).

Debido a lo tortuoso del canal cervical de la borrega, se han desarrollado varias técnicas que buscan adaptarse a la anatomía de los genitales de la hembra. En general puede decirse que existen tres tipos (sitios) de IA en los ovinos: vaginal, cervical, e intrauterina (35,40).

8.1 INSEMINACION VAGINAL

La inseminación vaginal o inseminación "a ciegas", en que se usa semen fresco, es el método más sencillo y rápido de los tres, pero generalmente requiere de una mayor dosis de semen que los otros métodos (225-450 x 10^6), y los resultados obtenidos son poco predecibles. Consiste simplemente en depositar semen, generalmente sin diluir, (mediante una pipeta recta de plástico y sin necesidad de un espéculo) en lo más profundo de la vagina, sin intentar encontrar el cervix (37,40,82).

Aunque no es recomendable en términos generales, puede realizarse en aquellos casos en que el tiempo y el dinero sean factores limitantes, o para la inseminación de hembras primerizas, en las que la angosta porción vestibular de la vagina no permite la libre entrada del espéculo (40).

El método de inseminación vaginal generalmente se realiza

con la hembra parada y detenida contra la pared del corral se llevará a cabo la inseminación. La vulva deberá limpiarse cuidadosamente para evitar contaminar la vagina al introducir la pipeta. Deberán introducirse 0.2 ml de aire a la jeringa conectada a la pipeta a manera de colchón, antes de succionar el semen, para asegurar que éste será expulsado por completo al momento de inseminar. Asimismo, el semen deberá estar en un tubo de ensaye que se encuentre en agua a 30°C. La pipeta se introduce cuidadosamente, y lo más profundo posible en la vagina, buscando deslizar su punta por el techo de la cavidad, para evitar su introducción a la uretra (que está en el piso de la vagina). Ya que normalmente no se usa un espéculo, el inseminador puede auxiliarse abriendo los labios vulvares con su mano libre. Una vez satisfecho con la posición de la pipeta, se oprime la jeringa, depositando el semen en la vagina (40).

Aún utilizando semen fresco sin diluir, se han reportado índices de fertilidad muy bajos tras utilizar esta técnica (31%) (41,84).

Al recordar la pérdida de viabilidad implícita al utilizar semen de carnero congelado, y considerando los bajos resultados obtenidos con la IA vaginal, es sencillo ver por qué esta técnica de IA y la utilización de semen congelado son mutuamente excluyentes (37,84).

8.2 INSEMINACION CERVICAL

La inseminación cervical con semen fresco es probablemente

la forma más economicamente eficiente de utilizar el semen. En cuanto a su utilización con semen congelado, en general los resultados obtenidos no justifican esta combinación (37).

En esta técnica se busca depositar el semen a una profundidad de hasta 3 cm. en el cervix, para evitar dañar el tejido (35,40). Si, como sucede en algunos animales, el cervix permite una mayor penetración de la pipeta, el método puede ser adaptado para convertirse en una inseminación intrauterina no quirúrgica (25,50,52,76).

La variante más comun de esta técnica consiste en inmovilizar a las hembras procurando que su cabeza quede inclinada hacia abajo, y sus patas posteriores apoyadas sobre un tubo o una paca a 85-90 cm. de altura. Igual que en el método anterior, se limpia cuidadosamente la vulva. Los genitales externos de los animales generalmente estarán más limpios, y será más facil introducir el espéculo si a la hembra se le corta algo de pelo o lana en la zona (40).

Deberá tenerse cuidado en la inserción del espéculo para evitar dañar la vagina. Tras su inserción a una profundidad de 10-13 cm, el espéculo debe ser rotado, hasta 90 grados, y en ese momento se abre. Con una lámpara se ilumina a través del espéculo la vagina anterior. El cervix se localiza al manipular suavemente el espéculo hacia los lados o hacia abajo. No deben abrirse demasiado los brazos del espéculo, ya que esto puede causar dolor o estrés al animal. Si se dificulta localizar el cervix, es recomendable cambiar de posición a la hembra (40).

Cualquier material extraño encontrado en la vagina (como semillas) deberá ser retirado del área previo a la inseminación. Si hay mucho moco en la vagina, o a la entrada del cervix, este deberá vaciarse. Esto se hace presionando suavemente el espéculo contra el piso de la vagina, para luego cerrarlo y retirarlo (40).

Algunas hembras pueden orinar durante el procedimiento, y si se acumula orina en la vagina, esta debe vaciarse y enjuagarse con solución salina, leche o algún otro diluyente (40).

Igual que en la inseminación vaginal, la jeringa conectada a la pipeta se llena primero con 0.2 ml de aire, y luego con el volumen de semen deseado, que deberá estar en un tubo de ensaye a 30°C. El inseminador debe intentar introducir la pipeta lo más profundo posible en el cervix; en caso de lograr atravesarlo, depositará el semen en el útero. Sin embargo, si la pipeta no logra pasar el cervix, previo a la inseminación del semen con la jeringa, deberá retraerse ligeramente el espéculo, para permitir el cierre de la vagina anterior, impidiendo así el reflujo de semen. Se ha demostrado que entre más profundo en el cervix sea el punto de inseminación, mayor será la fertilidad obtenida (40).

Cuadro 3. Indice de partos con relación a la prorundidad de la inseminación cervical en ovejas Merino (usando semen fresco sin diluir y diluido).

No. de espermatozoides/ 0.1 ml de inseminado	Sitio de la inseminación cervical: a la entrada de los pliegues cervicales	hasta 1 cm en el cervix	más de 1 cm en el cervix
400 millones (sin diluir)	15/30 (50.0%)	22/32 (68.8%)	25/35 (71.4%)
100 millones (diluidos)	14/32 (43.8%)	20/30 (66.7%)	20/28 (71.4%)
50 millones (diluidos)	9/35 (25.7%)	17/28 (60.7%)	20/30 (66.7%)

Evans, G. y Maxwell, W.M.C., 1988

Se ha intentado tratar a las hembras con relaxina u oxito-oxitocina para permitir una inseminación mas profunda, y mejorar el transporte espermático en el tracto genital de las borregas, pero los resultados obtenidos no han sido los esperados (35).

8.3 INSEMINACION INTRAUTERINA

La IA intrauterina, que consiste en depositar el semen directamente en el útero, ha dado resultados muy favorables con el uso de semen congelado, ya que se evita la barrera cervical, y las tasas de concepción son comparables con las de un

servicio natural u otras formas de inseminación con semen fresco (37,84).

Asimismo, se ha visto que la IA intrauterina incrementa la tasa de fertilidad usando semen tanto fresco como congelado, y la fertilidad obtenida es mayor tanto en hembras en celo natural como en celo inducido (12,35).

Hasta hace poco, esta técnica se limitaba a proyectos de investigación, ya que requería de una intervención quirúrgica (laparotomía), que resultaba demasiado tardada e impráctica a gran escala (37,82). Además, existen pruebas de que la IA intrauterina por laparotomía provoca índices anormalmente elevados de muerte embrionaria, posiblemente debidos a traumatismos uterinos ocurridos durante la cirugía (35).

La técnica de inseminación intrauterina por medio de un laparoscopio ha hecho práctica y eficiente la utilización de semen congelado, y resulta mucho más economica en cuanto a uso de semen que otros métodos de IA (66,82).

A grandes rasgos, consiste en la localización laparoscópica rápida del útero, y la inyección de semen directamente a los cuernos uterinos mediante una pipeta fina a través de una cánula separada (66,82).

A la hembra que será sometida a inseminación intrauterina se le deberán suspender el agua y los alimentos por lo menos 12 horas antes de la inseminación. De esta manera se reduce el volumen de contenido en la vejiga y el rumen, lo cual facilita la localización del útero y evita la regurgitación del contenido ruminal durante la laparoscopía.

Para inmovilizar a las hembras se deberá contar con una es-

tructura que permita fijar las patas de la hembra, y articulada de tal manera que sea posible elevar los miembros posteriores (40).

Dos modelos utilizados para este fin son la jaula modificada para laparotomía de Weribee, y la jaula de trasquilado Commodore. En la primera se coloca a la hembra de espaldas al aparato, lo cual elimina la distorsión de la vagina. La elevación de los miembros posteriores "endereza" el trayecto del tracto reproductivo. Se requiere de 2 personas para colocar a la borrega en la jaula, pero una vez ahí, se le maneja con facilidad. Sin embargo, las hembras se estresan al inclinar la jaula, lo cual puede ir acompañado de cianosis y dificultad para respirar (50).

Halbert et. al. (50) encontraron que la jaula para trasquila era la manera más sencilla de colocar a las hembras en recumbencia dorsal, además de provocarles menos estrés.

Una vez inmovilizadas las 4 extremidades de la hembra, se le quita la lana de la zona de la ubre y de los primeros 10-12 cm. del bajo vientre. La tierra y grasa se eliminan al tallar la piel con un jabón o detergente antiséptico. Se esteriliza la piel con un antiséptico, como alcohol al 70%. Después se inyecta subcutaneamente un anestésico local 5-7 cm adelante de la ubre y de 3-4 cm a cada lado de la línea media. Para ser inseminada, a la hembra se le levantan los miembros posteriores hasta tenerla a un ángulo de 40 grados o más con respecto a la horizontal (40).

Se introducen a la cavidad peritoneal un trócar y una cánula de 7 mm., del lado izquierdo de la línea media. Hecho esto

se infla la cavidad peritoneal con gas para hacer aparente el contenido abdominal, y usando sólo una pequeña cantidad de gas, ya que el exceso provoca malestar al animal. El trócar de 7 mm es reemplazado con un telescopio, con el cual se visualiza el interior del abdomen. El útero se encuentra en posición anterior a la vejiga (o justamente por abajo de ésta si se toma en cuenta la posición de la borrega). Ya inflada la cavidad peritoneal, se introducen un trócar y una cánula de 5 mm. del lado derecho de la línea media. Si la vejiga está llena deberá hacerse a un lado con la cánula de 5 mm (luego de quitar el trócar). Localizado el útero, un asistente se encarga de preparar la pipeta de inseminación; primero forma un colchón de aire de 0.3 ml, seguido del volumen requerido de semen; se retira el trócar de la cánula de 5 mm. y se sustituye por la pipeta de inseminación. Deben tomarse precauciones para no introducir contaminantes (solución antiséptica, sangre, agua, etc.) a la cavidad abdominal, particularmente al útero, con la pipeta. El operador, mirando a través del telescopio, dirige la punta de la pipeta hacia un cuerno uterino. Dada la posición del útero en la cavidad abdominal, resulta más facil depositar el semen en el punto medio entre la bifurcación uterina y la unión utero-tubaria. Localizado este punto, se atraviesa la pared uterina para llegar al lumen. Se inocula el semen, que debe salir libremente de la pipeta. Hecho esto se retira la pipeta y se repite la operación en el otro cuerno uterino. En algunos casos se dificulta la salida del semen de la pipeta, aún tras aplicar una presión de aire considerable; esto indica que la punta de la pipeta no está en el lumen uteri-

no (40).

Ya depositado el semen, se retiran el telescopio y la pipeta. Puede permitirse que se desinfle la cavidad abdominal antes de retirar las cánulas. Las heridas abdominales pueden tratarse con polvo o aerosol antiséptico. Algunos inseminadores recomiendan aplicar intramuscularmente una dosis profiláctica de penicilina o estreptomicina. Tras cada inseminación, los instrumentos deberán ponerse en una solución antiséptica para su esterilización. Si las pipetas se usarán varias veces en una misma sesión, deberán limpiarse con un papel y enjuagarse con SSF estéril (0.9%) a 30°C. Después de inseminar a las hembras se les debe dejar solas por lo menos 2-3 horas en un corral (40); asimismo se ha visto que la IA da mejores resultados al poner a las hembras en contacto con machos vasectomizados inmediatamente despues de la inseminación (46).

Existe otra técnica de inseminación intrauterina que no requiere de cirugía, que es la transcervical. Su aplicación ha tenido resultados positivos en cuanto a que la tasa de concepción en las hembras inseminadas es alta, sin embargo, la sinuosidad del lumen cervical impide este tipo de inseminación en una gran proporción de borregas (37). La localización, retracción y estabilización del cervix es esencial para la introducción del instrumento de inseminación. Así mismo, no ha logrado desarrollarse una técnica repetible. Otra desventaja es que la incidencia de lesiones ocasionadas al tracto reproductivo al paso del instrumento de inseminación es más elevada que en cualquier otra técnica de IA (50).

El hecho de que no existan estudios científicos suficientes

para establecer correlaciones entre tipos de os cervical y el grado de penetración del instrumento de inseminación, ni entre razas y grado de penetración, descartan la posibilidad de hacer pronósticos acerca del éxito que pudiera obtenerse tras utilizar esta técnica (49,50).

8.4 INSEMINACION INTRAPERITONEAL

Existe también un metodo de inseminación intraperitoneal, que consiste en depositar el semen a ciegas en la cavidad peritoneal en el área del ligamento ancho. Esta técnica ha resultado exitosa en varias especies de aves y mamíferos, y más recientemente se ha probado en ovinos (82).

Aunque algunos que han utilizado este método reportan buenos resultados, no se conoce bien la relación temporal entre la inseminación exitosa y el estro/ovulacion, y parece haber un elevado nivel de fallas en la implantación en mamíferos inseminados intraperitonealmente (82).

IX. MOMENTO DE LA INSEMINACION

Para obtener buenos resultados con la IA debe saberse que en la mayoría de las borregas la ovulación ocurre a tiempos fijos en relación con la presentación del estro. La duración promedio del estro en las boregas es de 30 horas (siendo normal el rango de 24-42 horas), y la ovulación generalmente ocurre de 25-30 horas después de su presentación. Por lo tanto, en hembras de estro corto la ovulación puede ocurrir al final del estro, pero ocurrirá antes de terminado en hembras de es-

tro largo (40).

La eficiencia del transporte espermático en el tracto genital femenino depende del momento del estro en que se insemina a las hembras. La inseminación durante el estro temprano o tardío generalmente resulta en una baja fertilidad, y se ha visto que la mayor fertilidad se obtiene al inseminar a la mitad del estro (35).

El volumen y las características de la mucosa vagino-cervical cambian durante el transcurso del estro, y pueden utilizarse estas características como guías para determinar la etapa del estro y así programar el momento de inseminación. Se ha visto que existe una relación entre las características de la mucosa y la fertilidad, siendo el momento óptimo de inseminación aquel en que la mucosa es abundante y clara a ligeramente nublosa. Sin embargo, la determinación precisa del momento de presentación del estro y del tiempo óptimo para la inseminación es difícil. En este sentido la sincronización de estros mediante tratamientos hormonales atenúa el problema, al hacer predecible el momento de la ovulación (40).

El tiempo de inseminación varía según el método utilizado. En general, la inseminación vaginal se usa en hembras en estro natural, la cervical en hembras en estro natural o sincronizado, y se requiere de la sincronización en el caso de la inseminación intrauterina (40).

En el caso de la inseminación vaginal, se ha visto que los mejores resultados se obtienen al inseminar antes de la ovulación, pero cerca del momento en que ocurre, siendo esto de 12

a 18 horas después de presentarse el estro. En aquellos casos en que se inseminarán hembras en estro natural, éstas generalmente se detectarán mediante un macho celador, en cuyo caso debe recordarse que la presentación del macho generalmente acorta la duración del estro, y la ovulación puede ocurrir antes que si no hubiera machos presentes. Si solamente se hará una detección de estros al día, las hembras deben inseminarse poco después de ser detectadas. Si se hacen dos detecciones diarias, las hembras detectadas en la noche deben inseminarse a la mañana siguiente, y las detectadas en la manana, la tarde de ese día. La detección de estros dos veces al día incrementa en 15-20% el número de hembras detectadas, con lo cual la inseminación se puede hacer con más precisión en relación al tiempo de ovulación (40).

Cuando la inseminación será cervical o intrauterina, casos en los cuales generalmente habrá una sincronización de estros, no hay necesidad de detectar estros mediante los celadores, y la inseminación se realiza a tiempos fijos con relación a la sincronización. De utilizarse esponjas vaginales con progestágenos, junto con PMSG y 5-10% de celadores para acortar el intervalo, método más recomendado para la sincronizacion (37, 40), la mayoría de las hembras entrarán en estro a las 36-48 horas, y ovularán 60 horas después de retirarse la esponja.

En el caso de la inseminación cervical deberá ocurrir antes, pero cerca del momento de ovulación, siendo el tiempo óptimo de 48-58 horas (generalmente inseminación única a las 55 hs.) después de retirar la esponja (40).

En caso de inseminación intrauerina, se ha hallado que la manipulación del tracto reproductivo puede interferir con el paso de los óvulos fertilizados del ovario al oviducto, período que deberá considerarse al determinar el tiempo de inseminación (40). Por otra parte, se ha visto que la inseminación intrauterina por laparoscopía no altera la duración del siguiente ciclo estral (104).

En la inseminación intrauterina generalmente se utiliza semen congelado, siendo el tiempo óptimo de inseminación del mismo 60-66 horas tras retirar la esponja (36,85,86,113).

Las hembras superovuladas, tratadas con dosis elevadas de gonadotropina, generalmente ovulan antes de lo normal. A éstas hembras generalmente se les insemina con dosis grandes de semen fresco (por lo menos 100 millones de espermatozoides). En este caso, la inseminación intrauterina puede hacerse 36-48 horas despues de retirar la esponja. Si se usa semen congelado en hembras superovuladas, la inseminación intrauterina deberá hacerse 44-48 horas tras retirar la esponja (12,13,38,40,56, 97).

A pesar de que los datos anteriores pueden servir como parámetros promedio, los datos aislados varían entre los diferentes estudios. Posteriormente se mencionarán algunos resultados obtenidos por diferentes investigadores. Así mismo, se incluyen cuadros que resumen datos obtenidos de diferentes investigaciones.

X. CONTROL HORMONAL DEL CICLO ESTRAL

Durante una temporada normal de apareamiento puede esperarse que 6-8% de las hembras estén en celo cada día. Para detectar a cada una de ellas bajo un programa tradicional de IA, se revisa a todo el rebaño y se insemina a las correspondientes diariamente por un período de 19 días, lo cual resulta laborioso, no permite el mejor aprovechamiento de la mano de obra disponible, y propicia problemas de manejo.

Mediante la sincronización de estros se uniformiza el ciclo en las hembras tratadas, de tal manera que se podrá calcular por adelantado el momento de presentación del estro, que será aproximadamente el mismo para todas.

Los principios en que se ha basado la sincronización de estros durante la estación reproductiva normal son ya sea el acortamiento de la fase lútea mediante una inyección de prostaglandina o la supresión del ciclo en todas las hembras con progestágenos.

10.1 PROSTAGLANDINA

Se trata de un lípido biológicamente activo que entre otras funciones induce el parto, el aborto, la destrucción del cuerpo lúteo y la contracción de la musculatura lisa (incluída la uterina)(61). Su funcionamiento como agente luteolítico se limita a la época de actividad reproductiva, cuando las hembras presentan ciclos estrales y tienen cuerpos lúteos funcionales, y sólo de la fase lútea media a tardía (40).

Al administrar la prostaglandina hay regresión del cuerpo

lúteo, y todas las hembras tratadas inician la fase folicular y entran en estro 2-3 días despues. Debido a que algunas dentro del rebaño no tendrán un cuerpo lúteo al momento del tratamiento inicial, generalmente se hace necesario un segundo tratamiento. De esta forma, para asegurar una buena sincronización de estros con prostaglandina serán necesarias dos aplicaciones con un intervalo de 8-14 días. Aún así, no todas las hembras presentarán estro, y su fertilidad, de inseminarse al primer celo postratamiento es más baja que en hembras no tratadas (62).

El tratamiento de borregas con PGF2alfa intensifica la inmovilización y muerte de espermatozoides en el tracto reproductivo al estro subsiguiente, lo cual origina que no llegue un número normal de espermatozoides al tercio anterior del cervix (57).

Por razones obvias, la aplicación de dos inyecciones duplica los gastos, ademas de que es sabido que el estrés que implica la aplicación de 2 inyecciones puede retrasar el momento de presentación del estro y reducir las tasas de ovulación (90). Por esto se han hecho estudios utilizando una sola inyección de PGF2alfa, en que se ha visto que dosis de 10 a 16 mg. producen una sincronización adecuada de estros (45,62). En el mismo estudio (45) se vio que al aplicar una inyección única de PGF2alfa, los mejores resultados se obtenían al administrarla entre los días 6 y 7 del ciclo o el día 13.

Así mismo, se recomienda exponer a las hembras a machos vasectomizados por 4 días antes del tratamiento para que éstos estimulen en ellas el estro y la ovulación (27,37).

10.2 PROGESTERONA

Es una hormona producida por el cuerpo lúteo, la corteza adrenal y la placenta, y tiene la runción de preparar al útero para la recepción y el desarrollo del óvulo fertilizado. Tiene un efecto inhibitorio sobre la secreción de gonadotropinas por parte de la glándula pituitaria; inhibe la retroalimentación positiva del estradiol y bloqea la liberación de hormona luteinizante (LH). Al cesar el tratamiento progestagénico caen los niveles sanguíneos de progesterona y la hipófisis secreta espontáneamente las gonadotropinas que inducirán el crecimiento folicular, y con ello el estro (94). Es por ello que este tratamiento es capaz de inducir el celo aún en épocas de anestro, ya que simula una fase lútea artificial. La mayoría de las hembras entrarán en estro 2 a 3 días después de terminar el tratamiento, que generalmente es de 12 días (82, 112,113).

La aplicación de progesterona se ha hecho por vía oral, intramuscular, implantes de silicón o mediante esponjas que se colocan por vía intravaginal, siendo este último el más eficaz al asegurar una absorción regular en el curso del tratamiento (95), además de reducirse el manejo de los animales. Existe además ahora un dispositivo intravaginal que consta de un elastómero médico que contiene 9% de progesterona amoldada sobre un núcleo de nylon (37,83). La única ventaja que representa sobre la esponja es que se elimina la descarga vaginal y el olor desagradable al momento de retirarlo (83). Así mismo, en el caso de implantes subcutáneos, las hembras presentan estro

hasta 8 horas antes que aquellas tratadas con esponjas al momento de cesar el tratamiento (5).

Los progestágenos sintéticos utilizados son acetato de fluorogestona (FGA) y acetato de medroxiprogesterona (MAP). En el caso de esponjas con FGA se recomiendan aquellas con 35 mg. para hembras en anestro estacional y las de 40 mg. para borregas en estación reproductiva. Las esponjas con MAP contienen 60 mg. y se usan en cualquiera de los casos antes mencionados (40).

La fertilidad del primer estro tras el tratamiento generalmente es más baja que en hembras no tratadas (<50%)(82), lo cual puede compensarse de dos maneras:

La primera consiste en aplicar a las hembras una inyección intramuscular única de gonadotropina sérica de yegua gestante (PMSG) en dosis de 300 (36), 400 (80,81,83,85), 500 (68,69,70, 72), y hasta 600 (44) unidades internacionales, al término del tratamiento progestagénico. Con esto no será necesaria la detección de calores, pero deberá ponerse a las borregas en contacto con machos celadores (vasectomizados) al terminar el tratamiento para estimular la ovulación; más aún si no es la temporada reproductiva natural. La mayoría de las hembras presentarán estro a las 48 horas, y ovularán en promedio a las 56 (82).

Para evitar el gasto adicional que implica el uso de PMSG, la segunda alternativa consiste en inseminar a las hembras hasta el segundo celo postratamiento, en el cual se mantiene una buena sincronía (80-90% manifiestan estro en un período de 6 a 7 días) y los partos resultantes de una inseminación cer-

vical única con semen fresco diluido son normales (50-60%) (82).

Se ha visto que, en relación con la IA, el combinar un tratamiento progestagénico con PMSG acorta el intervalo de tiempo entre el momento en que cesa el tratamiento y la presentación de la ovulación a 48 horas, dando una mejor sincronización (5,49,69,72,111).

Al disminuir la variabilidad del intervalo entre el retiro de la progesterona y la ovulación, habrá una mejor sincronización de esta última, lo cual es esencial para la IA, donde es de suma importancia asegurar el traslape de períodos en que el óvulo conserva su fertilidad, y los espermatozoides inseminados su viabilidad (69).

En otros casos se ha visto que es posible administrar PMSG dos días antes de terminar el tratamiento progestagénico, cuando aún se absorbe el progestágeno. Esta variante se recomienda en hembras anéstricas (aquellas fuera de temporada reproductiva) ya que estimula a un desarrollo folicular, estro y ovulación comparables a los de la estación reproductiva (44). Esto también se hace en casos de IA con semen congelado, ya que se requiere de mayor precisión en la inducción de la ovulación (39).

En las hembras primerizas, la combinación de progesterona con PMSG prolonga la duración del estro, al igual que el intervalo de tiempo entre el término del tratamiento progestagénico y la presentación del estro (93). Además, en borregas primerizas la combinación de progesterona y PMSG no incrementa la fertilidad (68).

Se ha investigado también la posibilidad de tratar con gonadotropina coriónica humana (HCG) a hembras anéstricas que aún amamantan una cría (20 a 31 días posparto), y previamente tratadas con progesterona y PMSG, con la finalidad de ver si con ello aumenta su índice de gestación y fertilidad, y para compensar una posible respuesta progestacional inadecuada, al aumentar la producción endógena de progesterona en la gestación temprana (67,111). Se administraron 100 unidades internacionales de HCG a varias hembras a los 11, 12 y 13 días de haber terminado el tratamiento progestagénico y aplicado PMSG, y se vio que con ello se incrementó el índice de gestación comparado con hembras a las que se administró solución salina (58 y 29% respectivamente) (67). Se piensa que la administración de HCG redujo la mortalidad embrionaria en las hembras.

En términos generales puede concluirse que la sincronización de estros con prostaglandina o progestágenos disminuye el porcentaje de espermatozoides móviles y normales recuperados del tracto reproductivo de hembras tratadas (57,58); así mismo hay una reducción en la fertilidad de hembras sincronizadas debido principalmente a fallas en la fertilización, debidas a su vez al reducido número de espermatozoides presentes en los oviductos al momento de la ovulación (57,58).

La sincronización con cualquiera de los dos compuestos intensifica la inmovilización y muerte espermática en el tracto reproductivo al siguiente estro. Los sitios donde más drásticamente se aprecia la reducción en el número de espermatozoides son el tercio anterior del cervix y el útero (57).

En aquellos casos en que se sospecha que la fertilidad po-

dría resultar baja, ya sea por la aplicación de progestágenos, o por utilizar semen de carneros que no se encuentran en la etapa reproductiva, o semen congelado; o por tratarse de hembras recién paridas, se recomienda aumentar el número de espermatozoides inseminados, para compensar las fallas que pudiera haber en el transporte espermático (71).

Se ha visto que con 200 millones de espermatozoides se alcanza una fertilidad adecuada bajo condiciones como las antes mencionadas; y que a pesar de ser más del doble de los espermatozoides requeridos en una inseminación natural (60 millones) (46), es menos de 10% del número de espermatozoides en un eyaculado promedio (71).

Tambien se ha hablado de la posibilidad de realizar inseminaciones dobles en aquellos casos en que se piense podría disminuir la fertilidad, pero a pesar de lo que podría pensarse, la inseminación doble no produce mayor fertilidad, fecundidad o tamaño de la camada que la inseminación única con semen fresco 56 horas después del tratamiento progestagénico, siempre y cuando se inseminen suficientes espermatozoides móviles (67,70).

XI. DATOS EXPERIMENTALES

Evans y Armstrong no encontraron diferencias entre los índices de fertilidad (elevados) al inseminar cervical e intrauterinamente con semen fresco a 48 horas de terminar el tratatratamiento progestagénico con PMSG (12,13). Mencionan además, que en hembras superovuladas puede obtenerse una alta fertilidad al inseminar intrauterinamente a las 24 horas de terminar el tratamiento progestagénico (39).

Maxwell, en tanto, señala que es posible que una borrega quede gestante tras una inseminación intrauterina con semen congelado después de ser sincronizada con progesterona y PMSG, con una dosis de tan solo 0.5×10^6 espermatozoides moviles. No obstante observó que para obtener una tasa de partos de más de 50% se requieren por lo menos 20×10^6 espermatozoides móviles (81).

En otras borregas bajo las mismas condiciones experimentales que las antes mencionadas, Maxwell también encontró que la máxima fertilidad y porcentaje de embarazos tras una inseminación intrauterina con semen congelado en hembras sincronizadas (progesterona + PMSG) se obtiene a las 60 horas de retirar la esponja. Incluso explica que no hay diferencias estadísticas entre borregas inseminadas así y otras inseminadas cervicalmente con semen fresco diluido a las 55 horas de terminada la sincronización (85).

Sin embargo, en otro estudio posterior, el mismo Maxwell afirma que el mayor porcentaje de gestaciones y partos tras la inseminación intrauterina con semen congelado en hembras sin-

cronizadas (progesterona + PMSG) se da a las 72 horas de terminado el tratamiento progestagénico, unas 16 horas después del tiempo esperado de ovulación. Con ello sugiere que la inseminación intrauterina posiblemente dé mejores resultados si se realiza después de la ovulación (80).

Como ya se vio, en la IA intrauterina por laparoscopía se puede usar tanto semen fresco (66,96), como congelado (66,82, 96). Sin embargo, ya que se puede obtener una fertilidad aceptable empleando semen fresco con otros métodos de inseminación, es probable que la inseminación laparoscópica sea efectuada principalmente con semen congelado (37).

Se ha visto también que los índices de concepción son mejores cuando la deposición del semen en la inseminación intrauterina se realiza a la mitad del cuerno, y no en su punta o base (35,85).

Evans et. al. reportan que al depositar semen en sólo un cuerno uterino, el índice de fertilidad en el cuerno inseminado fue tan buena como en el contralateral, lo cual demuestra que los espermatozoides viajan de un cuerno a otro (39). No obstante, otros investigadores han encontrado significativamente ventajoso el depositar semen en ambos cuernos (66,84).

XII. ANALISIS DE LA INFORMACION

Los índices de concepción obtenidos en borregas inseminadas artificialmente con semen de carnero han sido más bajos que tras el apareamiento natural. Esto se debe a la incapacidad de la IA de proveer un número adecuado de espermatozoides activos en el oviducto al momento de la fertilización, y a las dificultades implícitas en el transporte espermático a través del tracto genital de la hembra (35).

Para superar estos contratiempos se han desarrollado las técnicas de IA cervical profunda e intrauterina por laparoscopía. Esta última, además, permite el aprovechamiento de semen congelado con buenos resultados, lo cual representa una ventaja relativamente nueva en la IA de ovinos.

Se pronostica que con la posibilidad de almacenar semen congelado durante todo el año, el progreso genético que se logrará a traves de la IA, con los niveles de éxito que ésta tiene actualmente, será de un 48% más que lo que se lograría con apareamientos naturales (37).

Tecnicamente es factible que se inseminen 200 borregas diarias con el semen de un solo carnero mediante la inseminación artificial intrauterina (29).

Desafortunadamente no existen muchos estudios sobre el impacto genético de los programas de IA en los ovinos. A pesar de que este problema se ha contemplado recientemente desde un punto de vista teórico (82), existe una carencia de información sobre el efecto real de la IA sobre características pro-

ductivas como calidad de la canal o producción de lana o leche (37). No obstante, gracias a los recientes avances, la IA tendrá un efecto importante sobre la producción ovina.

Los objetivos buscados con la IA se agrupan según si el fin buscado es a largo o corto plazo (82):

Objetivos a corto plazo:

a) efectuar un cambio rápido a un genotipo deseado.
b) Control de enfermedades, particularmente las de transmisión venérea.
c) Incrementar la utilización de sementales famosos o "de moda".

Desafortunadamente, gran parte de la IA tiene que ver con este último objetivo.

Objetivos a largo plazo:

a) Lograr avances genéticos a largo plazo.
b) Identificar con precisión a sementales genéticamente superiores.

Una vez identificado en base a sus características reproductivas, el material genético de calidad superior podrá diseminarse rapidamente mediante la IA (40).

El siguiente cuadro muestra la influencia potencial de un semental usando tecnología actual y comparando el número de corderos producidos anualmente con apareamiento natural, IA con semen fresco e IA con semen congelado (IA/LAP) (82).

Cuadro 4. Influencia potencial de un semental y corderos producidos anualmente con monta natural, IA con semen fresco e IA con semen congelado.

APAREAMIENTO NATURAL	IA CON SEMEN FRESCO	IA CON SEMEN CONGELADO
3% sements:hembras	Eyaculaciones/día: 3 Inseminaciones/día: 20 Inseminaciones/ciclo:1020	Semen almacenado/0:1 litro
33 hembras/semental	1020 hembras/semental	25.000 hembras/semental
22 corderos nacidos	500 corderos nacidos	12.000 corderos nacidos

Maxwell, W.M.C. 1984

Algo que el productor no debe perder de vista es que a pesar de emplearse términos como "a corto plazo", los resultados y beneficios que se obtendrán de la IA no se dejarán ver en períodos cortos. Y que además, aquel productor interesado en implementar un programa de IA en su rebaño deberá considerar que para que éste funcione debe tener un sistema de registros eficiente y actualizado, un programa de medicina preventiva, y que, en caso de inclinarse por la inseminación cervical o intrauterina, deberá implementar un programa de sincronización de estros.

Las técnicas de IA, almacenamiento de semen y sincronización de estros en los ovinos están muy adelantadas. Sin embargo, los resultados obtenidos con semen congelado aún son muy variables, por lo cual amerita mayor investigación para su aplicación en programas de IA comerciales.

CUADROS

Cuadro 5.

Efectos del tipo de semen, número de inseminaciones, sitio de inseminación, y número total de espermatozoides inseminados sobre los porcentajes de partos en borregas luego de la IA.

Tipo de semen	Sitio de inseminación	No. de inseminaciones	No. total de espermatozoides inseminados ($x 10^6$)	Hembras que parieron (%)
Fresco	Cervix	1	225	55.3
	"A ciegas"	1	225	65.4
		1	450	77.4
		2	450	74.4
	Intrauterina	1	30	82.9
	Cervical	2	900	17.0
Congelado	"A ciegas"	2	900	22.7
	Intrauterina	1	60	37.8

El-Gaafary, M.N. et. al. 1987

Cuadro 6.

Gestación en borregas después de inseminación cervical y vaginal.

Método de inseminación	Tipo de semen	Dosis del inseminado (ml)	No. de borregas Inseminadas	Gestantes (%)
Cervical	Fresco	0.1	50	30(60.0)
	Congelado	0.1	49	9(18.4)
Vaginal	Fresco	0.1	50	32(64.0)
	Congelado	0.1	51	9(17.6)
		0.6	52	12(23.1)

Maxwell, W.M.C. y Hewitt. L.J. 1986

Cuadro 7.

Gestación en borregas tras diferentes métodos de inseminación con semen congelado de carnero.

Metodo de inseminación	Dosis del inseminado (ml)	No. de hembras inseminadas	No. de hembras gestantes (%)
Cervical	0.1	48	9(18.8)
	0.6	45	19(42.2)
Vaginal	0.1	47	8(17.0)
	0.6	46	8(17.4)
Intrauterina	0.1	45	25(55.6)
	0.6	48	31(64.6)

Maxwell, W.M.C. y Hewitt, L.J. 1986

Cuadro 8.

Efectos del tipo de semen, sitio de inseminación y número de espermatozoides depositados en el útero sobre la fertilidad de las borregas.

Tipo de semen	Sitio de inseminación	No. de hembras inseminadas	No. de hembras que parieron	Porcentaje de partos
1 Semen fresco	Cervix	28	13	46.4
2 Semen congelado	A. Cervical	32	4	12.5
	B. Vaginal	43	4	9.3
	C. Intrauterina			
	1. a. 50 x 10	35	18	51.4
	2. B. 200 x 10	30	13	43.3

El-Gamfary. M.N. et. al. 1987

Cuadro 9.

Partos y número de corderos nacidos tras la inseminación de borregas con semen de carnero fresco y congelado (80).

Tipo de semen	Tiempo de inseminación al retirar esponja (h)	No. de borregas		No. de corderos	
		Insem.	Paridas(%)	Nacidos(%)	xHembra
Fresco (cervical)	55	59	28(47.5)	41(69.5)	1.46
Congelado (intrauterina)	48	111	51(45.9)	64(57.7)	1.25
	60	107	59(55.1)	77(72.0)	1.31
	72	115	66(57.4)	93(80.9)	1.41
	78	61	24(39.3)	37(60.7)	1.54

Cuadro 10.

Fertilidad de semen de carnero congelado y suplementado o no con PGF2alfa previo a su congelacion.

	PGF2alfa anadida al semen (300 µg/ml)	Control
No. de borregas inseminadas	10	10
No. de borregas que parieron	7	3
Indice de partos (%)	70	30
No. de corderos nacidos por gestacion	1.6	1.3

El-Gaafary, M.N. et. al. 1987

LITERATURA CITADA:

1.- Acuña, A.M.A. y Vázquez, P.C.: Fertilidad del Semen Ovino Congelado en un Diluyente Hipertónico Adicionado con Prostaglandina F2alfa. En: Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-FMVZ, 183 (1986).

2.- Acuña, A.M.A. y Vázquez, P.C.: Efecto de la Osmolaridad y de la Adición de Prostaglandina F2alfa al Diluyente sobre la Crioviabilidad del Semen Ovino. En: Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-FMVZ, 184 (1986).

3.- Aguer, D., Belloc, J.P. and Briois, M.: Routine use of oestrus induction and artificial insemination with fresh diluted semen. A survey on 1,214,129 adult ewes and ewe lambs. Proceedings 3rd World Congress on Sheep and Beef Cattle Breeding, Paris. 1: 173-175 (1988).

4.- Ainsworth, L., Fiser, P.S., Heaney, D.P., Langsford, G.A. and Shrestha, J.N.B.: Intensive Husbandry of Fecund Sheep. In: Genetics of Reproduction. Edited by: Land, R.B. and Robinson, D.W., 400-407. Garden City Press LTD., Letchworth, England, 1985.

5.- Ainsworth, L., Lachance, R. and Labrie, F.: Effects of Progestagen Treatments and PMSG on the Preovulatory LH Discharge in Ewes. Ani. Reprod. Sci., 5: 281-286 (1983).

6.- Almeida, O.F.X. and Lincoln, G.A.: Photoperiodic Regulation of Reproductive Activity in the Ram: Evidence for the Involvement of Circadian Rhythms in Melatonin and Prolactin Secretion. Biol. Reprod., 27: 1062-1075 (1982).

7.- Almeida, O.F.X. and Lincoln, G.A.: Reproductive Photorefractoriness in Rams and Accompanying Changes in the Patterns of Melatonin and Prolactin Secretion. Biol. Reprod., 30: 143-158 (1984).

8.- Alvarez, H.M.: Comparación de la fertilidad obtenida en ovejas inseminadas con semen fresco diluido y semen congelado. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., 1980.

9.- Amir, D., Gacitua, H., Ron, M. and Lehrer, A.R.: Seasonal variation in semen characteristics and the fertility of Finn cross rams subjected to frequent ejaculation. Ani. Reprod. Sci. 10: 75-84 (1986).

10.- Angeles, S.: Evaluación de la sensibilidad y erectividad del diagnóstico de gestación en ovejas por medio de la técnica del ultrasonido. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1984.

11.- Angulo, R.B.: Determinación de la temperatura y tiempo óptimos para la descongelación del semen de ovino. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1988.

12.- Armstrong, D.T. and Evans, G.: Intrauterine insemination enhances fertility of frozen semen in superovulated ewes. J. Reprod. Fert., 71: 89-94 (1984).

13.- Armstrong, D.T. and Evans, G.: Factors Influencing Success of Embryo Transfers in Sheep and Goats. Theriogenology, 19: 31-42 (1983).

14.- Barron, C.: Colección y evaluación de semen de carneros e inseminación artificial. En: Memorias del Curso de Actualización: Aspectos de Producción Ovina. UNAM-FMVZ, 128-139 (1981).

15.- Berg, K.A.: Artificial insemination of sheep using frozen semen. Effects of time of insemination and of 1 or 2 inseminations. Tierarztliche Umschau, 44: 322-325 (1989).

16.- Bittman, E.L., Dempsey, R.J. and Karsch, F.J.: Pineal Melatonin Secretion Drives the Reproductive Response to Daylength in the Ewe. Endocr., 113: 2276-2283 (1983).

17.- Blockey, M.A. de B. and Wilkins, J.F.: Field Application of the Ram Serving Capacity Test. In: Reproduction in Sheep. Edited by Lindsay, D.R. and Pearce, D.T., 53-58. Cambridge University Press. Cambridge, 1984.

18.- Boland, M.P., Al-Kamali, A.A., Crosby, T.F., Haynes, N.B., Howles, C.M., Kellener, D.L. and Gordon, I.: The Influence of Breed, Season and Photoperiod on Semen Characteristics, Testicular Size, Libido and Plasma Hormone Concentrations in Rams. Ani. Reprod. Sci., 9: 241-252 (1985).

19.- Bustamante, G.: Evaluación del semental. En: Memorias del Curso de Actualización: Aspectos de Producción Ovina. UNAM-FMVZ, 116-122 (1981).

20.- Bustamante, G. y Duchateau, A.: Examen de la salud reproductiva del macho. En: Reproducción de Animales Domésticos. 170-175. Editorial Limusa, México, 1988.

21.- Cameron, A.W.N., Fairnie, I.J., Curnow, D.H., Keogh, E.J. and Lindsay, D.R.: Proc. Aust. Soc. Anim. Prod., 15: 659 (1984).

22.- Cameron, A.W.N., Fairnie, I.J. and Keogh, E.J.: Semen Quality, Quantity and Flock Fertility. In: Reproduction in Sheep. Edited by: Lindsay, D.R. and Pearce, D.T., 79-85. Cambridge University Press, Cambridge, 1984.

23.- Cartee, R.E., Rumph, P.F., Abuzaid, S. and Carson, R.: Ultrasonographic Examination and Measurement of Ram Testicles. Theriogenology, 33: 867-875 (1990).

24.- Chenoweth, P.J.: Libido and Mating Behavior in Bulls, Boars and Rams. A Review. Theriogenology, 16: 155-177 (1981).

25.- Coonrod, S.A., Coren, B.R., McBride, B.L., Bowen, M.J. and Kraemer, D.C.: Successful Non-Surgical Collection of Ovine Embryos. Theriogenology, 25: 149 (1986).

26.- Cordova, S.M., Feldman, S.D., Ortíz, H.A. y Valencia, M.J.: Utilización de dos Diluyentes para la Conservación de semen de Carnero. En: Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-FMVZ, 399 (1987).

27.- Croker, K.P., Butler, L.G., Johns, M.A. and McColm, S.C.: Induction of Ovulation and Cyclic Activity in Anestrous Ewes with Testosterone Treated Wethers and Ewes. Theriogenology, 17: 349-354 (1982).

28.- Dacheux, J.L., Pisselet, C., Blanc, M.R., Hochereau-de-Reviers, M.T. and Courot, M.: Seasonal variations in rete testis fluid secretion and sperm production in different breeds of ram. J. Reprod. Fert., 61: 363-371 (1981).

29.- Davis, I.F., Kerton, D.J., McPhee, S.R., White, M.B., Banfield, J.C. and Cahill, L.P.: Uterine Artificial Insemination in Ewes. In: Reproduction in Sheep. Edited by: Lindsay, D.R. and Pearce, D.T., 304-305. Cambridge University Press, Cambridge, 1984.

30.- D'Occhio, M.J. Schanbacher, B.D. and Kinder, J.E.: Relationship Between Serum Testosterone Concentration and Patterns of Luteinizing Hormone Secretion in Male Sheep. Endocr., 110: 1547-1554 (1982).

31.- D'Occhio, M.J., Schanbacher, B.D. and Kinder, J.E.: Profiles of Luteinizing Hormone, Follicle-Stimulating Hormone, Testosterone and Prolactin in Rams of Diverse Breeds: Effects of Contrasting Short (8L:16D) and Long (16L:8D) Photoperiods. Biol. Reprod., 30: 1039-1054 (1984).

32.- Doney, J.M., Gunn, R.G. and Horak, F.: Reproduction. In: Sheep and Goat Production. Edited by: Coop, I.E., 57-59, 69-74. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam, 1982.

33.- Durotoye, L.A., Rajkumar, R., Argo, C.M., Nowak, R., Webley, G.E., McNeil, M.E., Graham, N.B. and Rodway, R.G.: Effect of Constant Release Melatonin Implants on the Onset of Oestrus Activity and on Reproductive Performance in the Ewe. Anim. Prod., 52: 489-497 (1991).

34.- Dyrmundsson, O.R.: Natural Factors Affecting Puberty and Reproductive Performance in Ewe Lambs: A review. Livestock Prod. Sci., 8: 55-65 (1981).

35.- El-Gaafary, M.N., Axford, R.F.E. and Chamberlain, A.G.: Artificial Insemination. In: New Techniques in Sheep Production. Edited by: I. Fayez M. Marai and Owen, J.B., 91-101. Butterworths and Co. Ltd., London, 1987.

36.- Eppleston, J. and Roberts, E.M.: The effect of progestagen, PMSG and time of insemination on fertility in ewes following intra-uterine insemination with frozen semen. Aust. Vet. J. 63: 124-125 (1986).

37.- Evans, G.: Current Topics in Artificial Insemination of Sheep. Aust. J. Biol. Sci. 41: 103-116 (1988).

38.- Evans, G. and Armstrong, D.T.: Reduction of sperm transport in ewes by superovulation treatments. J. Reprod. Fert. 70: 47-53 (1984).

39.- Evans, G. and Armstrong, D.T.: Production of Embryo in Sheep Using FSH Preparations and Laparoscopic Intrauterine Insemination. In: Reproduction in Sheep. Edited by: Lindsay, D.R. and Pearce, D.T. 313-315. Cambridge University Press, Cambridge, 1984.

40.- Evans, G. and Maxwell, W.M.C.: Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats. Butterworths PTY Ltd., Victoria, 1988.

41.- Fairnie, I.J. and Wales, R.G.: Using genetically superior rams efficiently by artificial insemination. Proc. World Congr. Sheep and Beef Cattle Breed. (Eds R.A. Barton and W.C. W.C. Smith). 311-320. Dunmore Press, Palmerston North N.Z., 1982.

42.- Fowler, D.G.: Reproductive Behaviour of Rams. In: Reproduction in Sheep. Edited by: Lindsay, D.R. and Pearce, D.T., 39-46. Cambridge University Press, Cambridge, 1984.

43.- Fraser, A. and Stamp, J.T.: Ganado Ovino. Producción y Enfermedades. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. p. 82-86 (1989).

44.- Fukui, Y., Akaike, M., Anzai, H. and Ono, H.: Effect of timing of injection with pregnant mare's serum and gonadotrophin on fixed time artificial insemination of seasonally anoestrus ewes. J. Agric. Sci., 113: 361-364 (1989).

45.- Fukui, Y. and Roberts, E.M.: Relationship Between Doses of Prostaglandin F2alfa and Stages of the Breeding Season for Synchronization of Estrus and Ovulation in Ewes. Theriogenology, 16: 105-117 (1981).

46.- Fulkerson, W.J., Synnott, A.L. and Lindsay, D.R.: Numbers of spermatozoa required to effect a normal rate of conception in naturally mated Merino ewes. J. Reprod. Fert., 66: 129-132 (1982).

47.- García de Alba, J.: Comparación de la Fertilidad obtenida con Semen Fresco y Semen Refrigerado de Ovino diluido en dos medios diferentes. Tesis de Licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1986.

48.- Glatzel, P.: Variation in Hormonal Feedback and Reproductive Performance in Rams of Different Genotypes from Birth Through Puberty. Theriogenology, 30: 763-776 (1988).

49.- Hackett, A.J.: Effect of Dose of Pregnant Mares' Serum Gonadotrophin on the Reproductive Perrormance of Ewes Synchronized for Estrus and Housed in Total Confinement. Can. J. Anim. Sci., 62: 291-294 (1982).

50.- Halbert, G.W., Dobson, H., Walton, J.S. and Buckrell, B.C.: A Technique for Transcervical Intrauterine Insemination of Ewes. Theriogenology, 33: 993-1010 (1990).

51.- Halbert, G.W., Dobson, H., Walton, J.S, and Buckrell, B.C.: The Structure of the Cervical Canal of the Ewe. Theriogenology, 33: 977-992 (1990).

52.- Halbert, G.W. Dobson, H., Walton, J.S., Sharpe, P. and Buckrell, B.C.: Field Evaluation of a Technique for Transcervical Intrauterine Insemination of Ewes. Theriogenology, 33: 1231-1243 (1990).

53.- Hanif, M. and Williams, H.L.: The Effects of Melatonin and Light Treatment on the Reproductive Performance of Yearling Suffolk Rams. Br. Vet. J., 147: 49-56 (1991).

54.- Harvey, T.G., Parratt, A.C. and Binnie, D.B.: New Zealand sheep sire referencing scheme: Increasing genetic progress through artificial insemination. 11th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Brief Communications, 254-256. University College. Dublin, 1988.

55.- Hawk, H.W.: Sperm Survival and Transport in the Female Reproductive Tract. J. Dairy Sci., 66: 2645-2660 (1983).

56.- Hawk, H.W., Cooper, B.S. and Conley, H.H.: Inhibition of Sperm Transport and fertilization in Superovulating ewes. Theriogenology, 26: 139-153 (1987).

57.- Hawk, H.W., Cooper, B.S. and Pursel, V.G.: Increased Sperm Death in the Cervix and Uterus of Estrous Ewes after Regulation of Estrus with Prostaglandin or Progestogen. J. Ani. Sci., 52: 601-610 (1981).

58.- Hawk, H.W., Cooper, B.S. and Pursel, V.G.: Sperm Death and Inhibition of Sperm Transport in the Cervix of Ewes in Estrus after Removal of the Corpus Luteum-Bearing Ovary. J. Ani. Sci., 52: 611-617 (1981).

59.- Hay, J.B., Mills, S.C. and Maddocks, I.G.: The effect of exposure to rainfall on white blood cell counts in sheep. Aust. Vet. J. 59: 60-61 (1982).

60.- Heredia, A.M., Rodríguez, R.O.L. y Quintal, F.J.: Inseminación Artificial en Ovinos Pelibuey. I. Caracterización y Clasificación Anatómica del Cervix. En: Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-FMVZ, 213 (1985).

61.- Herrera, L.E.: Determinación del tiempo óptimo de la aplicación de la prostaglandina F2alfa para la sincronización de estros en ovinos. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., 1988.

62.- Hoppe, H.F. and Slyter, L.: Effects of Prostaglandin F2alfa Dosage on Synchronizing Ovine Estrus Using a Modified Single Injection Regimen. Theriogenology, 31: 1191-1200 (1989).

63.- Howles, C.M., Craigon, J. and Haynes, N.B.: Long-term rhythms of testicular volume and plasma prolactin concentrations in rams reared for 3 years in constant photoperiod. J. Reprod. Fert., 65: 439-446 (1982).

64.- Hunter, R.H.F., Barwise, L. and King, R.: Sperm Transport, Storage and Release in the Sheep Oviduct in Relation to the Time of Ovulation. Br. Vet. J., 138: 225-232 (1982).

65.- Kennaway, D.J., Gilmore, T.A. and Seamark, R.F.: Effect of Melatonin Feeding on Serum Prolactin and Gonadotrophin Levels and the Onset of Seasonal Estrous Cyclicity in Sheep. Endocr., 110: 1766-1772 (1982).

66.- Killen, I.D. and Caffery, G.J.: Uterine insemination of ewes with the aid of a laparoscope. Aust. Vet. J. 59: 95 (1982).

67.- Kittok, R.J., Stellflug, J.N. and Lowry, S.R.: Enhanced Progesterone and Pregnancy Rate after Gonadotropin Administration in Lactating Ewes. J. Anim. Sci., 56: 652-655 (1983).

68.- Langford, G.A.: Influence of Body Weight and Number of Inseminations on Fertility of Progestogen-Treated Ewe Lambs Raised in Controlled Environments. J. Anim. Sci., 62: 1058-1062 (1986).

69.- Langford, G.A.: Influence of PMSG and Time of Artificial Insemination on Fertility of Progestogen-Treated Sheep in Confinement. J. Ani. Sci., 54: 1205-1211 (1982).

70.- Langford, G.A, Ainsworth, L. and Wolnyetz, M.S.: Reproductive Response of Progestogen-Treated Sheep in Confinement to a Single and Double Insemination. J. Ani. Sci., 54: 12-17 (1982).

71.- Langford, G.A. and Marcus, G.J.: Influence of sperm number and seminal plasma on fertility of progestogen-treated sheep in confinement. J. Reprod. Fert., 65: 325-329 (1982).

72.- Langford, G.A., Marcus, G.J. and Batra, T.R.: Seasonal Effects of PMSG and Numbers of Inseminations on Fertility of Progestogen-Treated Sheep. J. Ani. Sci., 57: 307-312 (1983).

73.- Langford, G.A. and Shrestha, J.N.B.: Seminal vesical activity during cyclic or stabilized testicular activity in rams. Ani. Reprod. Sci., 24: 85-91 (1991).

74.- Langford, G.A., Shrestha, J.N.B. and Marcus, G.J.: Repeatability of scrotal size and semen quality measurements in rams in a short-day light regime. Ani. Reprod. Sci., 19: 19-27 (1989).

75.- Langford, G.A., Ainsworth, L., Marcus, G.J. and Shrestha, J.N.B.: Photoperiod Entrainment of Testosterone, Luteinizing Hormone, Follicle Stimulating Hormone, and Prolactin Cycles in Rams in Relation to Testis Size and Semen Quality. Biol. Reprod., 37: 489-499 (1987).

76.- Lawrenz, R.: Preliminary Results of Non-Surgical Intra-Uterine Insemination of Sheep with Thawed Frozen Semen. J. S. African Vet. Assoc. 56: 61-63 (1985).

77.- Lincoln, G.A., Almeida, O.F.X., Klandorf, H. and Cunningham, R.A.: Hourly Fluctuations in the Blood Levels of Melatonin, Prolactin, Luteneizing Hormone, Follicle-Stimulating Hormone, Testosterone, Tri-Iodothyronine, Thyroxine and Cortisol in Rams Under Artificial Photoperiods, and the Effects of Cranial Sympathectomy. J. Endocr., 92: 237-250 (1982).

78.- López, G. y Sosa, C.: Evaluación de Diferentes Técnicas para la Congelación de Semen Ovino. En: Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-FMVZ, 176 (1986).

79.- Martin, I.C.A. and Purvis, I.W.: Towards Quantification of Procedures for Collection of Semen from Rams by Electroejaculation. In: Reproduction in Sheep. Edited by: Lindsay, D.R. and Pearce, D.T., 89-91. Cambridge University Press, Cambridge, 1984.

80.- Maxwell, W.M.C.: Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronised oestrus. 1. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. Ani. Rep. Sci. 10: 301-308 (1986).

81.- Maxwell, W.M.C.: Artificial insemination of ewes with frozen thawed semen at a synchronised oestrus. 2. Effect of dose of spermatozoa and site of intrauterine insemination on fertility. Ani. Rep. Sci. 10: 309-316 (1986).

82.- Maxwell, W.M.C.: Current Problems and Future Potential of Artificial Insemination Programmes. In: Reproduction in Sheep. Edited by: Lindsay, D.R. and Pearce, D.T., 291-298. Cambridge University Press. Cambridge, 1984.

83.- Maxwell, W.M.C. and Barnes, D.R.: Induction of oestrus in ewes using a controlled internal drug release device and PMSG. J. Agric. Sci., 106: 201-203 (1986).

84.- Maxwell, W.M.C. and Hewitt, L.J.: A comparison of vaginal, cervical and intrauterine insemination of sheep. J. Agric. Sci., 106: 191-193 (1986).

85.- Maxwell, W.M.C., Butler, L.G. and Wilson, H.R.: Intrauterine insemination of ewes with frozen semen. J. Agric. Sci., 102: 233-235 (1984).

86.- McKelvey, W.A.C., Robinson, J.J. and Aitken, R.P.: The Evaluation of a Laparoscopic Insemination Technique in Ewes. Theriogenology, 24: 519-535 (1985).

87.- Mickelsen, W.D., Paisley, L.G. and Dahmen, J.J.: The Effect of Season on the Scrotal Circumference and Sperm Motility and Morphology in Rams. Theriogenology, 16: 45-51 (1981).

88.- Mickelsen, W.D., Paisley, L.G. and Dahmen, J.J.: Seasonal variations in scrotal circumference, sperm quality, and sexual ability in rams. JAVMA, 181: 376-380 (1982).

89.- Pace, M.M., Sullivan, J.J., Elliot, F.I., Graham, E.F. and Coulter, G.H.: J. Ani. Sci., 53: 693-701 (1981).

90.- Parr, R.A., Davis, I.F. and Tilbrook, A.J.: Effects of shearing on oestrus and ovulation in sheep. J. Agric Sci. 113: 411-412 (1989).

91.- Purvis, I.W., Edey, T.N., Kilgour, R.J. and Piper, L.R.: The Value of Testing Young Rams for Serving Capacity. In: Reproduction in Sheep. Edited by: Lindsay, D.R. and Pearce, D.T., 59-61. Cambridge University Press, Cambridge, 1984.

92.- Quintal, F.J., Rodríguez, R.O.L. y Heredia, A.M.: Inseminación Artificial en Ovinos Pelibuey. II. Utilización de Tres Clases de Agujas para Pipetear Tractos Reproductivos. En: Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-FMVZ, 214 (1985).

93.- Quirke, J.F., Hanrahan, J.P. and Gosling, J.P.: Duration of oestrus, ovulation rate, time of ovulation and plasma LH, total oestrogen and progesterone in Galway adult ewes and ewe lambs. J. Reprod. Fert., 61: 265-272 (1981).

94.- Quirke, J.F.: Regulation of Puberty and Reproduction in Female Lambs: A Review. Livestock Prod. Sci., 8: 37-53 (1981).

95.- Quispe, T.L.: Estudio sobre el uso del acetato de melengestrol para la sincronización e inducción de estros en ovejas. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1989.

96.- Rival, M.D., Chenoweth, P.J. and McMicking, L.I.: Semen Deposition and Fertility in Ovine Artificial Breeding Programmes. In: Reproduction in Sheep. Edited by: Lindsay, D.R. and Pearce, D.T., 301-303. Cambridge University Press, Cambridge, 1984.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

97.- Robinson, J.J., Wallace, J.M. and Aitken, R.P.: Fertilization and ovum recovery rates in superovulated ewes following cervical insemination or laparoscopic intrauterine insemination at different times after progestagen withdrawal and in one or both uterine horns. J. Reprod. Fert. 87: 771-782 (1989).

98.- Rodriguez, F., Baldasarre, H., Simonetti, J., Aste, F. and Ruttle, J.L.: Cervical Versus Intrauterine Insemination of Ewes Using Fresh or Frozen Semen Diluted with Aloe Vera Gel. Theriogenology, 30: 843-854 (1988).

99.- Rojas, O., Fraga, E. y Rodríguez, O.L.: Evaluación de la Fertilidad a Diferentes Intervalos de Servicio en Borregas Pelibuey, Cubano y Black Belly. En: Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-FMVZ, 149-151 (1983).

100.- Rushen, J.: Observations on the aversion of sheep to electro-immobilisation and physical restraint. Aust. Vet. J. 63: 63-64 (1986).

101.- Salas, E.: Comparación de la fertilidad del semen de ovino envasado en pajilla francesa utilizando diferentes ritmos de descongelación. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., 1989.

102.- Sarmiento, F.L., Fajardo, M.N. y Rodríguez, R.O.L.: Evaluación de Cuatro Diluyentes para la Conservación en Refrigeración de Semen de Borrego Pelibuey. En: Reunión de Investigación pecuaria en México. UNAM-FMVZ, 397 (1987).

103.- Synnott, A.L., Fulkerson, W.J. and Lindsay, D.R.: Sperm output by rams and distribution amongst ewes under conditions of natural mating. J. Reprod. Fert. 61: 355-361 (1981).

104.- Taljaard, T.L., Terblanche, S.J., Bertschinger, H.J. and Vuuren, L.J. van: The effects of the laparoscopic insemination technique on the oestrus cycle of the ewe. J. of the South African Vet. Assoc., 62: 60-61 (1991).

105.- Tilbrook, A.J. and Cameron, A.W.N.: Ram Mating Preferences. In: Reproduction in Sheep. Edited by: Lindsay, D.R. and Pearce, D.T., 47-49. Cambridge University Press, Cambridge, 1984.

106.- Trapp, M.J. and Slyter, A.L.: Pregnancy Diagnosis in the Ewe. J. Ani. Sci. 57: 1-5 (1983).

107.- Trejo, G.A.: Congelación de Semen de carnero en Pastillas (Pellets) 1.- Efecto de la Congelación Sobre la Motilidad Progresiva, La morfología Espermática y la Fertilidad. En: Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-FMVZ, 110-113 (1983).

108.- Trejo, G.A., Soto, G.R., Nervia, V.B. y Peña, V.M.: Inseminación Artificial en Ovinos con Semen Fresco y Refrigerado. En: Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-FMVZ, 215 (1985).

109.- Trejo, G.A. y Corona, M.J.: Anatomía Comparada entre el Cervix de Ovinos y Caprinos, en Relación al Depósito Instrumental del Semen. En: Reunión de Investigación Pecuaria en México. UNAM-FMVZ, 377 (1987).

110.- Valencia, J. y Bustamante, G.: Ovinos y caprinos. En Reproducción de Animales Domésticos. 348-360. Editorial Limusa, México, 1988.

111.- Walker, S.K., Smith, D.H. and Seamark, R.F.: Timing of multiple ovulations in the ewe after treatment with FSH or PMSG with and without GnRH. J. Reprod. Fert., 77: 135-142 (1986).

112.- Walker, S.K., Smith, D.H., Godfrey, B. and Seamark, R.F.: Time of Ovulation in the South Australian Merino Ewe Following Synchronization of Estrus. 1. Variation Within and Between Flocks. Theriogenology, 31: 545-553 (1989).

113.- Walker, S.K., Smith, D.H., Ancell, P. and Seamark, R.F.: Time of Ovulation in the South Australian Merino Ewe Following Synchronization of Estrus. 2. Efficacy of GnRH Treatment and its Relevance to Insemination Programs Utilizing Frozen-Thawed Semen. Theriogenology, 31: 555-564 (1989).

114.- Walker, S.K., Smith, D.H., Kittle, D.L., Warnes, G.M., Quinn, P. and Seamark, R.F.: Artificial Insemination and Transfer of Embryos by Laparoscopy. In: Reproduction in Sheep. Edited by: Lindsay, D.R. and Pearce, D.T., 306-309. Cambridge University Press, Cambridge, 1984.

115.- Webster, J.R., Suttie, J.M., Veenvliet, B.A., Hanley, T.R. and Littlejohn, R.P.: Effect of melatonin implants on secretion of luteinizing hormone in intact and castrated rams. J. Reprod. Fert., 92: 21-31 (1991).

116.- Wiemer, K.E. and Ruttle, J.L.: Semen Characteristics, Scrotal Circumference and Bacterial Isolates of Fine Wool Range Rams. Theriogenology, 28: 625-637 (1987).