



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES - CUAUTITLÁN

VARIACIÓN EN EL ÍNDICE PORCENTUAL DE LA FERTILIDAD,
MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE DOS TIPOS DE DILUYENTES
SEMINALES, CON LA TÉCNICA DE INSEMINACION ARTIFICIAL, EN
CONEJAS DE RAZA CHINCHILLA.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA:

JOSUÉ MAURICIO CANCINO MEJIA

ASESOR:

M.C. MARÍA MAGDALENA ZAMORA FONSECA

COASESOR:

DR. JOSE ALFREDO MEDRANO HERNÁNDEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

► **A mis padres y hermanos:**

Por su esfuerzo realizado, para poder ver entre mis manos, la herramienta base de la vida.

► **A mi novia:**

Por estar a mi lado en los buenos y malos momentos de mi vida y brindarme todo su amor, respeto y sinceridad.

► **A Dios:**

Por darme el gran regalo de tener salud y paz hasta este momento, en el cual reitero mi creencia en el.

► **A mis maestros:**

Por su ética y nobleza de dedicarse a la docencia con el fin de tener un México mejor.

► **A mis amigos:**

Por todos los momentos que pasamos juntos, en esta etapa de nuestra juventud la cual considero la más bonita y volátil de la vida.

► **A mi asesor y coasesor:**

Por su verdadero apoyo ético y profesional que me brindaron durante la realización de este proyecto.

A.P. 2020

ÍNDICE

	Pág.
1.- Agradecimientos.....	II
2.- Índice.....	III
3.- Resumen.....	IV
4.- Introducción.....	1
5.- Hipótesis.....	15
6.- Objetivos.....	15
7.- Material y Métodos.....	16
8.- Resultados.....	31
9.- Discusiones.....	34
10.- Conclusiones.....	35
11.- Bibliografía.....	36

RESUMEN

La parte práctica de la presente investigación se llevó a cabo en el módulo de Cunicultura y el laboratorio de Reproducción e Inseminación Artificial pertenecientes a la Facultad de Estudios Superiores–Cuautitlán. El objetivo fue evaluar la variación en el índice porcentual de la fertilidad, mediante la utilización de 2 tipos de diluyentes seminales con el uso de la técnica de inseminación artificial. Obtener datos reproductivos por medio del uso de técnicas y métodos realizados en forma experimental nos permite mejorar la productividad de un hato y tener datos disponibles para los futuros trabajos. En el presente trabajo se realizaron 106 inseminaciones con el diluyente Viudes y 93 con el diluyente BTS, se utilizaron 79 hembras de la raza Chinchilla a las cuales fueron inseminadas con un tipo de diluyente cada 45 días. Se les indujo el celo mediante la administración I/M de 0.2ml de eCG (Folligon) 48 hrs. antes de la inseminación artificial e inmediatamente después de inseminar a cada coneja se les administró 0.2ml I/M de acetato de buserelina (Conceptal) para estimular la ovulación. Dicha técnica fue realizada con diferentes implementos en forma experimental entre las cuales podemos mencionar el uso de una pistola para inseminar ganado vacuno adaptada para su uso en conejas y un equipo de sujeción (cañón) el cual favorece el manejo de la coneja. La fertilidad fue medida 30 días después en cuanto al número de hembras paridas. Como complemento a esta investigación fueron calculados el peso promedio de la camada al nacimiento, porcentaje de repeticiones derivados de la inseminación artificial y monta natural, prolificidad, y tamaño de camada. Los diluyentes usados fueron: Viudes de Castro, caracterizado por ser un diluyente especialmente fabricado para conejos y BTS (Beltsville Thawing Solution), usado en la especie porcina para descongelar y diluir el semen. Los machos muestreados que se usaron pertenecen al lote de 10 sementales raza Chinchilla. La recolección del semen se hizo mediante una vagina artificial con una frecuencia de una vez por semana. El semen fue evaluado por muestras individuales en cuanto a su motilidad, mortalidad, normalidad, concentración, volumen y aspecto con el objetivo de identificar a los mejores sementales y proceder a la preparación de una mezcla seminal (pool) diluida a una concentración ideal (30×10^7) para evitar problemas genéticos o alteraciones físicas que influyen en la viabilidad de los espermatozoides. A la mezcla se le realizaron las mismas pruebas y con la cual se llevó a cabo la inseminación artificial. Finalmente se comparó el costo de la Inseminación artificial con el costo de la monta natural, teniendo como datos únicos los costos de alimentación y materiales utilizados. Los resultados obtenidos fueron analizados con el programa Statgraphic plus 4.0 el cual desarrolló las pruebas estadísticas de comparación de medias t student y comparación de proporciones distribución z, con un nivel de significancia del 0.05%. Los datos obtenidos fueron afectados por el uso del cañón y la pistola de inseminación los cuales pueden afectar de forma importante los resultados. El diluyente Viudes de Castro demostró tener una mejor eficiencia estadísticamente significativa en cuanto a la Fertilidad (70%), porcentajes de repeticiones (34%), y tamaño de la camada (8.64) comparado con el diluyente BTS.

Introducción

Generalmente se acepta que el conejo doméstico se desarrolló a partir de la especie *ORYCTULAGUS CUNICULUS*, nombre que proviene del latín que se significa refugio subterráneo o excavador y Cuniculus del griego galería subterránea o conejo. Esta especie está clasificada dentro del Orden; Lagomorfos, por tener dientes incisivos superiores dobles y pertenece a la Familia; Lepóridas (**Barbado, 2004, Lyndsay, 2000**).

Se piensa que los conejos son nativos del sur de Francia, España, Portugal y posiblemente del norte de África. La especie fue llevada a otros países desde España primero por los fenicios y más tarde por los romanos, quienes la dispersaron por toda Europa. Fue en los monasterios franceses entre los siglos VI y X donde se empezaron a criar las diversas razas de conejos domésticos, siendo para el siglo XVIII una actividad bastante popular como para extenderse a Inglaterra y Holanda. A partir del siglo XVIII, aparecieron colores inusuales como el albino, negro, azul y amarillo. En el siglo XIX se empezaron a seleccionar diversas características, que dieron lugar a las diferentes razas de conejos que hoy en día se conocen (**Alvariño, 1993**).

La raza chinchilla es originaria de Francia, obtenida por el mestizaje en 1919, por parte de J. Dybowski quien afirmó que eran obtenidos a través de una cruce entre azules de Beveren e himalayas en la cual una mutación causó el color del pelaje. Las importaciones de esta raza a México se hicieron en el año de 1919. Esta raza se caracteriza por ser una raza de doble propósito (carne y peletería). Existen tres diferentes variedades las cuales se diferencian por el peso y tamaño, la primera es la pequeña en donde los machos pesan de 2.7-3kg, la americana donde los machos pesan de 4.5-5kg y la gigante donde los machos pesan de 5.4-6.8kg (**Lindsay, 2000**).

La importancia de criar conejos se basa en sus características productivas y reproductivas de las que podemos mencionar las siguientes: Alcanzan la pubertad a los 4.5 meses de edad, tienen una tasa de fertilidad que varía de un 80-90%, además de tener 7.2 partos por año (empadré 15 días posparto), con un promedio de ocho crías las cuales tienen una mortalidad del 5% en engorde y un 10% en lactación, su gestación dura 30 días al igual que su lactación. La conversión es alta manejándose datos del 25% al 30%, permitiendo la engorda en un periodo de 90 días con 2.700 Kg. en pie y un rendimiento de canal del 58% (**Baselga, 1989, Buxade, 1996, Granados, 2006, Pereda, 2004**).

En los últimos años, la cunicultura ha pasado de ser una explotación tradicional a una explotación industrial, los países líderes en este sector son Italia, Francia, y España. Tal evolución se ha desarrollado en base al conocimiento de sus características reproductivas de la especie y su adaptación a las necesidades productivas de una población. Paralelo a esto se encuentra el desarrollo de tecnologías de instalaciones y equipo de laboratorio (**Buxade, 1996**).

La inseminación artificial creada para el mejoramiento genético. Es una técnica que tuvo sus comienzos en Italia cuando el fisiólogo Lázaro Spallanzani reportó en el año de 1780 la obtención de cachorros sabueso pequeño. No fue hasta el año 1900 cuando estudios intensos se llevaron a cabo en animales domésticos por los rusos y japoneses. La técnica de inseminación artificial tiene las siguientes ventajas: mejora genética,

control de enfermedades de transmisión sexual, disponibilidad de registros de apareamientos, buen control del hato reproductivo debido a la sincronización, ahorro económicos, selección y estudio generacional de machos sobresalientes, facilitación de pruebas de progenie, resguardo de material genético de machos con alta genética. La inseminación artificial en esta especie se encuentra limitada por el tiempo de viabilidad recomendado para el semen (48hr a 16-18°C) así como la tecnología de congelación del semen que en la especie cunicula, por el momento no ofrece resultados competitivos a nivel de explotación, ya que la motilidad y normalidad acrosómica post-descongelación desciende un 50%, resultando un porcentaje de fertilidad de gestación en torno al 40% y una pérdida de prolificidad alrededor de 2 gazapos (Alvariño, 1993, Buxade, 1996).

El desarrollo y experimentación de diferentes diluyentes seminales, permite aumentar el volumen total del eyaculado, proporcionar un medio ideal para la supervivencia espermática in Vitro y obtener de un solo eyaculado, un número elevado de hembras inseminadas por cada eyaculado (Hafez, 2000).

El diluyente Viudes de Castro, fue desarrollado en el instituto valenciano de investigación agraria y tecnología animal de España. Es específico para el semen de conejo y ha demostrado ser un medio seguro para la conservación del mismo, pues así lo respaldan diversos estudios donde se han determinado otros parámetros. Este diluyente es de costo accesible (Granados,2006).

Tabla 1. Composición química del diluyente Viudes de Castro (Granados,2006).

COMPONENTE	CANTIDAD
Tris (hidroximetilaminometano)	3.0285g
Ácido cítrico monohidratado	1.8480g
Dextrosa D	0.8460g
Agua bidestilada c.b.p.	100ml

El diluyente Betsville Thawing Solution (BTS), fue desarrollado en Betsville en Estados Unidos USA. Su composición esta indicada en la siguiente tabla y generalmente es utilizado como un medio para descongelar y diluir el semen porcino (Granados, 2006).

Tabla 2. Composición química del diluyente BTS (Granados,2006).

COMPONENTE	CANTIDAD
Dextrosa anhidra	3.7g
Citrato de sodio dihidratado	0.6g
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃)	0.125g
Ácido etildiaminotetracético	0.125g
Cloruro de potasio	0.075g
Agua bidestilada c.b.p	100ml

En resumen un buen diluyente expande uniformemente el volumen del eyaculado y le da un medio adecuado para la supervivencia de los espermatozoides, al suministrarle una fuente energética (glucosa o fructosa), una capacidad amortiguadora

del pH (6.8-7.2), antioxidantes y antibióticos que limiten la proliferación bacteriana y sustancias que protejan a las proteínas estructurales de los cambios de temperatura, al mismo tiempo, deberá ser fácil su obtención o fabricación para que su costo sea accesible (**Hafez 2000, Helmot, 1998, Hunter, 1999**).

Poco después de publicarse el descubrimiento de las hormonas gonadotroficas en 1927 por ASCHLEIM y ZENDET, se planeó la idea de estimular el crecimiento folicular y controlar la ovulación con extracto pituitario mezclado con acetona y diluido en solución salina fisiológica al momento de inyectarla. Hoy en día se usa gonadotropina coriónica equina (eCG) con mayor actividad de tipo FSH (**Hunter, 1999**).

La eCG es una hormona polipeptídica con efecto folículo estimulante y una acción limitada de hormona luteinizante. Esta hormona se obtiene del suero de la yegua preñada a mitad de la gestación. Como vemos es una hormona con una actividad folículo estimulante mayor pero a la vez bifuncional (**Sumano, 1997**).

La eCG (Folligon) causa un crecimiento folicular a las 24, 48 o 72 hrs. La dosis utilizada es de 40 U.I (0.2ml.) 48hrs antes de la inseminación artificial, con la finalidad de inducir el celo. La presentación comercial de esta hormona tiene una presentación en fórmula liofilizada 1000 U.I (**Rodríguez, 2002**).

La coneja tiene una ovulación inducida, esto quiere decir que el pene induce la ovulación al momento de rosar en el cérvix, debido a que en una inseminación artificial el macho no se le usa para la monta, la ovulación debe ser producida con la ayuda del acetato de buserelina (Conseptal) a una dosis de .2ml I/M al momento de la inseminación artificial (**Pareda, 2004, Rodríguez, 2002**).

Es de suma importancia, tener en cuenta que un tratamiento hormonal determina una respuesta a nivel de folículo y útero, afectando otros órganos y procesos fisiológicos en la hembra. En el presente trabajo utilizamos fármacos que contienen análogos sintéticos de la FSH y LH mismos que actúan y se secretan en los diferentes órganos como no los muestra la siguiente diagrama.

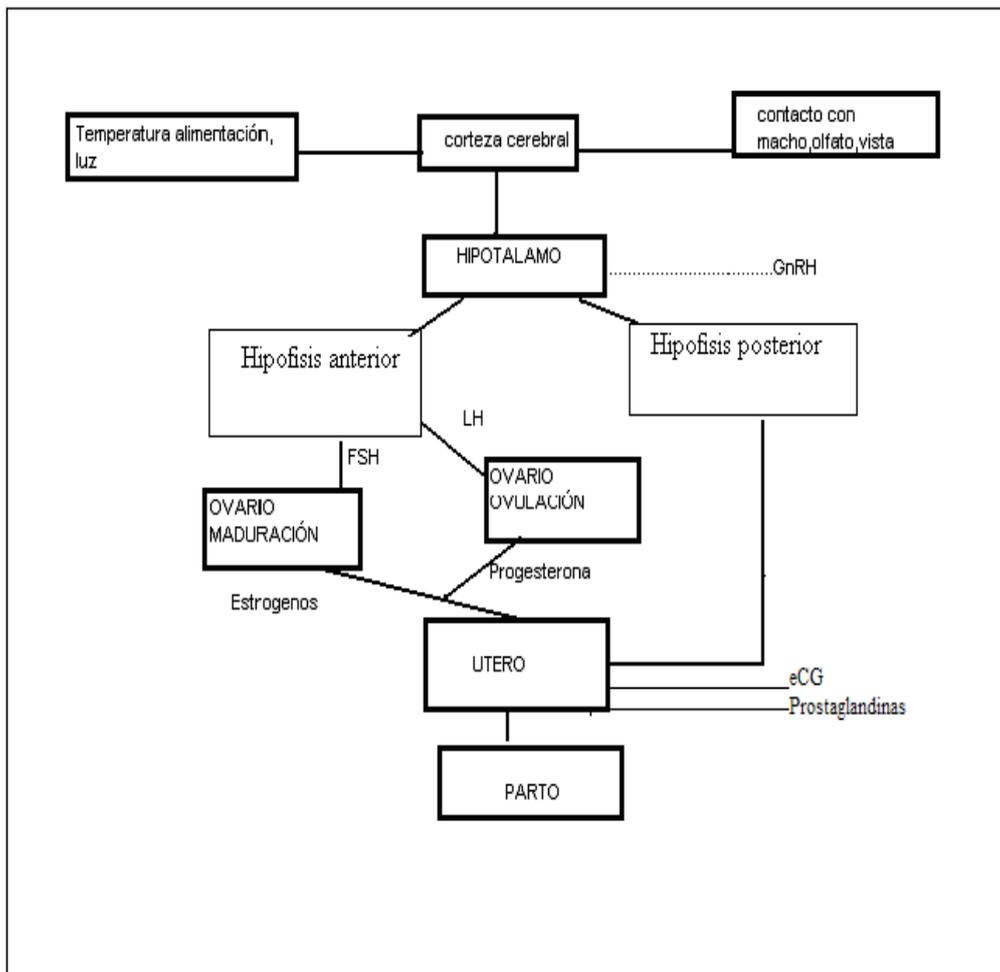


Diagrama de flujo 1. Función hormonal de la coneja (Alvariño, 1993).

Un tratamiento hormonal puede afectar las funciones fisiológicas de tal forma que altera los parámetros normales de la coneja a la cual se trata, por eso es preciso tener en cuenta los parámetros normales de los conejos :

Tabla 3. Parámetros reproductivos de los conejos (Alvaríño, 1993, Falcón, 2005, Granados, 2006, Martínez, 2004).

Duración de la gestación	30 días
Duración del parto	10-30 minutos
Duración de la lactación	30 días
Monta posparto	14 días
Momento de la ovulación	10-12 horas postcoito
Momento aproximado de la fecundación	6 horas postovulacion (12-13hrs postcoito)
Momento ideal para recoger el embrión en estado de mórula	70 horas postcoito
Momento en el cual se encuentra el blastocito en útero	75-80 horas
Momento de la implantación	7 días postcoito
Inicio de la actividad sexual	5 meses
Tipo de ovulación	Inducida
Intentos de monta sin cubrición	60-70 días
Primeras monta con cubrición	100 días
Edad ideal para monta natural	5 meses (6 saltos por semana)
Edad ideal para inseminación artificial	4 meses
Numero de hembras inseminadas por eyaculado	10
Madurez sexual del macho neozelandés	129 días
Numero de montas por dia	2 separada por lo menos 10 minutos
Numero máximo de eyaculados en 8 horas	26 con marcada reducción en volumen (0.2) y concentración (33×10^6)
Máximo de montas registradas en 8 horas	40
Duración total de la copula	70 segundos
Lugar de deposición del esperma	Parte superior de la vagina
Tiempo en llegar el esperma al tubo uterino	5-8 horas

El aparato reproductor masculino se compone por órganos internos: testículos, conductos (epidídimo, conducto deferente y uretra), glándulas accesorias (vesícula seminal, glándula vesicular, próstata y glándula bulbouretral) y órgano externo o pene (Alvariño, 1993).

Los testículos están formados por una masa de túbulos seminíferos donde se efectúa la espermatogénesis y la secreción de testosterona estos túbulos se continúan a una estructura llamada epidídimo el cual es un órgano tubular en donde se da la maduración de los espermatozoides, este órgano se conecta anatómicamente con el conducto deferente el cual es un órgano musculo tubular el cual tiene por función impulsar a los espermatozoides del epidídimo hacia la uretra. Las glándulas anexas al aparato reproductor secretan diferentes sustancias nutritivas, energéticas y de protección (pH) que permiten aumentar el volumen del eyaculado y la supervivencia de los espermatozoides dentro de l sistema genital femenino. El pene u órgano copulador solo deposita el eyaculado en la parte profunda de la vagina. La longitud del pene es de 4-5 cm. mientras que la longitud de la vagina varia entre 6-10cm (Alvariño, 1993, Fradson, 1995).

Estas características son importantes para realizar la técnica de inseminación artificial debido a que en teoría el inseminador deberá meter la pistola de inseminación aproximadamente 8cm para depositar el semen. Lo anterior se limita al tener en cuenta que el eyaculado tiene una porción gelatinosa y que naturalmente no permite que el semen refluya hacia el exterior, característica que no la tiene la dosis diluida con la cual se realiza la inseminación artificial, por lo tanto es mejor meter la pistola 12cm para depositar el semen en útero. Esta relación también nos ayuda a comprender el error que existiría si metiéramos la pistola de inseminación mas de 12cm causaríamos que solo se fecundaran los ovocitos de un solo cuerno alterando la tasa de fertilidad (Engel, 2005).

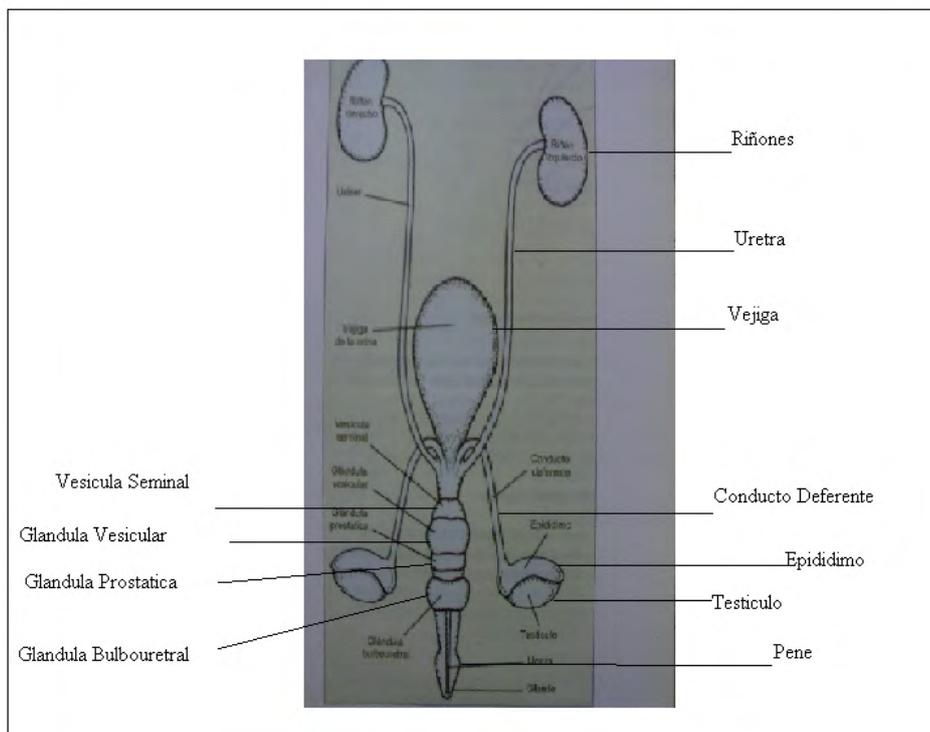


Figura 1. Aparato reproductor masculino y glándulas anexas (Flecknell, 1993)

El aparato reproductor de la coneja se compone por los órganos internos (ovarios, tubo uterino y útero), por un órgano copulador (vagina) y órganos externos (vulva, clítoris, vestíbulo vaginal). Los ovarios son órganos en los cuales se encuentran los folículos o sáculos que contienen en su interior a los ovocitos o óvulos inmaduros que al ser estimulados por diferentes sustancias (hormonas) secretadas por el mismo ovulo, terminan su maduración y salen del sáculo hacia los oviductos para poder ser fecundados por el espermatozoide. El útero formado por un cuerpo (ausente en conejas), cuello y cuernos uterinos son en si órganos tubulares los cuales tienen por función la implantación de los óvulos en su pared muscular vascularizada. La vagina es el órgano copulador donde se deposita el semen y por contracciones negativas transporta los espermatozoides hacia el oviducto. El vestíbulo vaginal es la porción anatómica donde se encuentra el clítoris (órgano sensitivo de la hembra) y el meato urinario (**Flecknell, 2002, Rosell, 2000**).

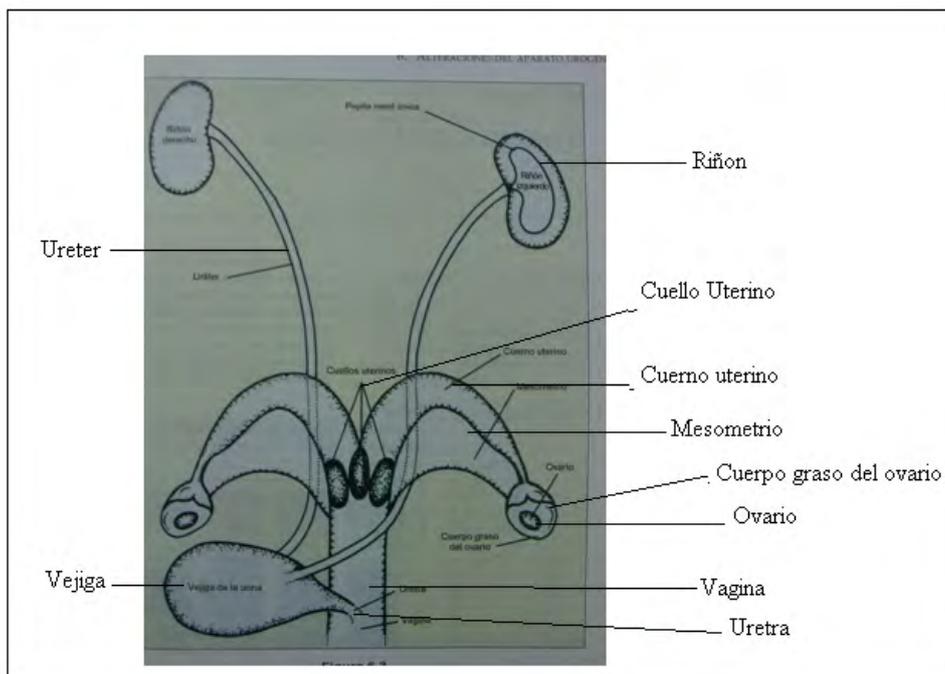
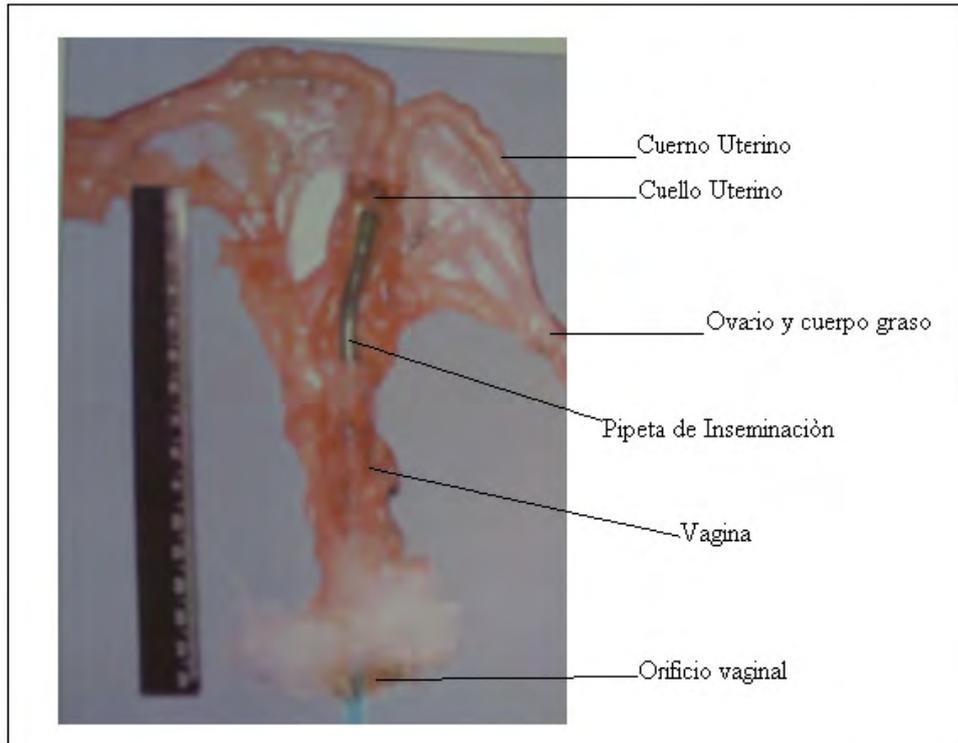


Figura 2. Aparato reproductor femenino de la coneja.(Flecknell, 2002)



Fotografía 1. Aparato reproductor de la coneja mostrando su longitud y la manera correcta de meter la pipeta de inseminación artificial (Alvariño, 1993).

El método utilizado para obtener el semen es por medio del uso de una vagina artificial, la cual se fabrica con utensilios comunes, baratos y su costo es mínimo para su construcción necesitamos:

- Tubo rígido de plástico con un diámetro de 4cm por un lado y 2cm por el otro lado, su longitud es de 7cm y el grosor del plástico es de .15mm. con un orificio de 1cm de diámetro en su parte lateral media.
- Globo del numero 9
- Dos ligas de tamaño estándar.
- Un tapón de goma para sellar el orificio de la cámara de agua (40°C)
- Un tubo colector graduado (ensaye)

El ensamble de la vagina se realiza como se muestra en la siguiente figura:

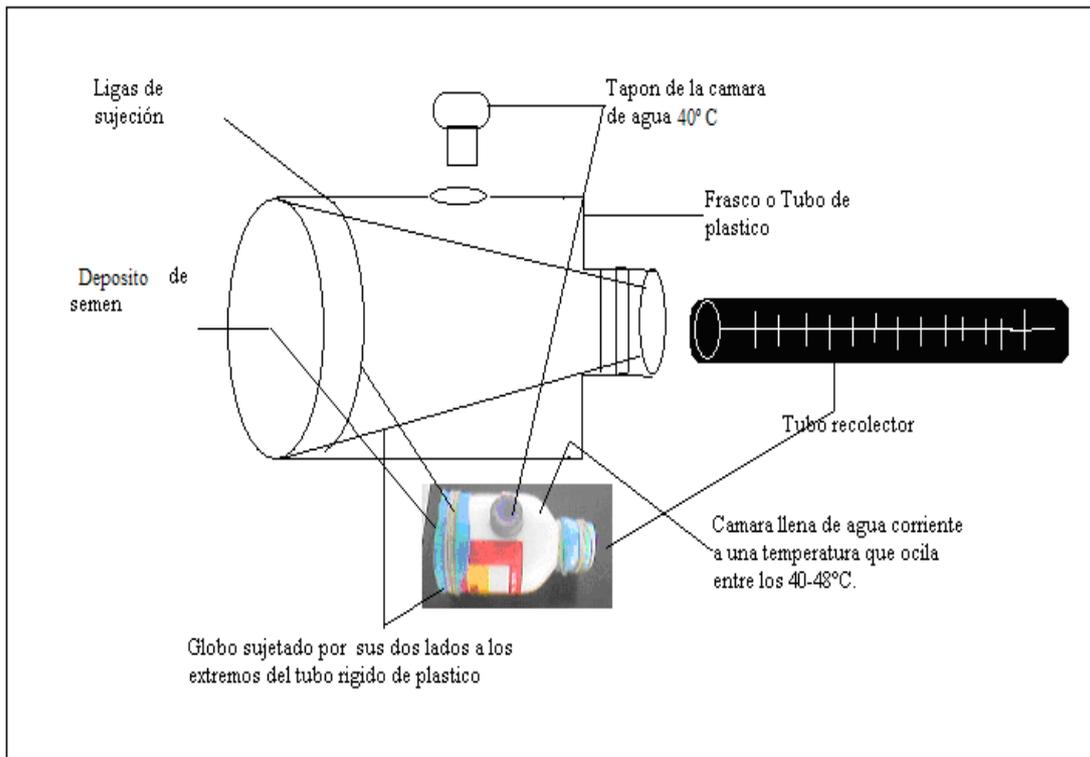


Figura 3. Ensamble de la vagina artificial de fabricación casera usada en conejos

El semen es separado en dos porciones por medio de la centrifugación, obteniendo una parte líquida llamada plasma seminal, formado por la mezcla de secreciones de las glándulas anexas, es un líquido translúcido, blanquecino y viscoso rico en fructosa, iones, ácido cítrico y proteínas, mientras que la porción sólida está formada por los espermatozoides a una concentración espermática de 50-500mill/ml. El volumen del eyaculado varía de 0.3-0.6ml (Alvariño, 1993, Granados, 2006).

A continuación se muestra una tabla la cual nos da más detalles acerca de las características del semen del conejo:

Tabla 4. Características del semen del conejo (Alvariño, 1993).

Característica	Primer eyaculado	Segundo eyaculado
Volumen sin gel (ml)	0.27±0.15	0.26±0.17
Volumen de gel (ml)	0.32±0.21	0.10±0.08
Eyaculado con gel (%)	54	15
Espermatozoides/ml de semen (x10 ⁶)	387±385	427±456
Motilidad espermática (%)	58	57
Aglutinación espermática (0-5)	1.2±1.2	0.8±0.8

Las características mínimas de un semen, requeridas para su uso en la inseminación artificial se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 5. Características mínimas requeridas para el uso de semen (Alvariño, 1993, Hafez, 2006)

Característica	
Motilidad	70% (mínimo)
Concentración	300Mill/ml (mínima)
Coloración	Blanco

El eyaculado del conejo es un líquido denso cremoso, ligeramente blanquecino. A medida que se suceden los saltos en una misma jornada, el líquido espermático se hace más claro por disminución de la concentración espermática este color puede ser modificado por la presencia de elementos anormales, haciéndolo inutilizable (**Hafez, 2000**).

Antes de proceder cualquier valoración debemos observar la existencia de gel procedente de las secreciones prostática y vesicular, este gel (tapioca) en condiciones de monta natural se coagula en la vagina, impidiendo que los espermatozoides refluyan hacia el exterior. En la inseminación artificial el coagulo, es perjudicial por ejercer un efecto aglutinador sobre los espermatozoides perdiendo un alto porcentaje en la motilidad, por lo tanto se tiene que extraer por medio de unas pinzas (**Alvariño, 1993**).

La motilidad es la representación porcentual objetiva del movimiento de los espermatozoides.

El pH del eyaculado del conejo oscila entre 6.8-7.5, con forme pasa el tiempo descende debido a una anaerobiosis en la cual se lleva acabo una fructolisis, produciendo ácido láctico el cual inhibe la motilidad espermática para ahorrar energía. Según la bibliografía un eyaculado con un pH bajo indica un gran numero de espermatozoides vivos y un pH alto superior a 7.2 indica una mortalidad del 60% (**Alvariño, 1993**).

La mortalidad, es el porcentaje de espermatozoides muertos o sin movimiento, para realizarla se usa una tinción llamada nigrosina- eosina la cual tiñe a los acrosomas de los espermatozoides muertos de color rosa y a los vivos de color blanco.

La concentración espermática se refiere al número de espermatozoides contenidos en 1ml del eyaculado. El conteo se realiza en una cámara de Neubauer a una muestra diluida 1:200 (**Martínez, 2004**).

La técnica usada para este fin es la del hemocitómetro o cámara de Neubauer. Esta cámara consta de una sola pieza de vidrio que tiene dos áreas en relieve, en cada una de estas lleva graduada la escala perfeccionada de Neubauer, los bordes de estas áreas se elevan con el fin de dejar un espacio de 0.1mm entre el fondo del área y el cubreobjetos, el área mencionada se compone de 9 cuadros grandes los cuales miden 1mmx1mm, el

cuadrado central se divide en 25 cuadros que miden 0.02mm de lado y a su vez tienen 16 subdivisiones o cuadros con 0.05mm de lado (Etche, 1996, Granados, 2006, Hafez, 2000, HunteR, 1999).



Fotografía 2. Cámara de Neubauer, mostrando su cuadrícula central

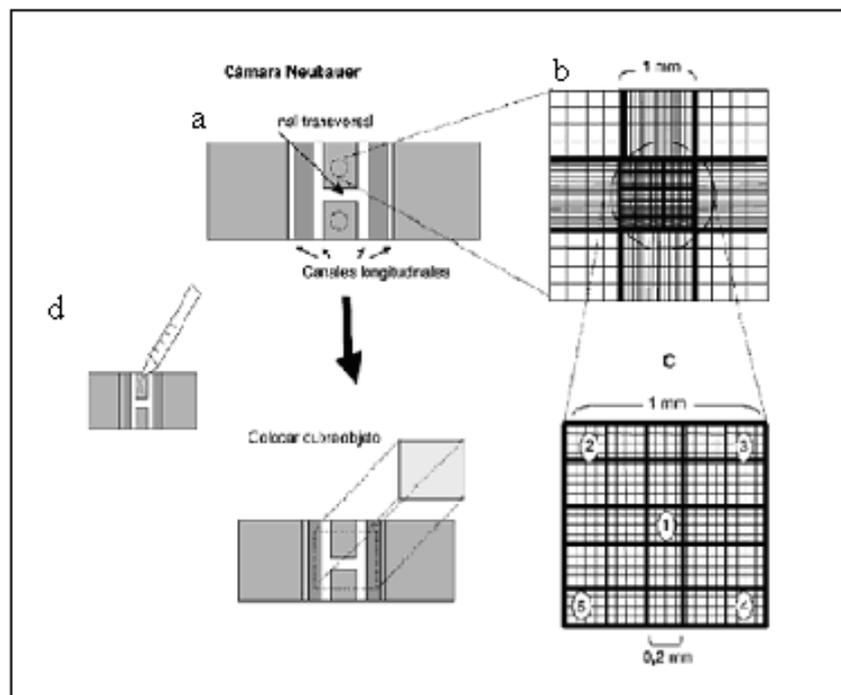


Figura 4. cámara de Neubauer a, b) zonas de relieve y toma microscópica, c) Zona central d) forma de cargar la cámara de Neubauer .

La técnica de inseminación se realizó con el uso de una pistola modificada para su uso en conejas y como una posible alternativa en la inseminación artificial. Esta adaptación está basada en pipetas de inseminación especiales para conejas, que son utilizadas con frecuencia, las cuales vienen en plástico y con una curvatura en su parte anterior de 12° y una longitud de 25cm, cualidades que tiene la pistola de inseminación adaptada. Una de las ventajas que tiene esta pistola es un seguro que se encuentra en la parte superior y tiene como función, no dejar que la funda se deslice al momento de la inseminación artificial.



Fotografía 3. Muestra la pipeta típica usada en la I.A



Fotografía 4. Pistola de I.A adaptada

La pistola usa pajillas de .05ml la cual esta estructurada de la siguiente manera:

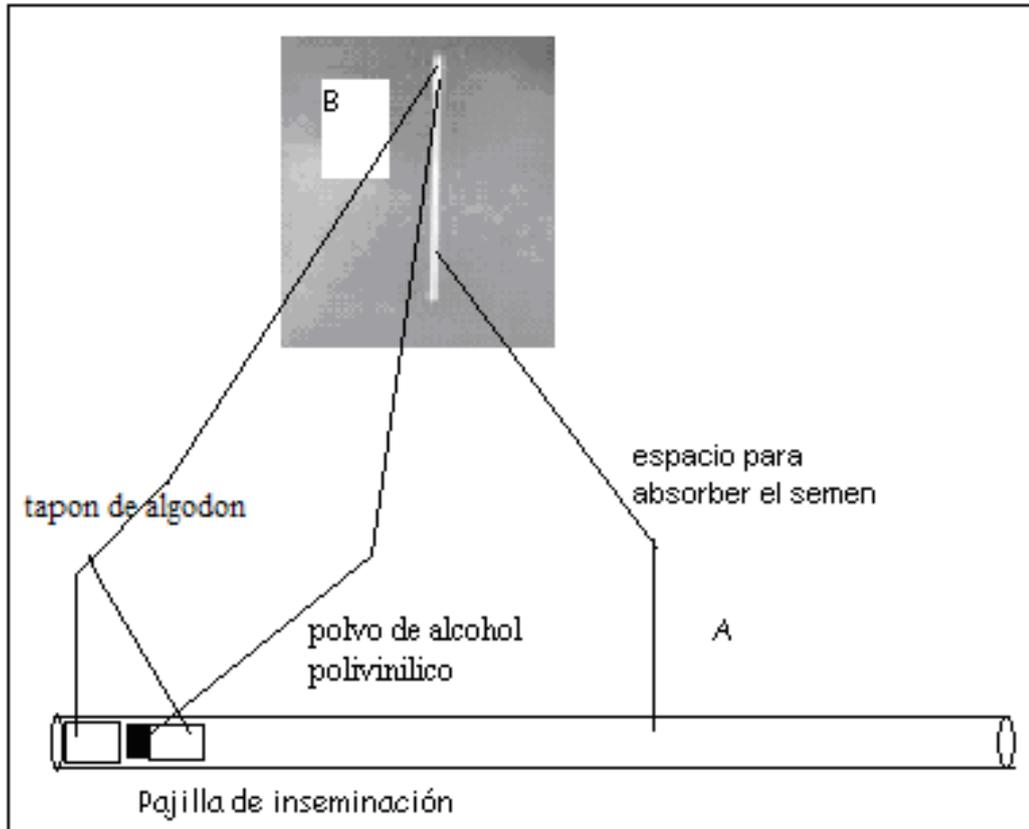


figura 5. Estructura de la pajilla para inseminación, A) Esquema B) fotografía.

La preparación de la pajilla se realiza de la siguiente manera:

Los eyaculados de varios conejos se mezclan para evitar el efecto confundido de un solo macho (pool).

Medir el volumen del semen a utilizar (pool).

Calcular la concentración espermática (pool).

Desarrollar la siguiente formula, tomando en cuenta que la concentración a la cual debe estar nuestra dosis es de 300×10^7 .

$$V = \frac{\text{volumen sin diluir (ml)} \times \text{concentración de semen/ml}}{\text{Numero de celulas requeridas para la I/A}} \times \text{dosis.5ml}$$

Figura 6. Formula para determinar el volumen y concentración ideal espermática (Etches, 1996).

Añadir diluyente (B.T.S o Viudes). Llenar la pajilla con el semen diluido, por el método de succión hasta que el mismo semen moje el alcohol polivinilico.

Después de preparar la pajilla se coloca dentro del termo con el tapón de algodón hacia abajo a una temperatura de 18-20°C, para mantener esta temperatura, se mete un globo con agua caliente a 43°C dentro del termo junto con las pajilla, de esta forma se trasmite el calor por un método de conducción y prevenimos que nuestra pajilla se moje.

La técnica de inseminación artificial, es una herramienta base para el manejo reproductivo en la especie cunicola dicha técnica va de la mano con el uso de los diferentes diluyentes y aditamentos con la cual se efectúa, lo cual altera los índices reproductivos (fertilidad, prolificidad, tamaño de camada, etc). El estudio de los diferentes diluyentes permite elegir el mejor a usar en la Inseminación artificial y tener datos para futuras investigaciones.

Hipótesis

HI: El tipo de diluyente usado en la inseminación artificial, influye directamente en el porcentaje de fertilidad en las conejas de raza Chinchilla.

Objetivo

Objetivo general

Evaluar el índice de la fertilidad mediante la utilización de dos tipos de diluyentes seminales, usando la técnica de inseminación artificial en conejas de la raza Chinchilla.

Material y Métodos

El presente trabajo se realizó en el modulo de producción de carne de conejo de la Facultad de Estudios Superiores de Cuautitlán campo cuatro la cual se localiza en el municipio de Cuautitlán Izcalli Estado de México.

Se utilizaron 79 conejas de raza Chinchilla en edad reproductiva, las cuales se inseminaron cada 45 días con un tipo de diluyente de forma aleatoria con el objetivo de obtener un grupo por cada diluyente usado. Las conejas eran medicadas 42hrs. antes de la inseminación artificial con 0.2ml I/M de eCG (Folligon) para causar el celo e inmediatamente después de la inseminación artificial con 0.2ml I/M de Acetato de Buserelina (Conceptal) para estimular la ovulación.

Se usaron 10 sementales de la raza Chinchilla, los cuales fueron evaluados en cuanto a su calidad de semen (coloración, pH, consistencia y aspecto, motilidad, mortalidad y concentración), usando para esta evaluación el siguiente material; microscopio óptico, baño maria, platina térmica, termo, vagina artificial, tubos de ensaye recolectores graduados, portaobjetos, cubreobjetos, pipetas pasteur, termómetro, tinción eosina-nigrosina, pipetas de 10ml, cámara de Neubauer, contador de células.

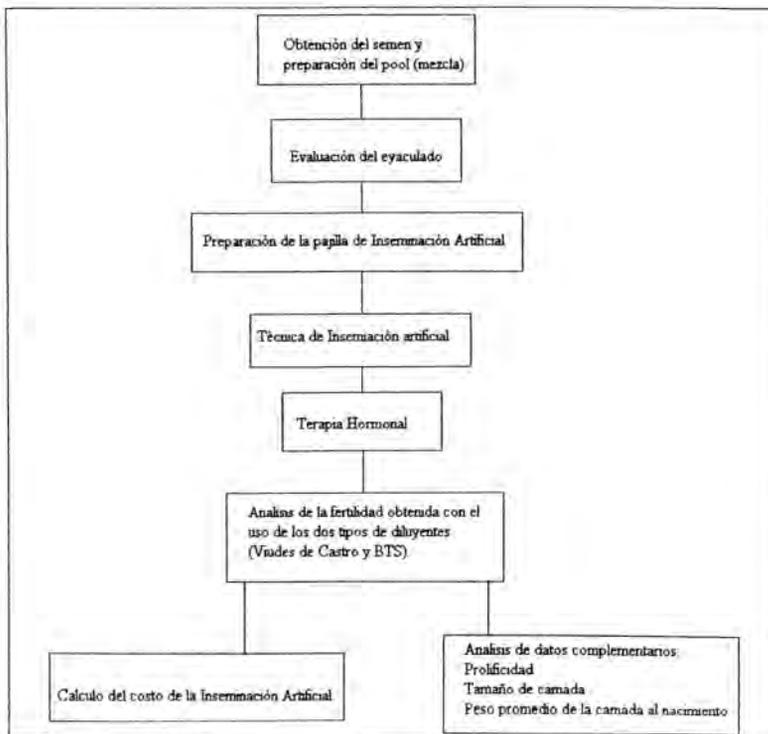


Diagrama2.- Muestra la metodología a seguir

La forma de obtener el semen es la siguiente:

Introducir a la jaula del macho una hembra, ponerla al frente de la jaula de lado izquierdo, para contenerla fuertemente con la mano izquierda.



Fotografía 5. Sujeción de la coneja.

Sostener la vagina artificial con la mano derecha, de manera que el pulgar y el índice sostengan la parte plástica de la vagina y el dedo meñique sostenga el tubo de ensaye para evitar que este se salga.



Fotografía 6. Forma correcta de sostener la vagina artificial para extracción del semen.

Con la mano derecha posicionar la vagina artificial de forma que el fondo del tubo rígido quede debajo de la vagina, para que el conejo deposite el semen al momento de intentar montar a la hembra.



Fotografía 7. Posición ideal de la vagina artificial al momento de la monta.



Fotografía 8. Deposito del eyaculado dentro de la vagina artificial.

Extracción de la porción gelatinosa del eyaculado (tapioca).



Fotografía 9. Extracción de la tapioca del eyaculado

Mantener el semen dentro de un termo a 20°C.



Fotografía 10. Recipiente térmico para la conservación del semen

Obtenido el semen se procedió a su Evaluación:

La interpretación del color del eyaculado se realizo de la siguiente manera:

- Amarillo: Presencia de orina.
- Rojizo: Presencia de sangre.
- Marrón: Elementos sanguíneos degenerados por heces.
- Transparente: Indica muy baja concentración espermática.
- Blanco cremoso: Ideal para usarse en la Inseminación Artificial

La medición del pH, se efectúo con el uso de tiras reactivas las cuales se interpretaron comparando el color que tome la tira al mojarla, con el color que viene marcada en la escala del envase. El pH debe de situarse entre las escalas 6.8-7.2 que regularmente se tiñe de color amarillo verdusco.



Fotografía 11. Tiras reactivas para medición del pH.

Evaluar la consistencia y el aspecto nos basamos en dos condiciones:

- Viscosidad: Líquida
- Denso
- Cremoso
- Presencia o ausencia del gel

Una vez retirada la porción gelatinosa del eyaculado con una pipeta pasteur se deposita una gota sobre un portaobjeto temperado (37-38°C) y sobre dicha gota se pone un cubreobjeto para después colocarlo en la platina del microscopio y observarlo con un objetivo de 40x. La motilidad individual es expresada en porcentaje y su movimiento puede ser rectilíneo progresivo (normal) o circular (anormal).

La prueba de mortalidad se basa en poner una gota de eyaculado sobre un porta objeto junto a una gota de tinción Eosina-Nigrosina, (Eosina 1g + Nigrosina 8g aforado en 100ml de agua destilada), mezclarlas y realizar un frotis, posteriormente secarlo y observarlo al microscopio con un objetivo de 100x. para interpretarlo se contarán 100 células, las cuales representan el 100% y de estas mismas se contarán las cabezas de color blanco (espermatozoides vivos) y las cabezas de color rosa (espermatozoides muertos), reportando el resultado en porcentaje .

La concentración se obtuvo de la siguiente manera:

- Diluir 0.1ml de semen en 9,9ml de diluyente (solución 1:100).
- Diluir 1ml de la solución anterior en 1ml de Solución salina formulada (Solución 1:200). de esta manera obtenemos nuestra dilución y podemos evaluar nuestro semen de la siguiente forma.
- Llenar por el método de capilaridad las áreas de relieve de la cámara de Neubauer, cuidando que no se sobrepase el llenado ni queden zonas sin llenar o burbujas.
- Ponerla al microscopio óptico a un aumento de 40x.
- Concentrar la atención en la zona central (25 cuadros).
- Contar el número de espermatozoides que se encuentran en el cuadrado medio y las 4 esquínastomando en cuenta los espermas que estén sobre las rayas medias superior e izquierda.
- Multiplicar la cifra obtenida $\times 10^7$ y este será el número total de espermatozoides por mililitro

Ya evaluada la concentración de los eyaculados de 3 o 4 conejos se mezclaron para evitar el efecto confundido de un solo macho (pool) y se procedió a preparar la pajilla de inseminación de la siguiente manera:

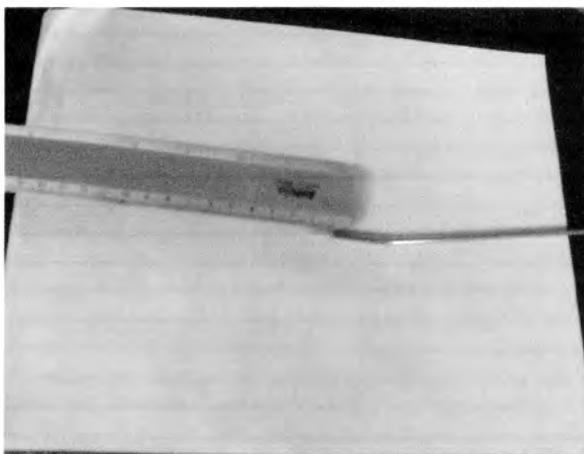
- Medir el volumen del semen a utilizar (pool).
- Calcular la concentración espermática (pool).
- Desarrollar la fórmula, tomando en cuenta que la concentración a la cual debe estar nuestra dosis es de 300×10^7
- Añadir diluyente (B.T.S o Viudes).
- Llenar la pajilla con el semen diluido, por el método de succión hasta que el mismo semen moje el alcohol polivinílico.

Preparada la pajilla de inseminación artificial se procedió a realizar la técnica de inseminación artificial:

La técnica comienza al Introducir la pajilla llena de semen en el orificio anterior de la pistola de inseminación artificial la cual debe sobresalir 1cm del borde.

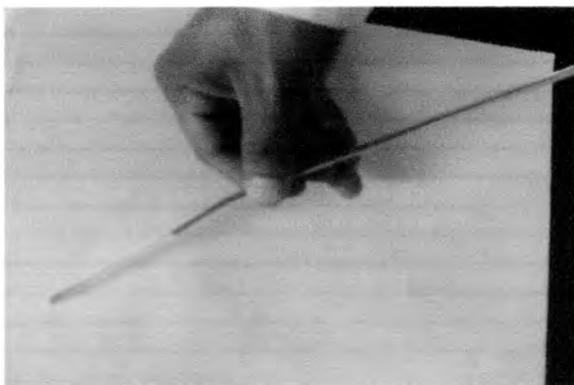


Fotografía 12. Introducción de la pajilla dentro de la pistola de inseminación artificial.

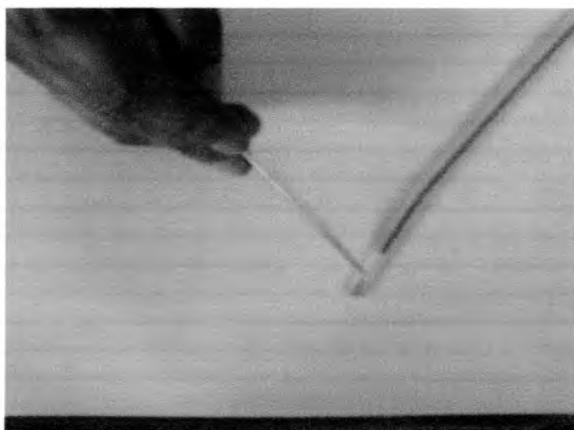


Fotografía 13. Muestra el espacio que queda afuera de la pistola de I.A

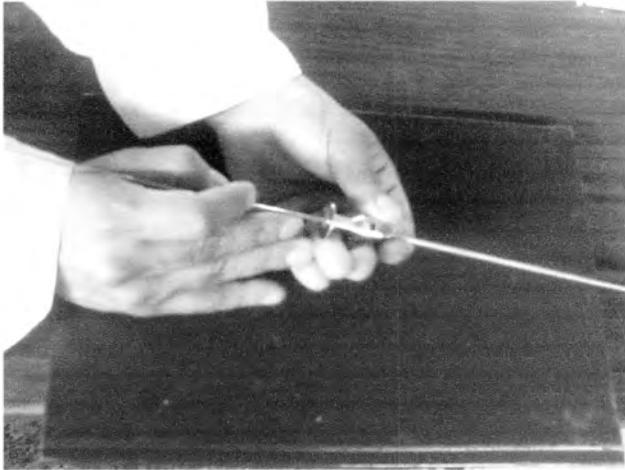
Introducir la funda a manera que el tope de plástico embone con la pajilla y el seguro antes mencionado suene y al tratar de jalar la funda para que no se deslice de la pistola.



Fotografía 14. Se visualiza la manera de meter la funda

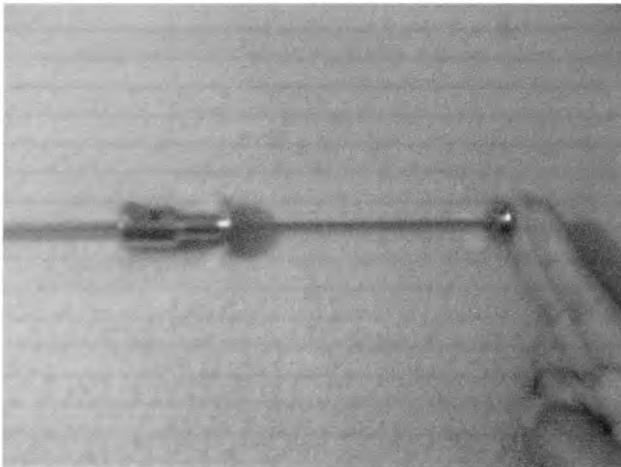


Fotografía 15. Señala la manera correcta de embone entre la funda y la pajilla de LA



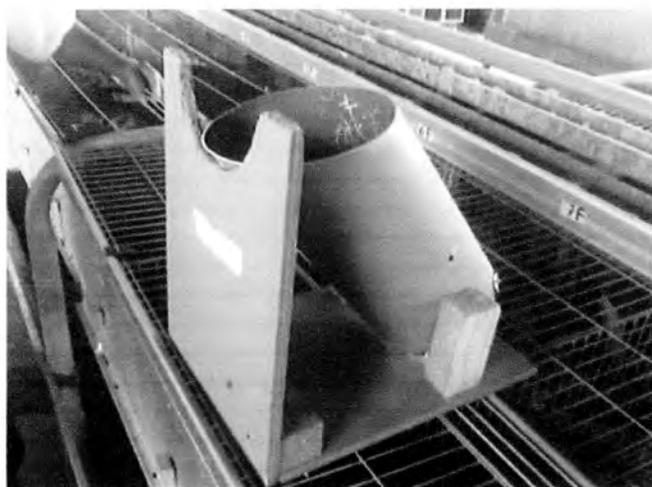
Fotografía 16. Muestra el seguro de la pistola de I.A

Introducir el embolo suavemente hasta sentir que topa con el tapón de algodón de la pajilla



Fotografía 17. Presión suave del embolo hasta llegar al tope

Colocar la hembra dentro del cañón de inseminación, de tal forma que quede inmovilizada a 38° de inclinación.



Fotografía 18. Cañón para la inseminación.



Fotografía 19. Forma correcta de sujetar a la coneja, para introducirla dentro del cañón

Limpiar la zona vulvar con un papel húmedo o con alcohol etílico al 70%.



Fotografía 20. Asepsia de la zona vulvar

Realizar un masaje vulvar, con los dedos índice y pulgar en forma vertical, de arriba hacia abajo.



Fotografía 21. Muestra la forma correcta de dar un masaje vulvar de forma vertical.

Exponer el orificio vaginal lo cual se logra mediante una presión en la parte baja de la vulva.



Fotografía 26. Presión ejercida en la zona vulvar baja

Introducir la pistola de inseminación, girándola suavemente hasta que se encuentre dentro del aparato reproductor, 12cm aproximadamente.



Fotografía 22. Manera correcta de meter la pistola de I.A realizando movimientos lentos y giratorios.

Empujar la mitad del embolo de forma que la mitad del eyaculado salga lentamente y el resto de forma rápida, tratando de imitar el eyaculado natural.



Fotografía 23. Introducción de la pistola aproximadamente 12 cm. dentro del aparato reproductor femenino.



Fotografía 24. Empuje del embolo, para el deposito rápido del eyaculado.

Sacar la pistola lentamente. Ya afuera presionar el seguro para que salga la funda y poder retirar la pajilla.

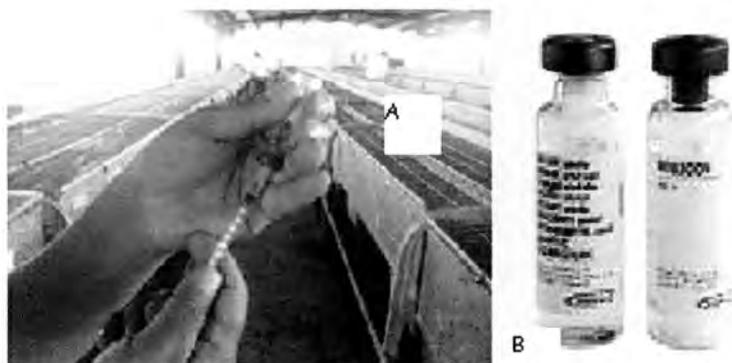


Fotografía 25. Muestra la manera correcta de sacar la pistola de inseminación artificial del aparato reproductor femenino.



Fotografía 26. Presión del seguro y extracción de la funda de inseminación.

EL tratamiento hormonal, usado en la presente investigación fue el siguiente: para causar el celo se Inyecta 0.2ml de eCG(Folligon) 42hrs. antes de la inseminación artificial.



Fotografía 27. A) Preparación de la inyección con eCG, B) Presentación comercial liofilizada del Folligon.

para inducir la ovulación se uso un análogo de la GnRH (acetato de buserelina) que lleva por nombre comercial CONCEPTAL, solución inyectable 10ml el cual se aplicó 0.2ml via intramuscular al momento de la inseminación artificial.



Fotografía 28. a) Administración del conceptual, b) Presentación comercial del conceptual.

Resultados

Para analizar estadísticamente los resultados se usó el programa Statgraphic Plus 4.0, el cual realizó una comparación de medias y proporciones por los métodos t de Student y distribución z.

En la tabla 9 se presentan las variables obtenidas de cada grupo de conejas inseminadas con cada diluyente. La fertilidad, repeticiones (en porcentaje) y el tamaño de camada fueron diferentes entre diluyentes.

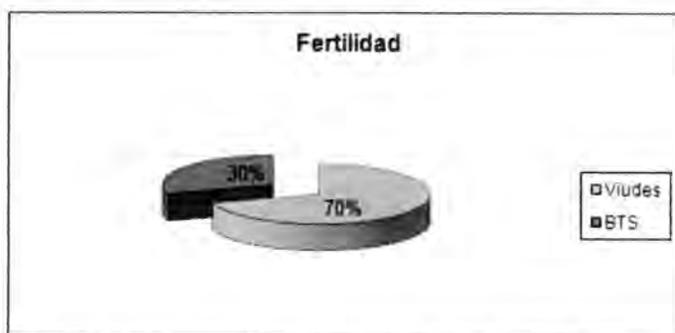
Tabla 6. Datos obtenidos durante la presente investigación.

Conejas tratadas	Diluyente usado	Nacidos vivos	Numero de repeticiones	numero de gazapos muertos	Prolificidad	Fertilidad (%)	Tamaño de la camada	Porcentaje de repeticiones	Peso promedio al nacimiento (g)
106	Viudes	614	35a	43	5.79	72.4 a	8.64 a	33a	49.8
93	BTS	232	60b	27	2.49	31.18 b	7.5	64.5b	52.1

Valores con letras diferentes entre columnas difieren significativamente ($P < 0.05$)

Comportamiento de la fertilidad con el uso de los dos tipos de diluyentes

En la siguiente gráfica se muestra el porcentaje de fertilidad obtenido con cada tipo de diluyente; como se puede observar, la fertilidad obtenida con el diluyente Viudes es más del doble de la obtenida con BTS.



Gráfica 1. Comportamiento de la fertilidad con el uso de dos tipos de diluyentes seminales.

Porcentajes de repeticiones obtenidos por la inseminación artificial

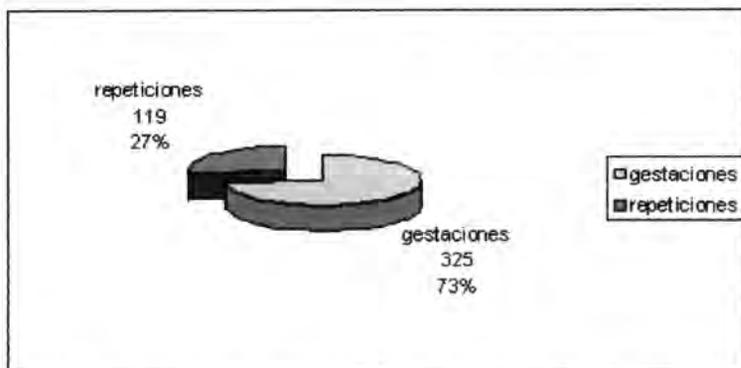
En la gráfica 3 se muestra el porcentaje de repeticiones en las conejas inseminadas con los dos diluyentes; el valor obtenido con BTS fue doble del obtenido con Viudes.



Gráfica 2. Porcentaje de repeticiones obtenidas por el método de inseminación artificial

Porcentajes de repeticiones obtenidos por la monta natural

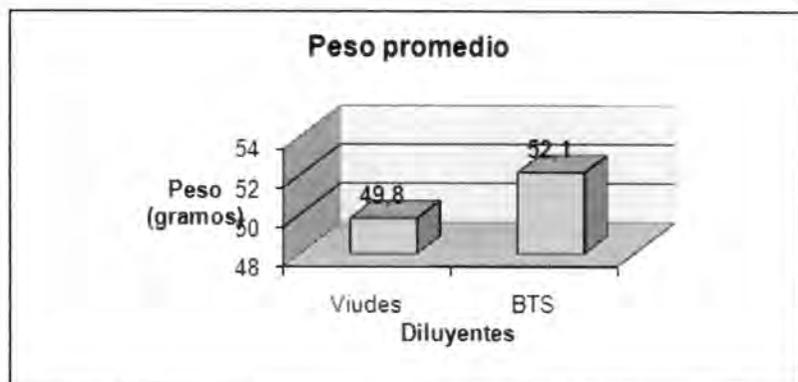
Con el propósito de comparar los porcentajes de repeticiones obtenidos en este trabajo con los de la monta natural en la misma explotación se presenta la siguiente gráfica (4). Se puede apreciar que con el diluyente Viudes se obtienen resultados similares a los de la monta natural.



Gráfica 3. porcentaje de repeticiones y gestaciones obtenidas por el método de monta natural.

Peso promedio de los gazapos obtenido en la inseminación artificial

En la gráfica 5 se presentan los pesos promedio de los gazapos al nacimiento provenientes de conejas inseminadas con los dos tipos de diluyentes, ambos valores son similares.



Gráfica 4. pesos promedio de los gazapos obtenidos por el método de inseminación artificial.

Discusión

En base a los resultados obtenidos en la presente investigación, se puede apreciar que el diluyente Viudes de Castro, demostró poseer una eficiencia superior al diluyente B.T.S en cuanto a la fertilidad obtenida, observándose un 70% para el diluyente Viudes de Castro y solo un 30% para el diluyente B.T.S.

En cuanto a la eficiencia de la monta natural comparada con la inseminación artificial se pudo observar por medio de los registros y el presente trabajo, que la monta natural tiende a arrojar porcentajes menores de repeticiones de calor y porcentajes mayores de gestaciones en comparación con la inseminación artificial.

Otro dato observado es el peso promedio de los gazapos nacidos, el cual es mayor en gazapos obtenidos por la utilización del diluyente BTS (51.2g) en comparación con los obtenidos por el uso del diluyente Viudes de Castro (49.8 g); sin embargo, esta diferencia no es significativa.

Conclusiones

Con los resultados obtenidos en la presente investigación y en comparación con otros autores se puede concluir que:

- 1.- La fertilidad obtenida con el uso de los dos diluyentes fue mejor con el Viudes siendo éste el más indicado para usarse en la inseminación artificial .
- 2.- La prolificidad no fue estadísticamente significativa con el uso de los dos diluyentes
- 3.- El peso de la camada no fue estadísticamente significativo con el uso de los dos diluyentes
- 4.- El tamaño de camada tuvo una diferencia significativa: siendo el Viudes de Castro el diluyente ideal para obtener un mejor tamaño de camada.
- 5.- El porcentaje de repeticiones fue significativamente diferente siendo el BTS quien produjo mayores repeticiones.
- 6.- El mejor diluyente para usarse en la inseminación artificial en conejas es el diluyente Viudes de Castro, dato que coincide con trabajos antes realizados (Granados, 2006).

Bibliografía

- 1.-ALVARIÑO, R. 1993. Control De La Reproducción En El Conejo. Ed. Mundi- Prensa. España.
- 2.-BARBADO, J. 2004. Cría de Conejos. Ed. Albatros. Argentina.
- 3.-BASELGA, M. 1989. Mejora Genética del Conejo de Producción de Carne. Ed. Mundi-Prensa. España.
- 4.-BUXADE, C. 1996. Producciones Cuniculas y Avícolas Alternativas. Tomo X. Ed. Mundi-Prensa Madrid, Barcelona, México.
- 5.-ENGEL, W. V. 2005. Fisiología Veterinaria. Ed. Acribia. México.
- 6.-ETCHES, R. 1996. Reproducción Aviar. Ed. Acribia. España
- 7.-FALCON, O. 2005. Respuesta De la Receptividad, Fertilidad y Prolificidad en Cuatro razas de Conejas de Reemplazo, Con El Uso De Flushing. Tesis de Licenciatura. F.E.S.- C, UNAM
- 8.-FLECKNELL p. 2002. Medicina y Cirugía del Conejo. Ed. S. España.
- 9.-FRADSON. 1995. Anatomía y Fisiología De los Animales Domésticos. Ed. Graw-Hill. México
- 10.-GRANADOS, S. 2006. Evaluación de Tres Tipos De Diluyentes Seminales y Su Capacidad Para Mantener La Motilidad Espermática En Conejos De Raza Chinchilla. Tesis de Licenciatura. F.E.S.- C, UNAM.
- 11.-HAFEZ, B. 2000. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Ed. Mcgraw-Hill. México.
- 12.-HELMOT, K. 1998. Métodos de Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria de Mamíferos Domésticos. Ed. Acribia. España
- 13.-HUNTER, R. 1999. Fisiología y Tecnología de la Reproducción de la Hembra de los Animales Domésticos. Ed. Acribia. España
- 14.-LINDSAY, L. 2000. Manual Practico Del Conejo. Ed. Hispano Europea. Barcelona, España.
- 15.-MARTÍNEZ, J. 2004. Evaluación De Las Características Seminales y Su Relación Con La Productividad En Los Sementales Del Modulo De Conejos De La Facultad De Estudios Superiores De Cuautitlán. Tesis de Licenciatura. F.E.S.- C, UNAM.
- 16.-PEREDA N.;BURGOS I.; MILANES A. 2004. Estudio descriptivo del sistema reproductor de conejas sometidas a diferentes métodos de sincronización de celo. Symposium de cunicultura de España.
- 17.-RODRIGUEZ, R. 2002. Control de la reproducción en la coneja. Memorias del Segundo Congreso de Cunicultura de Las Américas. Cuba.
- 18.-ROSELL J. 2000. Enfermedades del Conejo. Ed. Mundi Prensa. México.
- 19.-SUMANO, O. 1997. Farmacología Veterinaria. Ed. Mcgraw-Hill. México.