

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

MANUAL DE TÉCNICAS DE INSEMINACIÓN
ARTIFICIAL EN OVINOS

TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

BRUNO OCTAVIO RODRÍGUEZ MENDOZA

Asesores:

MVZ MPA Juan Alberto Balcázar Sánchez

Dr. Antonio Ismael Porras Almeraya

México D.F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIAS

A mi madre, quien es sin duda la mejor persona que he conocido en la vida...

A Marco Antonio y Mario Arturo, hermanos y compañeros de toda una vida.

A todos mis tíos y primos (ceranos y lejanos), a quienes siempre tengo presentes.

A Adriana –sabes bien que siempre serás especial para mí- TA.

A todas aquellas personas que me aprecian tanto como yo a ustedes.

AGRADECIMIENTOS

Primero que nada, a mi madre -Alicia M.- quién ha realizado hasta lo imposible para que este día se haga realidad. -El apoyo que me has brindado ha sido fundamental, no imagino que tan difícil hubiera sido todo si no te tuviera a mi lado-. Espero que el doble esfuerzo que realizaste hasta éste día, se transforme en doble felicidad.

Para aquellos que han sido mis padres, ustedes han ocupado ese lugar en las más importantes etapas de mi vida: Joaquín F., Fernando M.

A mis hermanos: Marco Antonio y Mario Arturo de quienes he aprendido innumerables lecciones, a Yessica, Citlalli y Cesar que siempre han sido un gran ejemplo a seguir en todos los aspectos de la vida.

A mi familia, Tayde M.(+), Faustino M.(+), Concepción M., Joaquín F., Aida M., Fernando M. y Lennis, quienes me han querido y tratado siempre como si fuera otro hijo suyo. A mis tíos Adriana M., Leticia M., José Luis O., Ignacio M. (+), José S. (+), Rebeca (Rebe), Judith y Susi (Willis). A mis primos (Yess, Cali, Cesar, Luis L., Xime, Myriam, Bianka, Chucho) y sobrinos. Un agradecimiento especial a Gerardo P.(+) y Antonio C.

A Adriana, que eres tan especial para mí, y me has apoyado en todo momento. Porque has sufrido y gozado junto conmigo cada instante desde que decidiste entrar en mi vida. Una persona como tú no se encuentra todos los días y cuando se encuentra, no se debe dejar ir tan fácilmente.

A mis otros hermanos: David y Fernando, que aunque no estamos juntos ahora, siempre habrá buena amistad que no nos deja apartarnos definitivamente, gracias por su amistad y por todas las experiencias y consejos a lo largo de estos ya casi 10 años. A mi otra hermanita: Anna que siempre has tenido un gran aprecio por mí.

A mis asesores de tesis, por regalarme su confianza para la realización de éste trabajo y de todas las responsabilidades puestas a mi cargo dentro del departamento de reproducción. Beto: por la estima que has puesto en mí, y por enseñarme que la educación siempre es mejor cuando se realiza entre buenos amigos. Doc. Porras: Por enseñarme que las metas difíciles, son las que más se disfrutan, y que entre mayor esfuerzo se pone en realizarlas, mayor es la recompensa que se obtiene.

A mi jurado: Blanca Cervantes, Jesús Romero, Jorge Armando Álvarez, Carlos Gutiérrez y Alberto Balcázar, por las aportaciones y el interés mostrado en este trabajo.

Al departamento de Reproducción de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por todo el apoyo para realización de ésta tesis.

Al programa PAPIME PE-207706, por contribuir con los instrumentos fotográficos y con los programas de edición de imágenes.

A los académicos y amigos del “H. Depto. De Reproducción” (Dra. Sssusi, Anita, Toño, Adriancito, Beto, Doc. Porras, Rafita, Yola, Charlie, Dra. Rosita, Dr. Joel, Dra. Lucy, Dra. Myriam, Lulú, Chris, Silene, Bety, Steph, Rosita,), por su amistad, aprecio, tantos momentos de sonrisas, y porque cada día en el departamento aprendí mucho de cada uno de ustedes.

Al Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal, por permitirme obtener parte del material visual utilizado en éste trabajo.

Un agradecimiento enorme al doctor Jorge Armando, y a los alumnos del CEPIPSA, en especial a Omarcito, Toñito “Valencia”, Erika y Juan, del área de ovinos, por todo el apoyo otorgado con las ovejas para éste trabajo y la ayuda en las innumerables prácticas de reproducción, una disculpa por tantas molestias.

A todas aquellas personas que contribuyeron desinteresadamente con su apoyo, aprecio y consejo.

CONTENIDO

Resumen.....	1
1. Introducción.....	2
2. Objetivo	4
3. Procedimiento.....	4
4. Manual de IA.....	6
4.1 Métodos de colección de semen.....	7
4.1.1 Colección por vagina artificial.....	7
4.1.2 Colección por electroeyaculación	11
4.2 Evaluación de semen.....	14
4.2.1 Evaluación Macroscópica del semen	14
4.2.2 Evaluación Microscópica del semen.....	15
4.3 Inducción y sincronización de estros.....	21
4.3.1 Inducción del estro.....	21
4.3.2 Sincronización del estro.....	23
4.4 Técnicas de inseminación artificial en ovinos.....	25
4.4.1 Inseminación artificial por vía vaginal.....	25
4.4.2 Inseminación artificial vía cervical.....	30
4.4.3 Inseminación artificial transcervical.....	39
4.4.4 Inseminación artificial intrauterina por laparoscopia.....	45
4.5 Anexos.....	59
5. Conclusión.....	61
6. Literatura.....	62

RESUMEN

RODRÍGUEZ MENDOZA BRUNO OCTAVIO. Manual de técnicas de inseminación artificial en ovinos (bajo la dirección de: MVZ, MPA Juan Alberto Balcázar Sánchez y Dr. Antonio Ismael Porras Almeraya)

El objetivo del presente trabajo, es la elaboración de un manual que describa las técnicas de inseminación artificial utilizadas en la especie ovina de una manera didáctica y clara. Para la elaboración de éste manual, se realizó una revisión de literatura acorde a las técnicas de inseminación artificial utilizadas en la especie ovina, las cuales se clasificaron de acuerdo al lugar en el cual se deposita el semen dentro del tracto reproductivo de la hembra: vía vaginal (IAV), cervical (IAC), transcervical (IAT) y por último, la vía intrauterina (IAU). El material visual consta de imágenes fotográficas, la cuales fueron obtenidas de las prácticas de reproducción ovina y de los manejos reproductivos que se realizan en el Centro de Enseñanza, Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) de la FMVZ de la UNAM. La edición de las imágenes fotográficas y los esquemas se realizaron con la ayuda de programas de cómputo dentro de las instalaciones del Departamento de reproducción de la FMVZ. Éste manual es una herramienta que servirá de apoyo en la capacitación de todas aquellas personas interesadas en el aprendizaje y utilización de las técnicas de inseminación artificial en ovinos.

1. INTRODUCCIÓN

Las principales ventajas que hacen de la inseminación artificial (IA) una herramienta práctica para mejorar la producción animal y la reproducción de los animales domésticos son: el mejoramiento genético, la disminución de enfermedades de transmisión sexual, la optimización en el uso de los sementales de una explotación, y la posibilidad de diluir y preservar el semen (fresco, refrigerado o congelado) de machos sobresalientes o que hayan muerto (Hafez, 2002).

Para obtener una buena eficiencia reproductiva en ovinos, se requiere que la IA se realice con la utilización de otras técnicas reproductivas como son la inducción de la actividad reproductiva y sincronización de estros, así como una cuidadosa detección de celos previa a la IA para aumentar la posibilidad de que las hembras queden gestantes. (Maxwell y Hewitt 1986). Esto ha permitido que el uso de la IA se esté incrementando en los últimos años (Caballero, 1995; Cerbón 1995).

Existen diferentes técnicas para llevar a cabo la inseminación artificial en esta especie según la vía de aplicación o lugar de deposición del semen: IA vaginal (IAV), IA cervical (IAC), IA transcervical (IATC) y la IA intrauterina (IAU), (Hafez 2002). La inseminación por vía vaginal, es la técnica de inseminación más sencilla, en la cual no se necesita de una gran habilidad o entrenamiento por parte del operador, sólo se deposita el semen en el fondo de la vagina sin realizar esfuerzo alguno de buscar el cérvix. La desventaja de este procedimiento, es que la fertilidad de las hembras inseminadas por esta vía es muy baja (35 a 50%) ya que mucho del semen depositado escurre hacia fuera de la vagina y se pierde gran cantidad de la dosis, por

lo tanto se necesitan mayores volúmenes y concentraciones de espermatozoides en cada dosis (Hafez 2002). Por ésta razón, en la actualidad ésta técnica ya es muy poco utilizada.

La técnica de inseminación cervical consiste en introducir una pipeta de inseminación por la vagina de la oveja y realizar el depósito de semen en el cérvix, de preferencia pasando el primer o el segundo anillo cervical. Con esta técnica se coloca la dosis de semen dentro del canal cervical, sin embargo, gran parte de esta dosis se queda en las criptas cervicales (Hafez 2002). Cueto y Gibbons (1995), mencionan que con ésta técnica se puede obtener una fertilidad similar (60%) que la lograda cuando se realiza la técnica de inseminación intrauterina por laparoscopia.

El gran inconveniente de la técnica por vía transcervical (IATC), es por la propia anatomía del cérvix de la oveja, ya que representa una barrera natural que dificulta el paso del dispositivo de inseminación para depositar el semen en el útero, además de que existe la posibilidad de dañar el cérvix al intentar pasar la pipeta hacia el útero. (Wulster-Radcliffe *et al*, 2004; Kershaw C. *et al*, 2005).

En la IA intrauterina, se observa un incremento en la fertilidad (70 a 80%) en comparación a la obtenida con la inseminación por vía cervical o transcervical, La IAU se puede llevar a cabo por medio de de la celiotomía o por vía laparoscópica (Maxwell *et al*, 1980; Anel *et al*, 2005; Butt, 1992). En la IAU mediante laparoscopia, la recuperación de la hembra al proceso quirúrgico es más rápida y mucho menos estresante que en la celiotomía en la cual se incide la cavidad abdominal para poder exteriorizar el útero. (García 2005).

En la actualidad existe un gran interés en el uso de estas técnicas de inseminación artificial, ya sea por estudiantes de Medicina Veterinaria y Zootecnia, técnicos pecuarios, médicos veterinarios y productores. Por tal motivo se considera que la realización de este manual será una herramienta importante para contribuir al aprendizaje de las técnicas de IA en ovinos por dichas personas interesadas en aprenderlas.

2. OBJETIVO

El objetivo de éste manual es que, de una manera didáctica, se describan detalladamente acompañadas con imágenes, las diferentes técnicas de Inseminación Artificial que se realizan en los ovinos y puedan ser aprendidas por todas aquellas personas interesadas en la producción y reproducción del ganado ovino.

3. PROCEDIMIENTO

Se realizó la toma de imágenes durante los manejos reproductivos rutinarios, prácticas de reproducción ovina y en los trabajos experimentales llevados a cabo en el Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA) de la FMVZ de la UNAM, ubicado en el km 28.5 de la carretera federal México-Cuernavaca, poblado de San Miguel Topilejo, delegación Tlalpan D.F. El clima de la región es semifrío-semihúmedo, con lluvias en verano y precipitación pluvial de 800 a 1200 mm.

La revisión de literatura, elaboración de esquemas y edición de las imágenes, fueron realizadas en las instalaciones del Departamento de Reproducción Animal de la FMVZ de la UNAM, ubicadas en el Circuito Exterior de Ciudad Universitaria, delegación Coyoacán D.F. Para la

edición de imágenes y realización de esquemas, utilizando los programas Adobe® Photoshop® CS3, versión 10.0.1 y Adobe® Illustrator® CS3, versión 13.0.1.

Finalmente se desarrolló un escrito que consta de:

- 1 Introducción
- 2 Objetivo
- 3 Procedimiento
- 4 Manual de IA
 - 4.1 Métodos de colección de semen
 - 4.1.1 Colección por vagina artificial
 - 4.1.2 Colección por electroeyaculador
 - 4.2 Evaluación del semen
 - 4.2.1 Evaluación Macroscópica
 - 4.2.2 Evaluación Microscópica
 - 4.3 Inducción y sincronización de estros
 - 4.3.1 Inducción del estro
 - 4.3.2 Sincronización
 - 4.4 Técnicas de Inseminación Artificial
 - 4.4.1 Inseminación Artificial vía Vaginal
 - 4.4.2 Inseminación Artificial vía Cervical
 - 4.4.3 Inseminación Artificial Transcervical
 - 4.4.4 Inseminación Artificial Intrauterina
 - 4.5 Anexos
- 5 Conclusión
- 6 Literatura

4.MANUAL DE TÉCNICAS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN OVINOS

Este manual describe las técnicas de IA que son utilizadas comúnmente en la especie ovina, describiéndolas y mencionando sus ventajas y desventajas.

Así mismo, se dan las indicaciones para la utilización de cada una de estas técnicas, el material que se necesita para llevarlas a cabo y se explica de una manera clara y detallada el manejo zootécnico que se realiza en la hembra en cada técnica, hasta el término de la misma.

Ya que una parte fundamental de un programa de IA es el correcto manejo del semen se explican los métodos de colección y evaluación de semen, que se realizan rutinariamente al mismo.

4.1 Métodos de colección de semen.

El semen se define como una suspensión de espermatozoides y plasma seminal que proviene de las glándulas sexuales accesorias, y que sirve como medio que brinda protección y nutrientes a los espermatozoides (Hafez 2002). El semen es una parte fundamental en la IA, ya que, un mal manejo de éste, o una mala calidad de eyaculado, afectará indiscutiblemente el éxito de un programa de IA reflejándose en una baja fertilidad, esto se debe a que los espermatozoides son células que son sumamente termolábiles y fotosensibles, por lo tanto, deben ser tratados correctamente para evitar dañarlos.

La colección de semen es el método por el cual podemos obtener espermatozoides fértiles. Los métodos para su colección en los ovinos son: mediante la vagina artificial y por electroeyaculación.

Es importante mencionar, que en ambos casos hay que realizar una limpieza previa del prepucio y de la zona aledaña a él, ya que esto evitará que el eyaculado se pueda contaminar. El material que se utiliza en la colección de semen debe estar siempre limpio y de preferencia estéril, sobre todo aquel que entra en contacto directo con el semen, y el técnico que realiza la colección debe tener la precaución de utilizar guantes de látex estériles durante la colección.

4.1.1 Colección por vagina artificial

El método más utilizado por ser el más fácil de usar, con el cual se obtienen volúmenes de eyaculado entre 0.5 y 1.5ml, en una o hasta tres montas del macho. La vagina artificial consta de un cilindro rígido, una funda de látex, ligas, una válvula para regular la presión del aire, un

cono que puede ser de látex o de plástico, un tubo colector para el semen y una jeringa para la introducción de agua. (Figura 1)

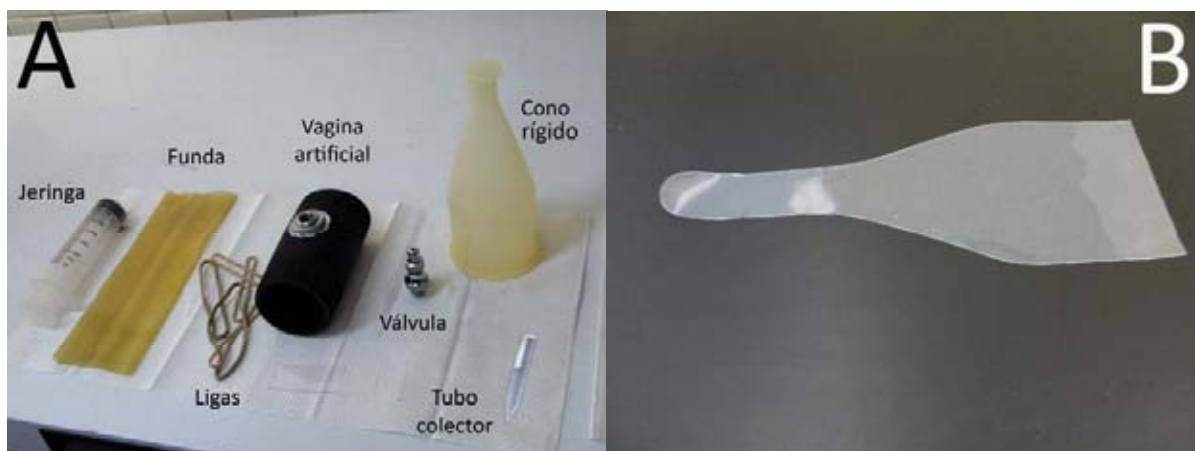


Figura 1. A) Elementos de la vagina artificial; B) Imagen del cono de plástico

La vagina artificial es un cilindro rígido y hueco de aproximadamente 20-25cm de longitud 8cm de diámetro, al cual se introduce una funda de caucho o látex, que se dobla y sostiene con unas ligas en cada extremo del cilindro, formando así una cámara. El cilindro cuenta con una válvula por la cual se introduce agua caliente y aire para lograr simular los estímulos de la vagina natural de una hembra (presión y temperatura). (Figura 2)

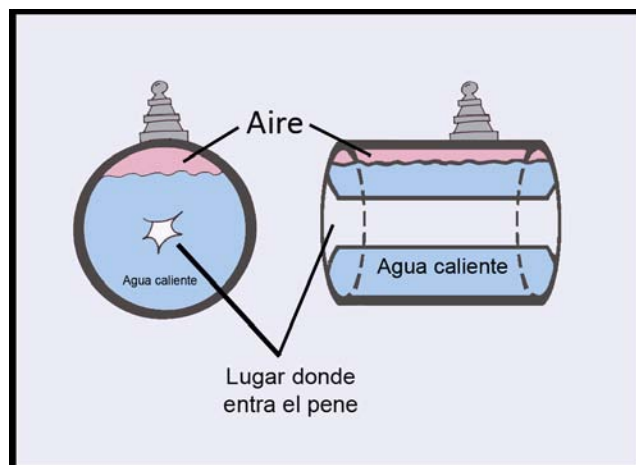


Figura 2. Esquema de la cámara de agua y aire formada en la vagina artificial

En uno de los extremos de la vagina artificial se coloca un cono que puede ser de látex o de plástico por el cual va a escurrir el semen colectado hasta un tubo graduado en el cual se colecta el semen (aunque también se puede coleccionar el semen directamente en el cono de plástico, con la desventaja de no saber con exactitud el volumen del eyaculado). Se recomienda utilizar un tubo colector que sea de plástico transparente a uno que sea de vidrio, ya que puede llegar a golpearse contra el suelo y romperse. Una vez que se tiene el tubo colocado al final del cono, se cubre con una funda para que la luz no dañe al eyaculado al momento de ser coleccionado. El otro extremo de la vagina artificial queda libre para que de ese lado se introduzca el pene del macho. (Figura 3)



Figura 3. Vagina artificial completamente armada y lista para su uso

La temperatura de la vagina artificial al momento de la colección debe de tener entre 41 y 45°C para que el macho se estimule adecuadamente y logre eyacular, una temperatura menor o mayor a la del rango señalado lo inhibirá. Es recomendable tener a la mano un termo con agua caliente y un termómetro para cambiar el agua de la vagina artificial si es necesario, esto es por el hecho de que el agua dentro de la vagina artificial se puede enfriar si el macho tarda mucho tiempo en montar o al trabajar en regiones frías, en éste tipo de regiones, se puede llenar la vagina artificial con agua a mayor temperatura, para que el tubo rígido y el caucho o látex se calienten, se tira ésta agua y posteriormente se introduce el agua a la temperatura de la

colección, esto es con la finalidad de evitar que la temperatura del agua dentro de la cámara empiece a disminuir rápidamente al contacto con las paredes frías de la vagina artificial.

Para la colección de semen se puede utilizar una hembra como “maniquí”, la cual debe inmovilizarse por uno o dos operadores, o puede colocarse sujeta en un banco de manejo. Si se cuenta con una hembra que está en celo, facilita en mayor medida la colección, ya que el macho se va a estimular aún más, aunque se corre el riesgo de que si la persona que va a coleccionar no lo hace de la forma correcta, o si se produce un descuido en el manejo del macho, este puede llegar a introducir el pene y eyacular dentro de la hembra. (Figura 4)



Figura 4. Colección utilizando una hembra en celo

Una vez sujeta la hembra, el operador que va a coleccionar al macho se coloca junto a la misma, para que al momento de que el macho intente montar a la hembra, se apresure a desviar el pene; Ésta debe realizarse desde la base del pene y sin llegar a tocar el cuerpo del pene o el glande, para evitar lastimarlos. Inmediatamente después se introduce la vagina artificial por el extremo libre y con la válvula hacia abajo, evitando así lastimar con ésta la parte ventral del macho. (Figura 5)



Figura 5. Forma de sujetar la vagina artificial.

Ya que el macho ha eyaculado, éste se deja escurrir hasta el tubo colector y se protege de la luz directa del sol y de que sufra pérdida rápida de temperatura. Después de retirado el tubo, la vagina artificial se desarma y se lava la funda con agua destilada.

Cabe mencionar que para que éste método de colección se pueda llevar a cabo se requiere que los machos tengan un entrenamiento previo, el cual requiere paciencia y constancia hasta que el macho se acostumbre a la colección por éste método.

4.1.2 Colección por electroeyaculación

En el uso de ésta técnica se tiene el inconveniente que se requiere tranquilizar al macho, lo cual lleva un costo extra en los fármacos que se necesitan para lograrlo. Además otra desventaja es que el animal puede orinar (debido a que la corriente eléctrica estimula también los órganos de la cavidad pélvica, incluyendo los del sistema urinario) en el momento de la colección, contaminando la muestra de semen. (Figura 6)

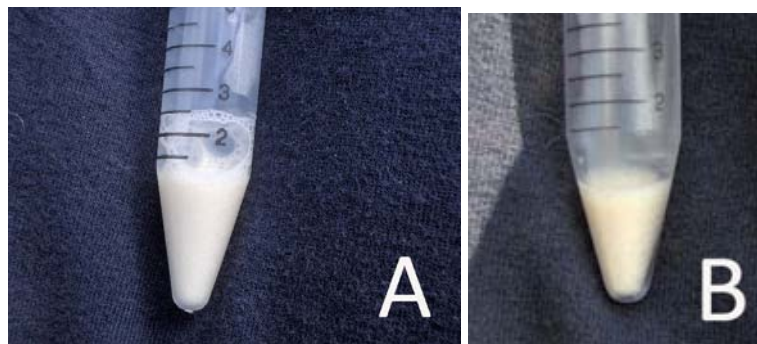


Figura 6. A) Semen colectado con apariencia normal
B) semen contaminado con orina de apariencia amarillenta.

El electroeyaculador para ovinos consiste de un cilindro de plástico rígido, longitudinalmente cuenta con unas placas de metal que transmiten el estímulo eléctrico a los nervios (Figura 7) de la cavidad pélvica, el paso de la corriente eléctrica es controlado por un sistema que regula el voltaje. (Figura 8)



Figura 7. Modelos de electroeyaculador. **Figura 8.** Caja de la carga de batería y voltaje.

Una vez tranquilizado el macho se coloca en una posición decúbito lateral, y antes de introducir el electroeyaculador al recto del animal debe lubricarse. Hay que asegurarse de que las placas de metal que conducen la corriente se ubiquen hacia la parte ventral del macho (Figura 9). Una vez que se encuentra el electroeyaculador en el recto del animal, empieza a transmitir la corriente poco a poco desde los 10 a los 15 voltios durante un periodo de tiempo de 2 a 4 segundos, dejando de aplicar la corriente entre 10 y 20 segundos. (Hafez 2002) Esto se

repite hasta que se observe que empieza a fluir el semen, y cuando se observa que esto pasa se puede coleccionar el semen acercando un tubo colector al pene del macho.

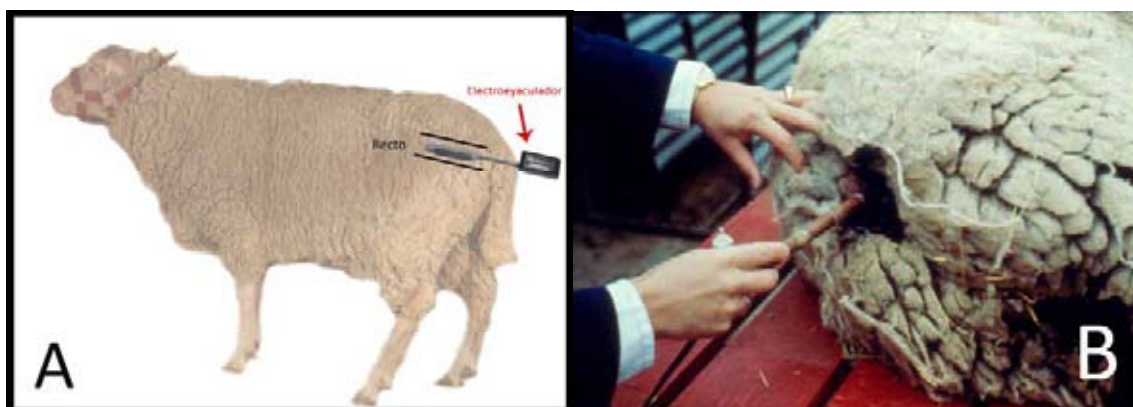


Figura 9. A) Esquema que muestra las placas del electroeyaculador hacia la parte ventral del macho; B) Posición decúbito lateral del macho al momento de la colección.

Con ésta técnica se obtienen muestras con mayor volumen, aunque con la misma concentración espermática, que las muestras obtenidas con vagina artificial.

4.2 Evaluación de semen.

La evaluación del semen de carnero es una parte fundamental, ya que permite determinar la calidad de la muestra colectada, comprende la evaluación macroscópica y evaluación microscópica.

4.2.1 Evaluación Macroscópica del semen

Esta evaluación comprende en general las características físicas del semen, como son:

- Volumen: Se mide con la ayuda del tubo colector graduado. El volumen normal de semen que eyaculan los carneros está en el rango de 0.5 a 1.5ml.
- Color: El color del semen debe ser blanco, variando de translucido que indica que tiene poca concentración de espermatozoides, a cremoso que indica una alta concentración. (Figura 10). Si el semen se aprecia amarillento se puede deber a que esté contaminado con orina y si se observa un color rosado o rojizo puede ser que contenga sangre.



Figura 10. Evaluación del volumen y color del semen.

- pH: Se toma una muestra de semen con una pipeta Pasteur y se coloca una gota en una tira reactiva indicadora de pH, el valor normal del pH del semen de carnero se encuentra alrededor de 5.9 a 7.3.

4.2.2 Evaluación Microscópica del semen

La evaluación microscópica comprende:

- Vigor o movimiento en masa: Esta característica del semen se evalúa sólo en los rumiantes debido a que presentan una gran concentración de espermatozoides. Ésta se mide colocando una gota de semen sin diluir en una laminilla, y se observa en el microscopio enfocando sólo la orilla de la gota con el objetivo panorámico 4X. La escala de evaluación de ésta prueba va de 0 a 5, tomando como 0 cuando no se observa movimiento en la gota de semen, y como 5 cuando se observan oleadas de espermatozoides con movimiento rápido. (Figura 11 y Cuadro 1)

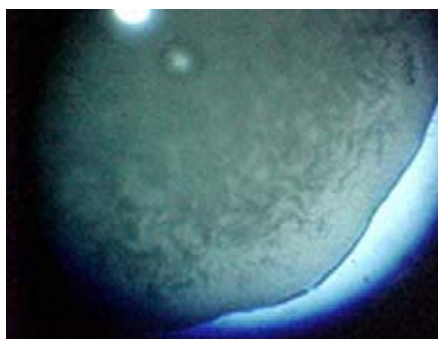


Figura 11. Movimiento en masa de espermatozoides

Evaluación del vigor o movilidad en masa		
Movilidad en masa o vigor	Clasificación	Escala numérica
Movimiento en ola rápido	Muy Bueno (MB)	5
Movimiento en ola lento	Bueno (B)	4
Oscilación generalizada	Regular (R)	3
Oscilación esporádica	Pobre (P)	2
Oscilación casi nula	Muy pobre	1

Cuadro 1. Criterio de evaluación del vigor o movilidad en masa

- Motilidad progresiva individual: La motilidad es una medida subjetiva que tiene como objetivo el darle una estimación numérica al movimiento individual de los espermatozoides. Se realiza colocando una gota de solución salina fisiológica (SSF) que se encuentre a una temperatura de 35 a 37°C en una laminilla, después se le coloca una gota de semen y se homogeniza cuidadosamente.

Se coloca la laminilla en el microscopio de luz a 20X, y se observa el movimiento de los espermatozoides de manera individual, evaluando el movimiento lineal y progresivo con un porcentaje que va de 0 a 100%. El porcentaje normal de espermatozoides en movimiento va de 70 a 90%, y el porcentaje normal de espermatozoides con movilidad progresiva va de 75 a 90%.

- Concentración espermática: La concentración normal del semen de un carnero varía entre 3.5×10^9 a 6×10^9 células por ml. Ésta puede determinarse por medio de espectrofotometría, contadores celulares automáticos y por el método de la cámara de Neubauer, siendo ésta última la más utilizada en condiciones de campo, por tal motivo es el método que se describirá a continuación.

El cálculo de la concentración espermática es un método manual que es fácil de realizar, y sólo se necesita de una cámara de Neubauer, una pipeta de cuenta de glóbulos rojos, una solución de fucsina (o algún líquido que pueda fijar y teñir a los espermatozoides), un microscopio óptico y de un contador de células. La cámara de Neubauer está formada por un retículo, que es un cuadrado de 3mm de lado, formado a

su vez por 9 cuadros de 1mm^2 . El cuadro central es en el cual se realiza la cuenta de los espermatozoides, está dividido en 25 cuadrados medianos, y cada uno de ellos se divide en 16 cuadrados pequeños (Figura 12).

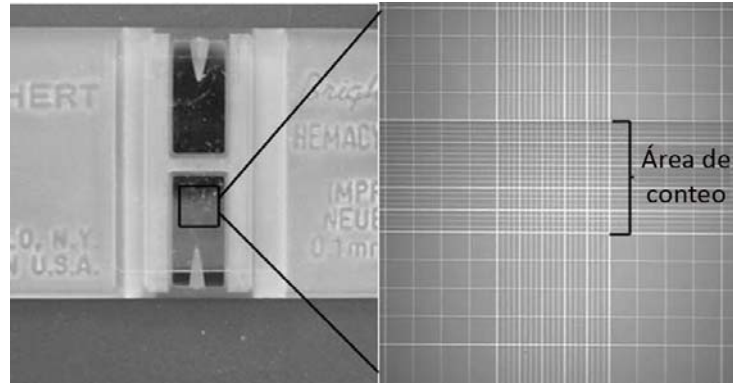


Figura 12. Esquema de la cámara de Neubauer.

Para iniciar el conteo, se coloca una manguerita de plástico con boquilla en el extremo superior de la pipeta para cuenta de glóbulos rojos, y se aspira una muestra de semen sin diluir hasta la marca de 0.5, después se aspira la fucsina hasta la línea marcada con “101”, obteniendo una dilución de $1/200$. Se retira la manguerita, y se sostiene la pipeta de la parte superior e inferior con los dedos pulgar e índice para agitarla durante dos minutos y homogenizar muy bien la solución.

Se prepara la cámara de Neubauer colocando encima de ella el cubreobjetos específico, se descartan las tres primeras gotas de la pipeta en un papel absorbente, y se coloca una gotita a cada una de las orillas de las plataformas grabadas (retículo) de la cámara de Neubauer, por capilaridad, la gota con la solución de semen subirá hasta cubrir el retículo. Se espera un par de minutos para que se sedimenten los espermatozoides y se pueda realizar el conteo.

Sólo se cuentan los espermatozoides que se encuentran en los 4 cuadros medianos ubicados en las esquinas y en el cuadrado mediano central (Figura 13). El conteo de espermatozoides, se realiza haciendo un barrido de izquierda a derecha, y de arriba hacia abajo de cada uno de los 16 cuadros pequeños con el objetivo de 40X. Los espermatozoides que se cuentan deben estar ubicados con la cabeza dentro de los 16 cuadros pequeños, los espermatozoides que están sobre la línea y que tienen la mitad de la cabeza dentro de los cuadros pequeños y la mitad fuera de ellos, no se toman en cuenta.

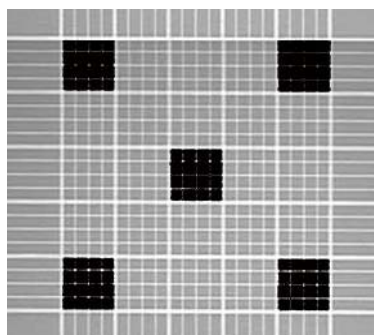


Figura 13. Mostrando los cuadros medianos en los cuales se realiza la cuenta de espermatozoides

Al finalizar la cuenta de los espermatozoides del primer lado de la cámara de Neubauer, se procede a contar los espermatozoides del otro lado de la cámara con la misma metodología ya explicada, y se obtiene el promedio de las dos cámaras, el cual se multiplica por 10^6 , y se obtiene el total de espermatozoides por ml de semen eyaculado.

- Porcentaje de vivos y muertos: La revisión de espermatozoides vivos y muertos se realiza con la tinción de eosina-nigrosina. Se toma una gota de esta tinción y se vierte a una gota de semen en una laminilla, se mezclan gentilmente para evitar dañar a los

espermatozoides. Con la ayuda de un microscópio óptico a un objetivo de 40X, se cuentan 100 espermatozoides, recorriendo la laminilla a todo lo largo, los espermatozoides cuya cabeza se observa de un color rojizo o rosado son los espermatozoides muertos, y los que se observan sin coloración, se consideran como espermatozoides vivos. Al final se determina el porcentaje de vivos y muertos, si éste rebasa el 5% de espermatozoides muertos el semen no se utiliza para la IA.(Figura 14)



Figura 14. Espermatozoides vivos y muertos Observados con la tinción de eosina-nigrosina

- Morfología espermática: La morfología espermática se realiza también mediante la tinción de eosina-nigrosina, se recorre la laminilla, hasta contar 100 espermatozoides, de estos, se va registrando el número de anomalías primarias y secundarias que se encuentran, y al finalizar se suman y se expresan en porcentaje. Si existe un porcentaje de anomalías mayor a 10%, entonces el semen no se utiliza para la IA.

Anormalidades Primarias: Son aquellas que presentan los espermatozoides, y que provienen desde el sistema reproductor del macho. Estas anomalías son: cabezas dobles, colas dobles, macrocéfalos, microcéfalos y cabezas amorfas.

Anormalidades Secundarias: Son aquellas que presentan los espermatozoides después de ser eyaculados por el macho y que pueden ser causadas por el mal manejo del eyaculado. Estas anomalías son: cabezas y colas sueltas, colas fracturadas y colas enroscadas. (Figura 15)

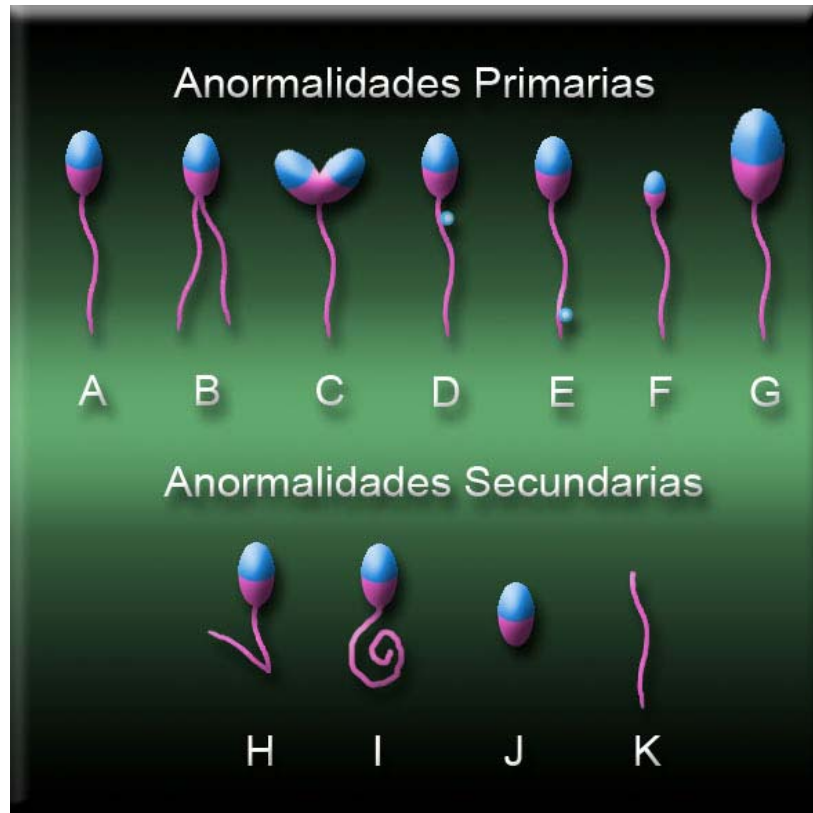


Figura 15. Esquema de las anomalías primarias y secundarias de los espermatozoides: A) espermatozoide normal; B) cola doble; C) cabeza doble; D) gota citoplásmica proximal; E) gota citoplásmica distal; F) microcéfalo; G) macrocéfalo; H) cola fracturada; I) cola enroscada; J) cabeza libre; K) cola libre.

4.3 Inducción y sincronización de estros.

La inducción y sincronización de estros, son prácticas reproductivas que se realizan con el objetivo de aumentar la eficacia de un programa de inseminación artificial, ya que permite la IA lo más cerca posible de la ovulación (24 a 36 horas después de iniciado el estro).

La diferencia entre inducción y sincronización, es que el objetivo de la “inducción” es llevar a una hembra de una etapa de anestro a una etapa de estro fértil, y en la “sincronización” que es realizada durante la época reproductiva, el objetivo es que las hembras tratadas, presenten estro en un lapso de tiempo determinado y puedan ser inseminadas.

Las ventajas de una inducción y/o sincronización, son el hecho de poder programar de una forma anticipada los manejos de un programa reproductivo como: la colección del semen, la IA, diagnósticos de gestación, cambios en la alimentación, lotificación y programación de partos. Los inconvenientes son, que tienen un costo extra para el productor y que no es seguro que el 100% de las hembras a las que se les realiza este procedimiento queden inducidas o sincronizadas, aunque deben de evaluarse los beneficios que se pueden obtener al implementar este tipo de manejos. Para realizar estos programas, se necesita de personal capacitado en el conocimiento y aplicación de estas prácticas.

4.3.1 Inducción del estro

El fundamento de la inducción de estro es la utilización de progesterona natural o de un progestágeno (ya sea mediante dispositivos vaginales, implantes o por vía oral), los cuales se colocan o administran por algunos días, para que cuando sea retirado, la disminución drástica

de progesterona exógena retira el bloqueo de liberación de GnRH del centro de control cíclico dentro del hipotálamo, y con ello permite la liberación de FSH y LH lo que ocasiona la maduración de un folículo y su posterior ovulación. Éstas acciones pueden ser reforzadas mediante el uso de gonadotropinas.

Para la inducción del estro se pueden utilizar los siguientes productos:

- Progesterona: CIDR´s
- Progestágenos: MGA,FGA(Chronogest®), implantes subcutáneos (Norgestomet®)
- Progesterona/Progestágenos + Gonadotropinas: FSH, eCG (Folligon®)



Figura 16. Se muestra CIDR, esponja vaginal con aplicador y gonadotropinas.

La progesterona o progestágeno se puede utilizar vía vaginal (CIDR´s o esponjas), vía oral (en el alimento) o por vía subcutánea (implantes), a la hembra por un periodo que puede ser de 9 a 14 días, y después de ser retirados, el estro se presenta de 24 a 48 horas después. Si se utiliza Gonadotropinas, ésta puede ser inyectada a la hembra 48 o 24 horas antes de retirar la progesterona o progestágeno.

4.3.2 Sincronización del estro

El fundamento de la sincronización se basa en el control de la fase lútea del ciclo estral mediante un alargamiento o acortamiento de la misma. El alargamiento de la fase lútea se realiza con progesterona o progestágenos, que actúan como un cuerpo lúteo de larga duración que mantiene una retroalimentación negativa hacia la GnRH y que cuando es retirado se presenta el estro. La progesterona o progestágeno utilizado, produce un alargamiento sólo de la fase lútea, más no un alargamiento de la duración natural del cuerpo lúteo existente.

El acortamiento de la fase lútea, que es un efecto directo sobre el cuerpo lúteo, se realiza con sustancias luteolíticas como las prostaglandinas ($\text{PGF}_2\alpha$) o sus análogos, las cuales al lisar el cuerpo lúteo, eliminan el efecto negativo que presenta la progesterona sobre el hipotálamo ocasionando que éste aumente la frecuencia y amplitud de los pulsos de GnRH. Ésta a su vez, promueve la liberación de FSH y LH que ocasionaran un desarrollo folicular para que posteriormente ocurra la oovulación y se presente un estro sincronizado en las hembras tratadas.

Para la sincronización del estro pueden utilizarse los siguientes productos:

- Progesterona: CIDR's
- Progestágenos: MGA,FGA(Chronogest®), implantes subcutáneos (Norgestomet®)
- Progesterona/Progestágenos + Gonadotropinas: FSH, eCG (Folligon®)
- Prostaglandinas ($\text{PGF}_2\alpha$) o sus análogos (Lutalyse®, Prosolvyn®)
- Prostaglandinas ($\text{PGF}_2\alpha$) o sus análogos + Gonadotropinas (FSH, eCG)



Figura17. Se muestran los CIDR´s, esponja vaginal con aplicador y prostaglandinas

En caso de la utilización del alargamiento de la fase lútea mediante el uso de progesterona o un progestágeno, se puede utilizar de 9 a 14 días, esperando que el estro se presente de 24 a 48 horas después del retiro de los mismos.

En el caso del acortamiento de la fase lútea con la utilización de prostaglandinas o sus análogos, este se lleva a cabo mediante una inyección intramuscular, las hembras presentan estro a las 24 o 48 horas de la aplicación, a las hembras que no presentan estro se les puede aplicar una segunda dosis de prostaglandinas o progestágenos a los 10 o 12 días, ya que puede darse el caso que dichas hembras no se encontraban en la fase lútea del ciclo estral en la primera aplicación.

Tanto en la inducción, como en la sincronización del ciclo estral, la IA se realiza a las siguientes 12 y 24 horas de presentado el estro, ya que es el periodo más cercano a la ovulación.

4.4 Técnicas de Inseminación artificial en ovinos.

A continuación se describen las técnicas de IA que se utilizan para llevar a cabo programas de reproducción en la especie ovina. Éstas técnicas están descritas con base en el lugar de la deposición del semen dentro de los órganos genitales de la hembra.

4.4.1 Inseminación artificial por vía vaginal (IAV)

Esta técnica es la más sencilla de todas y tiene las siguientes ventajas: se necesita muy poca capacitación del operador para llevarla a cabo, el material requerido para realizarla es mínimo, el semen que se puede utilizar para la inseminación puede ser fresco, ya sea diluido o no, además de ser una técnica poco invasiva para la hembra (Figura 18)

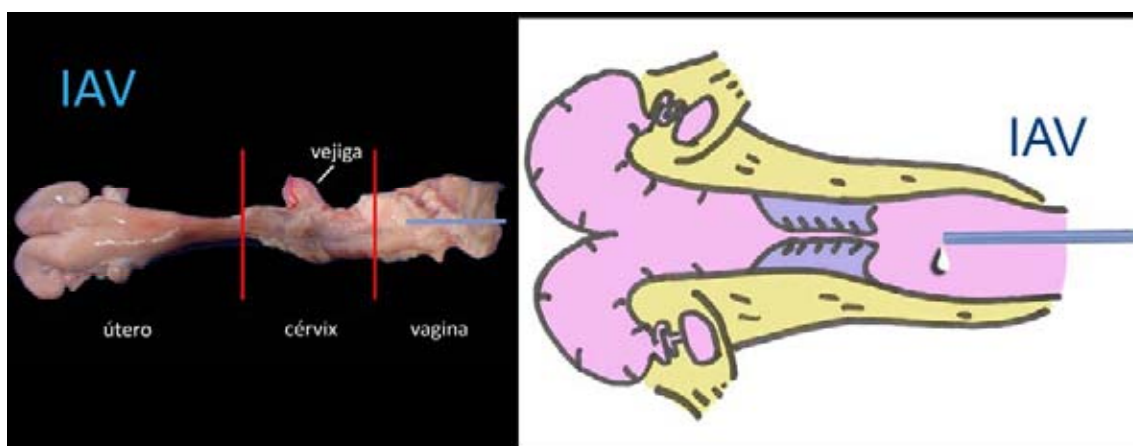


Figura 18. Lugar de deposición del semen en la IAV

Las desventajas de ésta técnica son: que se necesitan dosis de semen con mayor volumen (0.3-0.5ml por dosis) y una concentración de (300×10^6) espermatozoides (Duran 2007) que en otras técnicas, además de que la fertilidad es baja (35 a 50%) (Anel, 2005, Bedolla *et al*, 2007). Debido a las desventajas que tiene ésta técnica su utilización ha disminuido en gran medida.

Indicaciones.

Esta técnica es recomendada en situaciones en las cuales no se tiene contemplado realizar una gran inversión en un programa de IA o en casos en los que no se cuenta con material más especializado para llevar a cabo otro tipo de IA. El semen que se utiliza para ésta técnica, solamente es fresco, ya sea diluido o no.

Material requerido

1. Pipetas de inseminación (pueden ser las pipetas de plástico utilizadas en bovinos para tratamientos intrauterinos).
2. Jeringas de 5 ml
3. Jeringa de 10 ml
4. Guantes de látex
5. Toallas desechables de papel
6. Manguerita de plástico o látex, del calibre de la pipeta de inseminación y de la jeringa

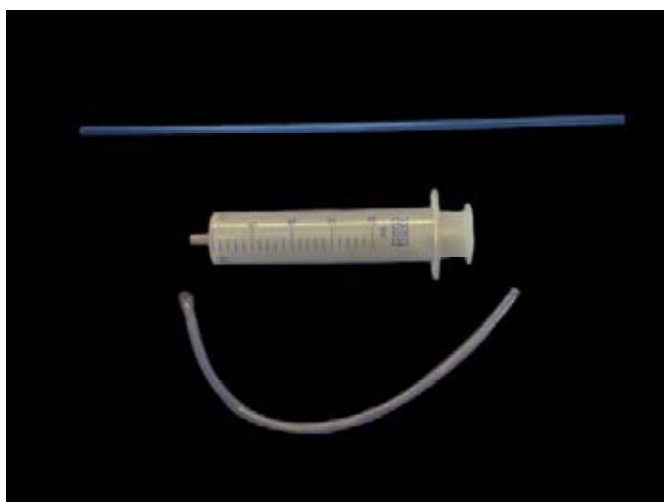


Figura 19. Material IAV

Preparación de la hembra y del material de inseminación

Este tipo de inseminación no implica mayor problema que el poder contener a las hembra, ya sea que un operador lo haga manualmente o que se introduzca a la hembra en una prensa de manejo o en algún otro tipo de instalación para contención en la cual la oveja esté cómoda y no pueda moverse, pero que quede libre su parte posterior para poder llevar a cabo el procedimiento de inseminación. De preferencia debe colocarse a la hembra a una altura en la cual el operador también esté cómodo para realizar la inseminación (Figura 20).



Figura 20. Contención adecuada de la hembra

El material que se va a utilizar debe estar totalmente limpio para evitar así contaminación de la mucosa vaginal o cervical. Se prepara la dosis de semen que se va a aplicar y se debe tener lista en una pipeta, justo antes del momento de la inseminación, el semen debe encontrarse a una temperatura aproximada de 35-37°C. La pipeta de inseminación lleva en la parte posterior una manguerita de látex que conecta la jeringa de 5ml, con la cual se recoge un poco de aire y después la dosis de semen. Esto es con el objeto de que al cargar la dosis no llegue hasta la manguerita y la jeringa, perdiéndose espermatozoides viables en las paredes de las mismas. (Figura 21)



Figura 21. Pipeta con semen.

Procedimiento de la técnica.

Ya que se tiene sujeta a la hembra se procede a limpiar la zona de la vulva, retirando el exceso de suciedad o excremento que se halla acumulado en ésta. Una vez limpia la vulva, se abren un poco los labios vulvares y se introduce la pipeta de inseminación hasta el fondo de la vagina y se deposita el semen. (Figura 22)

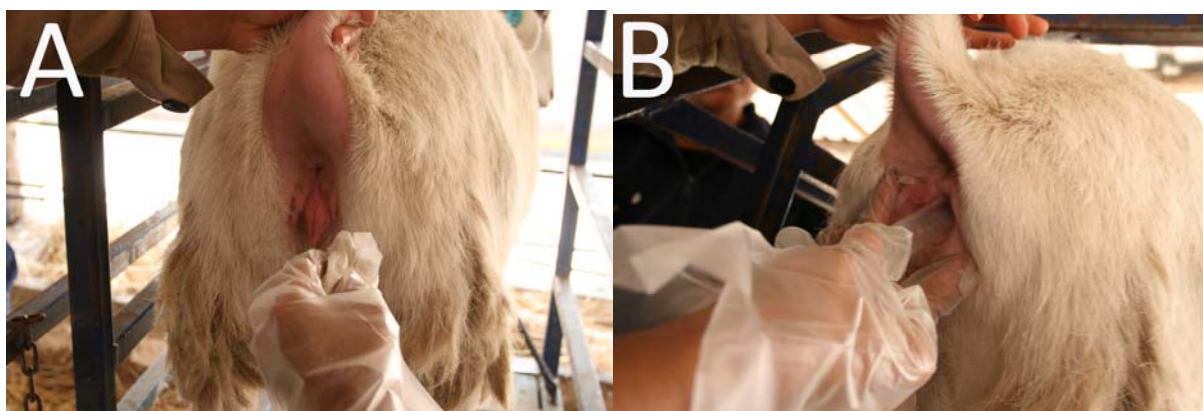


Figura 22. En ésta figura se muestra: A) Limpieza de la vulva; B) Forma en que se abren los labios vulvares.

En ocasiones un poco del semen escurre desde el interior de la vagina hacia el exterior, pero esto es normal, aunque hay que recordar que cada hembra tiene el cérvix de diferente forma y situado en diferente posición en el fondo de la vagina por lo que no siempre es posible que el semen entre a éste.

Recomendaciones después de la inseminación

Las hembras que son inseminadas mediante la IAV pueden ser regresadas al corral al que pertenecen inmediatamente después de que es terminado el manejo reproductivo, ya que éste produce muy poco estrés en las hembras. Se debe registrar la fecha de inseminación y programar la realización del diagnóstico de gestación.

4.4.2 Inseminación Artificial vía Cervical (IAC)

La inseminación artificial por vía cervical es una técnica que consiste en depositar el semen después del primero y/o el segundo pliegue cervical, y en la actualidad es la técnica más comúnmente empleada en ovinos. (Figura 23)

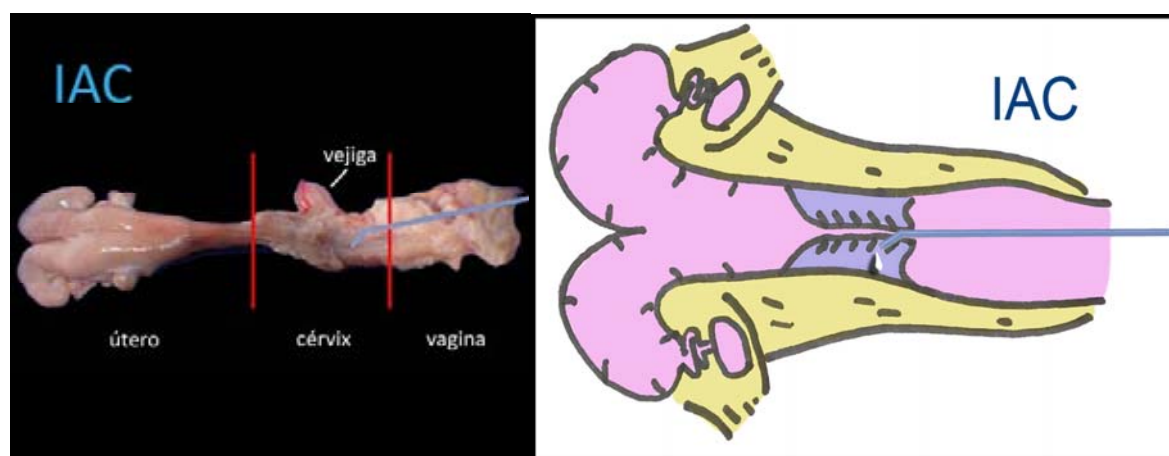


Figura 23. Lugar de deposición del semen en la IAC

Las ventajas que se tienen al usar esta técnica, es que requiere poco entrenamiento para poder dominarla, además el porcentaje de fertilidad varía de 40 a 65% (Bedolla *et al*, 2007). Una desventaja de esta técnica, es que si no se realiza de un modo adecuado, se puede lastimar la entrada del cérvix al intentar pasar la pipeta de inseminación por los pliegues cervicales (Figura 24), y si se llega a presentar lesión del cérvix puede disminuir la fertilidad debido a la inflamación del tejido.

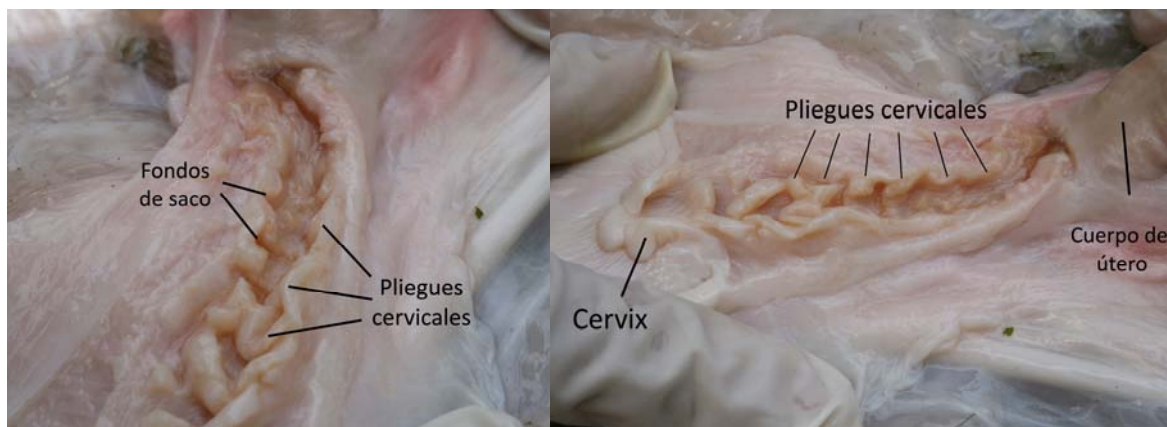


Figura 24. En estas imágenes se observan los pliegues cervicales, mostrando la dificultad para llevar cualquier objeto hasta el útero.

Indicaciones.

Ésta técnica puede ser realizada cuando se quiere reducir el volumen y la concentración de espermatozoides en la dosis inseminante y aumentar la fertilidad que la lograda con la IAV. Se puede utilizar semen fresco (diluido o no), y también se puede utilizar semen refrigerado que se encuentre viable (>60% de movilidad). El volumen de la dosis a depositar puede ser entre 0.1 y 0.2 ml con una concentración aproximada de espermatozoides de 100×10^6 para semen fresco y 150×10^6 para semen refrigerado (Duran, 2007). El semen congelado no se utiliza, ya que logra alrededor de un 20% de fertilidad. (Bedolla *et al*, 2007)

Material requerido

1. Guantes de látex
2. Vaginoscopio o espéculo de pico de pato (el tamaño varía si la hembra es primala o adulta).
3. Pipetas de inseminación (las cuales deben tener la punta de un tamaño adecuado para poder llegar a los pliegues cervicales sin lastimarlos)

4. Sonda de plástico o látex, del calibre de la pipeta de inseminación y de la jeringa
5. Jeringa de 5 ml.
6. Jeringa de 10 ml.
7. Toallas desechables de papel
8. Lámpara o una fuente de luz para facilitar la búsqueda del cérvix.

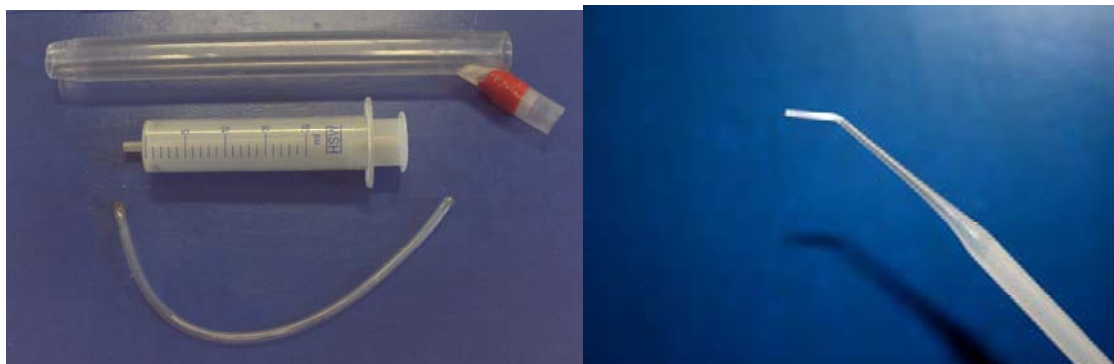


Figura 25. Imagen del material para realizar IAC.

Preparación de la hembra y del material de inseminación

Para realizar esta técnica se debe contener a las hembras, ya sea manualmente o introduciéndola en una prensa de manejo, hay que recordar que debe quedar libre su parte posterior para poder llevar a cabo el procedimiento de inseminación. Y de preferencia la hembra debe estar a una altura adecuada para que el operador pueda llevar a cabo la inseminación. En caso de no contar con una prensa o una instalación similar, se puede utilizar una barra de metal, o madera acolchonados, y que cuente con una altura suficiente para elevar los miembros posteriores de la hembra, y que está quede en una posición de 45° (Figura 26).



Figura 26. A) Contención de la hembra en una prensa; B y C) Contención utilizando una barra de metal

En caso de realizar la IA en lugares en los que el clima es muy frío o en la utilización de semen fresco no diluido, debe realizarse la inseminación lo más rápido posible, el semen se puede tener en un baño María, a una temperatura de 37°C, tomando en cuenta que el nivel de agua del baño debe ser suficiente para cubrir el recipiente hasta el nivel del semen, ya que si colocamos demasiada cantidad de agua, esta puede entrar al recipiente y matar a los espermatozoides (Figura 27a). Si no se cuenta con un baño María se puede utilizar un biberón con agua a 37°C en el cual se introduce el tubo que contiene el semen, evitando así que éste se enfríe (Figura 27b).

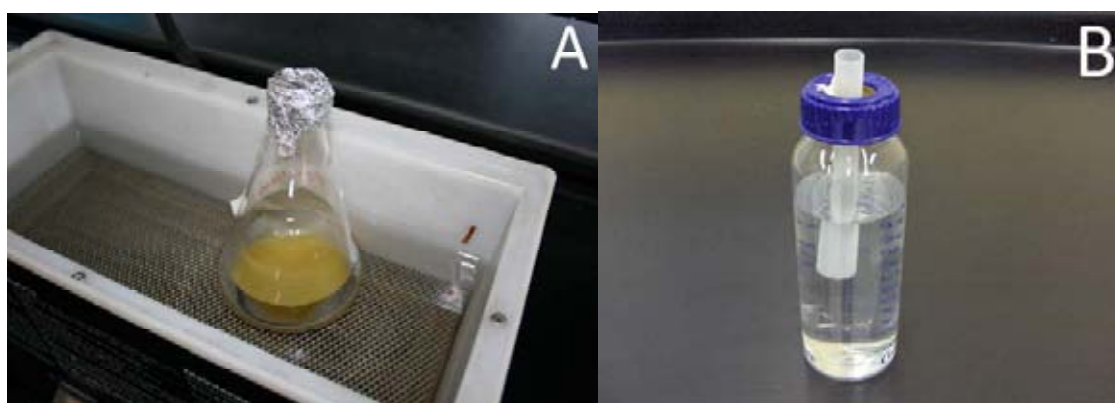


Figura 27. A) Semen en baño María B) Utilización del biberón con agua caliente.

En caso de utilizar semen diluido, éste puede utilizarse a temperatura ambiente o refrigerado a 4° C.

La pipeta de inseminación lleva en la parte posterior la sonda de látex que comunica con la jeringa de 5ml, con la cual se recoge un poco de aire y después la dosis de semen. Esto es con el objeto de que al cargar la dosis no llegue hasta la sonda y la jeringa, perdiéndose espermatozoides viables en las paredes de las mismas. (Figura 28)



Figura 28. Pipeta de inseminación cargada con semen y lista para inseminar.

Procedimiento de la técnica

Una vez que se tiene a la hembra inmovilizada, se procede a lavar y secar la vulva, eliminando los restos de heces que puedan existir, se realiza pasando un trozo de papel al rededor de los labios vulvares de abajo hacia arriba, tratando de no llevar los desechos al interior de la vulva.

(Figura 29)

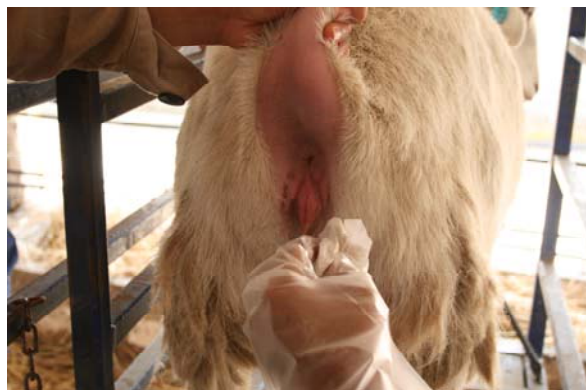


Figura 29. Limpieza de vulva.

Posteriormente, se introduce el vaginoscopio (o el espéculo) en la vagina, es importante lubricarlo previamente para no lastimar la mucosa vaginal, hay que resaltar que no se debe utilizar “agua” o lubricantes que sean espermicidas, ya que esto puede afectar la fertilidad después de la inseminación. Lo que se puede hacer, es utilizar como lubricante el mismo diluyente que se utilizó para el semen, en el caso de que se haya colectado y diluido el eyaculado momentos antes de la inseminación. Cabe mencionar que algunas hembras tienen buena secreción de moco vaginal y por lo tanto no requieren de ningún tipo de lubricación.

Antes de introducir el vaginoscopio, se toman los labios vulvares con la parte posterior de los dedos anular e índice para separarlos un poco, y entonces se introduce el vaginoscopio con movimientos gentiles y circulares, girándolo en su eje longitudinal para no lastimar la mucosa vaginal y evitar que los labios vulvares se peguen al vaginoscopio y sean arrastrados e introducidos hacia la cavidad vaginal. (Figura 30)



Figura 30. Separación de labios vulvares

El vaginoscopio tiene que entrar de abajo hacia arriba en una posición de 45° (en relación a una línea imaginaria horizontal) hasta sentir un ligero tope que ya no permite la entrada del mismo, en ese momento se levanta el vaginoscopio hasta llegar a una posición horizontal y se introduce hasta el fondo de la vagina buscando la entrada del cérvix (Figura 31).



Figura 31. Figura que muestra la introducción del vaginoscopio a 45° .

Una vez localizado el cérvix se introduce a través del vaginoscopio la pipeta de inseminación hasta alcanzar la entrada del cérvix y el primer anillo cervical, al sentir un ligero tope, se puede girar la pajilla para tratar de pasar hasta el segundo anillo cervical y ahí depositar el semen (Figura 32).

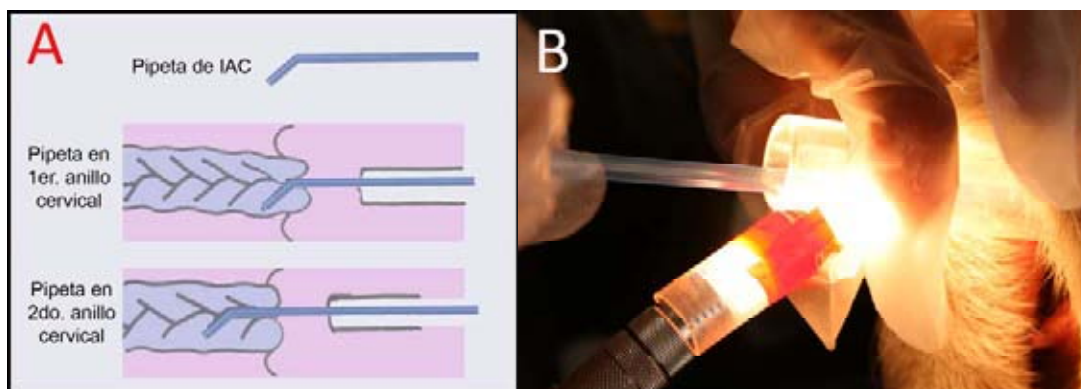


Figura 32. A) Esquema de la introducción de la pipeta de inseminación a través de los anillos cervicales; B) Fotografía que muestra como introducir la pipeta a través del vaginoscopio.

Se debe tomar en cuenta que la punta de las pipetas de inseminación, no tengan aristas que lesionen la mucosa del cérvix, es importante el ser gentil al momento de introducir la pipeta de inseminación a través de los anillos cervicales, ya que si se hace de manera brusca se pueden lesionar gravemente.

También se debe tener cuidado de que al momento de girar la pipeta dentro del cérvix, la punta no se rompa y quede dentro de los anillos cervicales, si esto llegara a pasar, se debe contar con unas pinzas de Babcock, que en este caso pueden ser de utilidad para retirar el fragmento de la pipeta.

El semen se deposita empujando el émbolo de la jeringa, pero tratando de no empujar más la pipeta para evitar lastimar el cérvix, si se siente resistencia en el émbolo, quiere decir que probablemente la punta de la pipeta está en contacto con la pared del cérvix; lo que se puede hacer es retraer hacia afuera unos cuantos milímetros la pipeta, para despegar la punta de la mucosa cervical y para permitir que el semen pase libremente. Hay ocasiones en las que la

pipeta no puede llegar a los anillos cervicales, en tales casos se recomienda depositar el semen en la entrada del cérvix.

Una vez depositado el semen en el canal cervical o en la entrada, y con la pipeta aún en el lugar de deposición del semen, se intercambia la jeringa con la que se empujó el semen por otra jeringa llena solamente de aire. Esto es con el fin de empujar el aire y que la mayor parte de la dosis de semen que pudo haber quedado en las paredes de la pipeta, también sea utilizada y así evitar al máximo el desperdicio de semen.

Después de haber aplicado la dosis, se retira la pipeta de inseminación con cuidado, evitando lastimar los anillos cervicales, esto se puede realizar girándola de nuevo. Por último se retira el vaginoscopio retrayéndolo lentamente hacia el operador, teniendo cuidado de no prolapsar la mucosa vaginal.

4.4.3 Inseminación Artificial Transcervical (IAT)

La IAT consiste en la deposición del semen en el cuerpo del útero, pasando entre los pliegues a lo largo del cérvix con la ayuda de una pipeta de inseminación, un vaginoscopio o espéculo y con unas pinzas que ayuden a retraer un poco la entrada del cérvix (Figura 33).

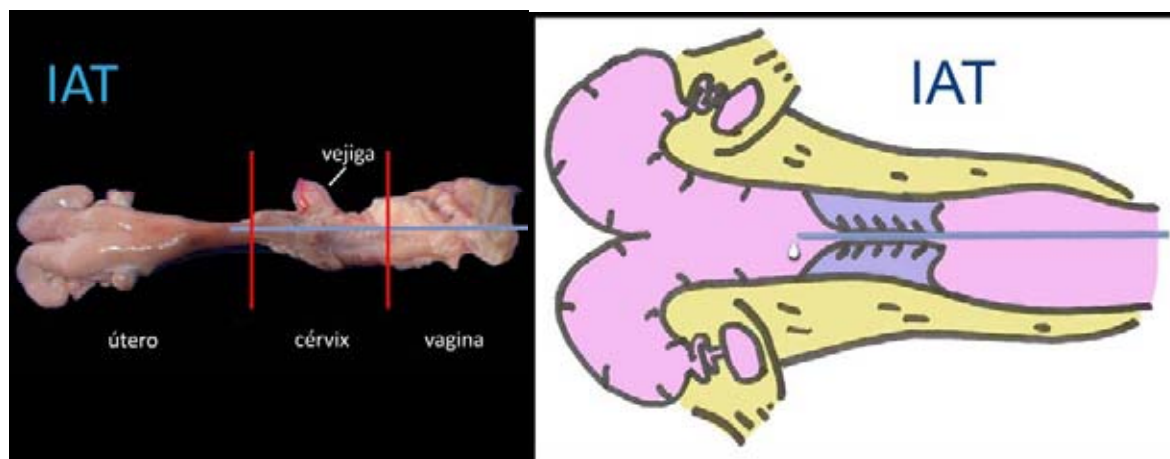


Figura 33. Lugar de deposición del semen en la IAT

Con éste método se evita que gran cantidad de espermatozoides queden atrapados en los fondos de saco que forman los anillos cervicales, logrando que exista mayor cantidad de espermatozoides viables en el cuerpo uterino. Éste método se desarrolló en la Universidad de Gelfh en Canadá y también es nombrado como GST-AI por sus siglas en inglés (Gelfh System Transcervical-AI). (Halbert *et al*, 1990)

Las ventajas de la IAT son, que con ésta técnica se puede hacer uso de semen congelado con un porcentaje de fertilidad aceptable (40 a 70%). Las desventajas de ésta técnica son, que el operador que lleva a cabo la IAT debe contar con una mayor capacitación para la realización de la misma y con el instrumental apropiado para poder llevarla a cabo, además, de no realizarse de un modo adecuado, puede lastimarse de manera importante el cérvix, lo cual

podría traer una disminución en la fertilidad por la provocación de procesos inflamatorios (Campbell *et al*, 1995). Y si no se realiza de una manera higiénica, se puede provocar una infección cervical de difícil tratamiento.

Indicaciones.

La IAT es una técnica de inseminación en la que se obtiene una fertilidad más elevada que en la IAV y en la IAC, pero sin llegar a ser un procedimiento de tipo quirúrgico como la IA intrauterina. La fertilidad que se obtiene con la utilización de semen fresco (diluido o no) varía entre un 60 y 80%. Utilizando semen congelado, la fertilidad varía de un 40 a 70%. (Bedolla *et al*, 2007)

La concentración espermática en la dosis inseminante en la IAT, es de alrededor de 60×10^6 espermatozoides ya sea en semen fresco, refrigerado o congelado, en un volumen de 0.05 a 0.1ml. (Duran, 2007)

Material requerido

1. Toallas de papel desechables
2. Espéculo o vaginoscopio
3. Fuente de luz
4. Pinza o forceps de Bozeman para retracción del cérvix (opcional)
5. Pipeta o pistola de inseminación
6. Como opción pueden utilizarse hormonas para la dilatación del cérvix, como Oxitocina (Sayre and Lewisa, 1996).



Figura 34. Material IAT

En el caso del que se utilice semen congelado, éste debe de descongelarse y evaluarse antes de llevar a cabo la inseminación.

Material para descongelación de semen:

1. Baño María
2. Portaobjetos
3. Cubreobjetos
4. Pipetas Pasteur
5. Termoplatina
6. Microscopio óptico



Figura 35. Material para descongelación de semen

Preparación de la hembra y del material

Para la realización de ésta técnica se debe sujetar a la hembra, puede ser en una prensa como ya se describió en le técnica anterior, y en algunos casos puede utilizarse una barra de apoyo, en la cual se recargan los miembros posteriores de la hembra para facilitar la observación del cérvix y la introducción de la pipeta de inseminación. (Figura 36). Ya que se tiene a la hembra inmobilizada, se procede a limpiar la vulva con toallas de papel, eliminando los restos fecales que puedan existir, se realiza pasando un trozo de papel al rededor de los labios vulvares tratando de no llevar los desechos al interior de la vulva.

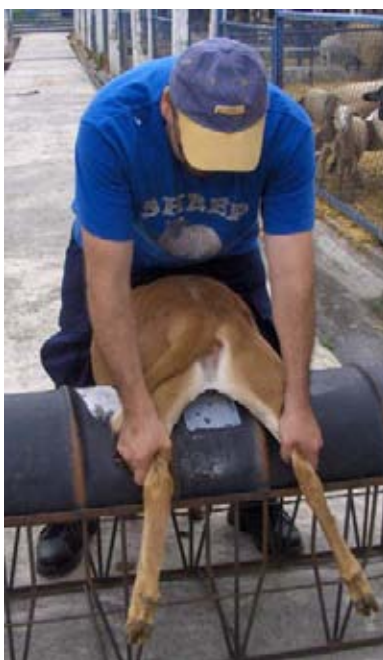


Figura 36. Barra de apoyo para miembros posteriores

Al utilizar semen congelado, hay que asegurarse que al ser descongelado tenga un mínimo de 30% de espermatozoides vivos con un mínimo de 2.5 de movilidad progresiva (tomando en cuenta que: 0 es sin movimiento y 5 es el máximo movimiento).

Procedimiento de la técnica

Una vez que se tiene sujeta a la hembra, se procede a introducir el vaginoscopio o espéculo a través de la vagina, utilizando un lubricante que no sea espermicida y que en caso de utilizar semen fresco diluido, se puede utilizar el mismo diluyente. Se realiza la vaginoscopia y se procede a localizar el cérvix. (Figura 37)

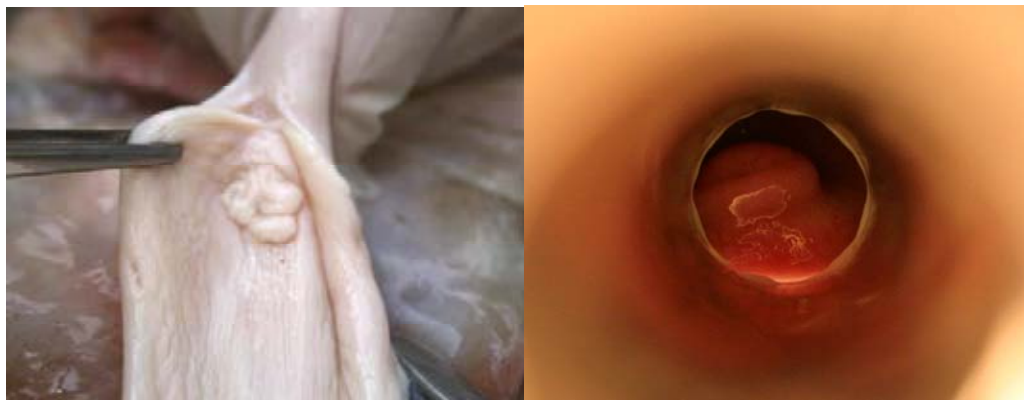


Figura 37. A) Imagen de material de rastro que muestra la forma de la entrada del cérvix;
B) Cérvix visto a través del vaginoscopio.

Una vez localizado el cérvix, se retrae hacia arriba con la ayuda de unas pinzas atraumáticas o con el fórceps de Bozeman, esto con la finalidad de fijarlo y de esta manera lograr crear un pequeño pero suficiente espacio para poder introducir la pipeta (o pistola) de inseminación, hay que tener cuidado de hacerlo de una manera muy gentil para no lastimar los anillos cervicales, tratando de pasar por todo el canal cervical. En el caso de que no se pueda pasar a través del canal cervical, hay que depositar el semen lo más craneal posible. (Figura 39)



Figura 38. Esquema de la IAT

Nunca hay que hacer una presión más allá que la que se puede sentir en contra al introducir nuestra pipeta de inseminación, ya que si se llega a entrar en uno de los pliegues que forman sacos de fondo en los anillos cervicales, estos pueden llegar a ser perforados.

Recomendaciones acerca de la técnica

Es recomendable que en las hembras primíparas no se utilice esta técnica de inseminación, ya que el tamaño de sus órganos reproductivos son de menor tamaño que los de las hembras que han tenido gestaciones anteriores y por lo tanto pueden ser lastimadas más fácilmente. Se ha intentado el uso de estrógenos u oxitocina exógena para ayudar a la dilatación del cérvix y que sea un poco más fácil pasar entre los anillos cervicales, utilizando de 50 a 400 unidades internacionales. (Sayre and Lewisa, 1996)

4.4.4 Inseminación Artificial Intrauterina por laparoscopía (IAL)

Existe en las ovejas, la técnica de IA intrauterina, en la cual se realiza la deposición del semen en los cuernos uterinos, sin pasar a través del cérvix (Figura 39).

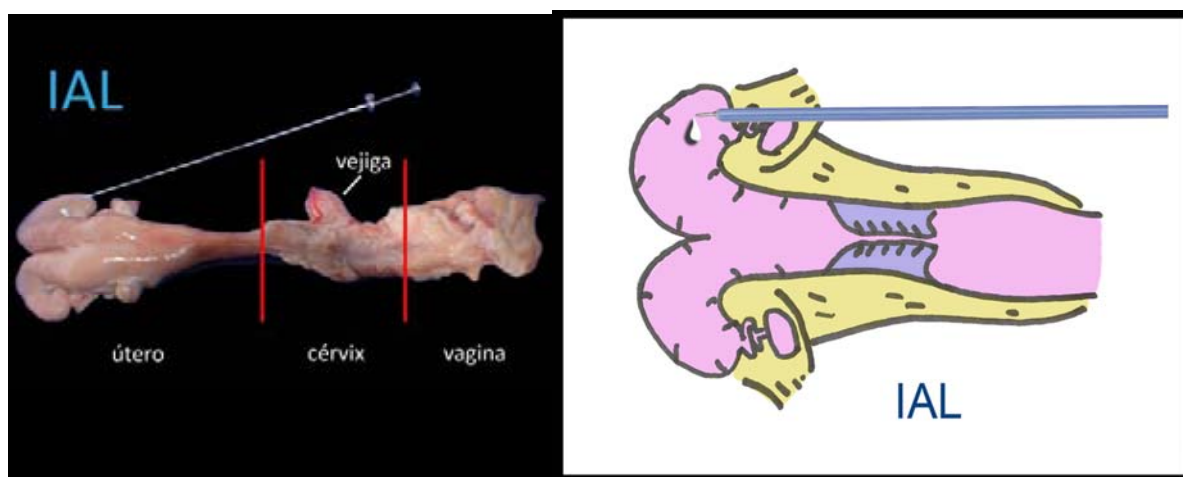


Figura 39. Lugar de deposición del semen en la IA intrauterina.

Se han descrito dos métodos para llevar a cabo la IA intrauterina. El **primero** de ellos es por el método de la “celiotomía” en la cual se aborda la cavidad abdominal, exponiendo los cuernos uterinos para el depósito del semen directamente en éstos. Éste método de IA intrauterina no es muy recomendable, ya que puede afectar la fertilidad por el hecho de manejar el tracto reproductivo de la hembra. Además de que al ser un método quirúrgico en la cual se expone la cavidad, se corre el riesgo de que pueda existir una infección, que la hembra pueda sufrir de una hernia si no es bien realizado el proceso de sutura y la hembra tardará algunos días en llevar a cabo su recuperación, además, desde el punto de vista zootécnico es un procedimiento que es lento en su realización, para utilizarlo de manera rutinaria. Debido a estas desventajas, es que se ha ido declinando la preferencia de IA intrauterina por este método. (Figura 40)



Figura 40. Se muestra una IA por celiotomía en la cual se observa la exposición de los cuernos uterinos.

El **segundo** método es por vía laparoscópica, la cual es una cirugía invasiva menor, y consiste en depositar el semen dentro del lumen de los cuernos uterinos pero sin exponer la cavidad, mediante el uso de ésta técnica se pueden obtener porcentajes de fertilidad que van de 70 a 90%.(Bedolla *et al*, 2007)

En ésta técnica se realizan por lo general se realizan dos pequeñas incisiones de apenas 0.5 o 1 cm de ancho por las cuales, se introduce un telescopio el cual está conectado por medio de una fibra óptica a una fuente de luz fría para poder observar el interior de la cavidad y la otra incisión nos sirve para manipular el cuerno uterino y para introducir el semen por medio de un “áspic” (es una funda de plástico que en la punta lleva una aguja para perforar el cuerno uterino) y una pistola de inseminación (Figura 41). En ocasiones se realiza una tercer incisión para introducir unas pinzas y poder fijar el cuerno uterino y que no se mueva al momento de la punción con el áspic.



Figura 41. Punta de un aspic.

Éste método es más recomendable que el método por celiotomía, ya que, los cuernos uterinos de la hembra no son expuestos fuera de la cavidad, no se lleva a cabo la manipulación de los ovarios y el tiempo de recuperación de la hembra es mucho menor ya que los puntos de sutura son mínimos, además de que la posibilidad de infección de los mismos es menos probable y de más fácil tratamiento.

Indicaciones.

Para la realización de esta técnica, se debe dietar a la hembra, del alimento y el agua de bebida 24 horas antes de la realización de la IAL, ya que, debido a la posición inclinada que la hembra adopta en la camilla en decúbito dorsal al momento de la laparoscopia, puede broncoaspirar.

Se debe tener en cuenta que las hembras necesitan un periodo de recuperación para regresar de la anestesia, por lo tanto es recomendable tener un corral o un espacio acondicionado para este fin, el cual esté cubierto del sol y en el que las ovejas puedan beber agua.

La dosis mínima de espermatozoides viables debe ser de 40×10^6 células, en un volumen de 0.05 a 0.1ml y se puede utilizar semen fresco diluido o congelado (Duran, 2007).

Material requerido:

Anestesia, cicatrizante y antibiótico

1. Ketamina
2. Xilacina
3. Cicatrizante
4. Antibiótico (penicilina/estreptomicina)



Figura 42.

Instrumental

1. Mango de Bisturí con su respectiva hoja para corte
2. Pinzas de cirujano
3. Porta-agujas
4. Tijeras rectas
5. Pinzas de hemostasis



Figura 43. Instrumental IAL

Material Quirúrgico

1. Navaja para rasurar
2. Jabón quirúrgico
3. Cloruro de Benzalconio
4. Gasas simples 10X10 cm
5. Navajas para bisturí No. 21
6. Sutura no absorbible doble cero.
7. Sutura para piel doble cero.
8. Jeringas 1ml
9. Jeringas 3ml
10. Jeringas 5ml
11. Agujas del No. 18
12. Campos estériles
13. Guantes de cirujano estériles
14. Alcohol al 70%



Figura 44. Material quirúrgico IAL

Equipo para Laparoscopia

1. Camilla
2. Telescopio de laparoscopia.
3. Fuente de luz fría
4. Fibra óptica
5. 2 Trocar-cánula.
6. Bomba para insuflar CO₂

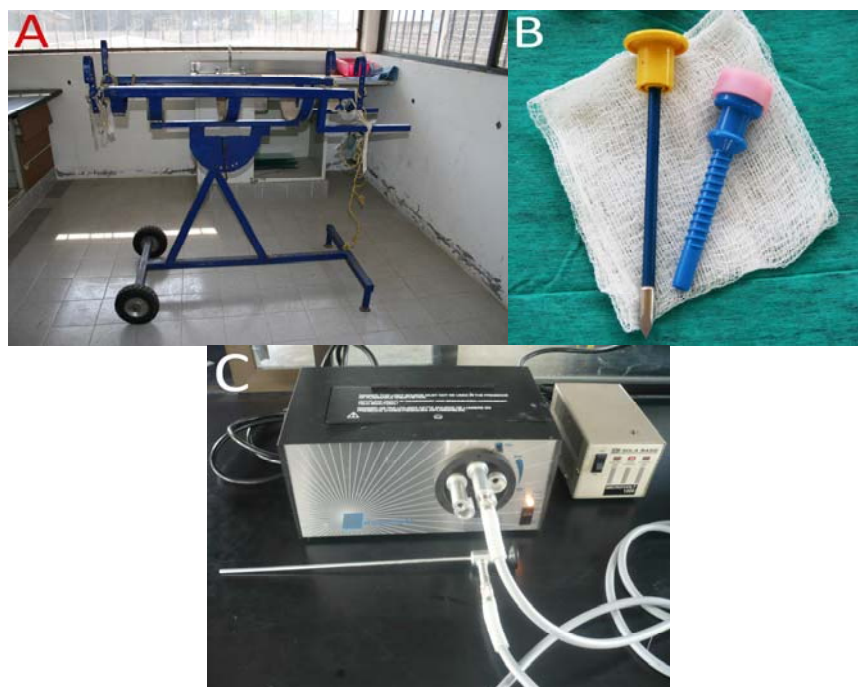


Figura 45. A) Camilla; B) Trocar y cánula y C) Laparoscópio con fibra óptica y fuente de luz

Material de Inseminación

1. Pistola de inseminación de 0.25ml
2. Bastón manipulador de visceras
3. Áspic's de 0.25ml
4. Pajillas de 0.25ml
5. Jeringa de 1ml sin aguja



Figura 46. A) Pistola de inseminación; B) Bastón manipulador; C) Áspic esteril dentro de una bolsa de plástico

Preparación del material quirúrgico y del Instrumental

Se debe colocar el material en una superficie limpia y seca(Figura 47),de preferencia cubierta por un campo estéril. Cuando se utiliza el mismo material para realizar la IAL a varias hembras, éste se puede sumergir en una solución de cloruro de benzalconio al 10%, también sirve para desinfectar el telescopio del laparoscopio, antes de introducirlo a la cavidad abdominal.



Figura 47. Imagen que muestra el lugar de trabajo para la laparoscopia.

Preparación de la hembra

Para la realización de esta técnica, se estiman las dosis de cada fármaco de acuerdo al peso de cada hembra, y una vez calculadas, se procede a aplicar el tranquilizante (Xilazina) que puede ser por vía intramuscular y se espera alrededor de 15 minutos para aplicar la dosis de anestésico (Ketamina). Mientras ocurre éste tiempo entre la aplicación de la Xilazina y la Ketamina, se recomienda rasurar el área de intervención, ya sea con navajas de rasurar o con una rasuradora eléctrica, teniendo mucho cuidado de no cortar la piel, la glándula mamaria o

los pezones de la hembra. Ya rasurada la hembra se lava la zona a incidir con jabón quirúrgico y se enjuaga lo mejor posible, al terminar se aplica alcohol con un aspersor con la finalidad de eliminar restos de jabón que pudieran haber quedado sobre la piel. (Figura 49)

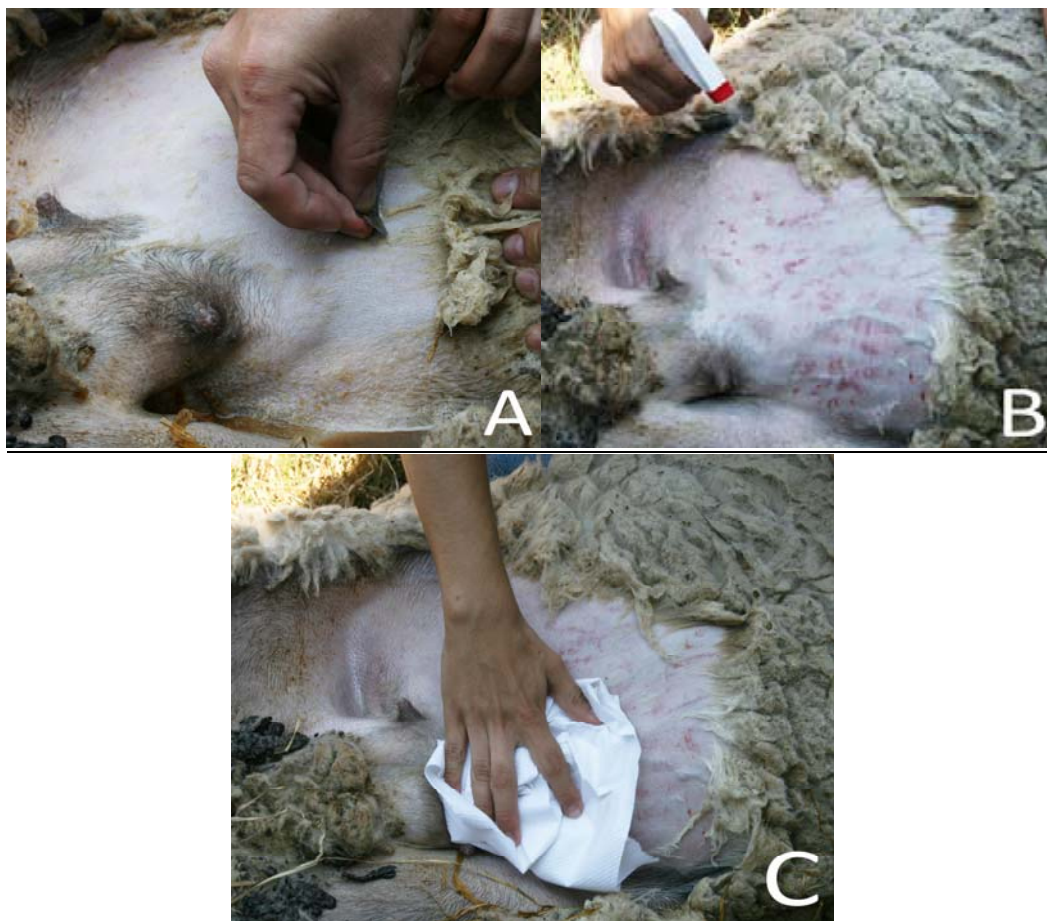


Figura 48. A) Rasurado del área de incisión; B) Lavado del área de incisión; C) Secado del área de incisión.

Preparación del material de inseminación

Cuando el semen se encuentra empajillado, se debe preparar la pistola de inseminación al momento de la laparoscopia inmediatamente después de la evaluación del semen. Se coloca la pajilla dentro de la pistola de inseminación y se cubre esta última con el áspic. Cuando no se utiliza semen empajillado, se puede cargar la dosis directamente en el áspic, con la ayuda de una manguerita de plástico y de una jeringa. (Figura 49)



Figura 49. Pistola de inseminación con áspic.

Procedimiento de la técnica

Se coloca la hembra en posición decúbito dorsal, se embroca la zona que se va a incidir con una sustancia aséptica, se realizan las incisiones por donde se va a introducir el instrumental. Las incisiones en la piel deben ser de aproximadamente 0.5 a 1cm. de largo, dependiendo del tamaño del trocar a utilizar y se realizan aproximadamente a tres centímetros adelante de la glándula mamaria, y a tres centímetros de la línea media ventral (Figura 50).

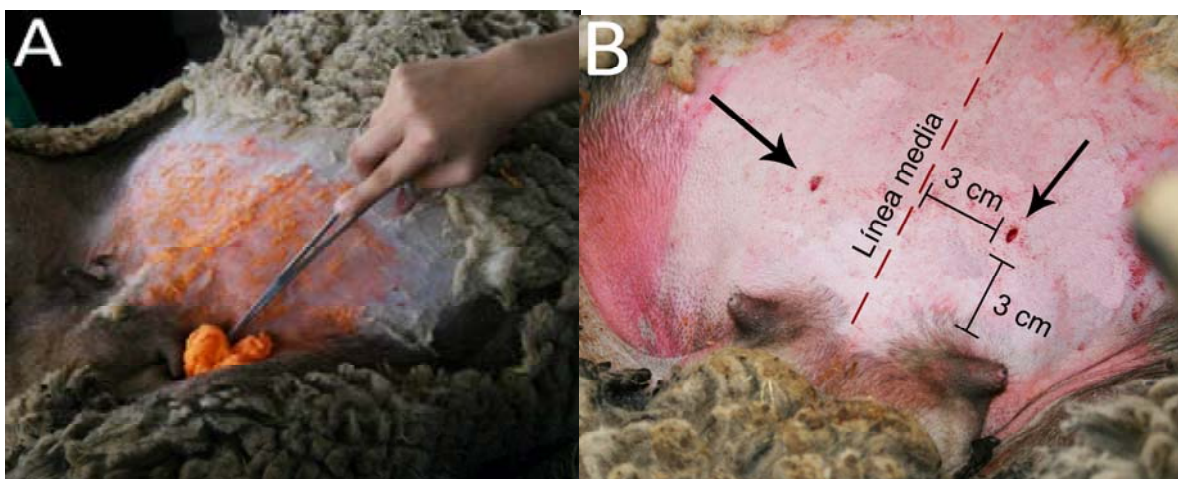


Figura 50. A) Embrocado del área a incidir; B) se muestra el lugar de las incisiones con relación a línea media y a la glándula mamaria.

Después se coloca el trocar cánula, aplicando un poco de presión y, para lograr entrar a la cavidad abdominal de la hembra, hay que tener cuidado de no colocar con demasiada fuerza para no lastimar algún órgano interno con la punta del trocar. Una vez fijas las cánulas, se retiran los trocares, para poder introducir el instrumental necesario y el telescopio. (Figura 51)

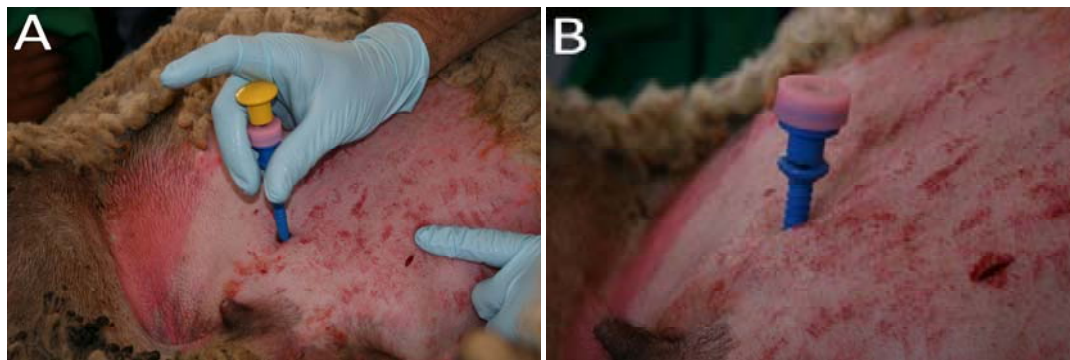


Figura 51. A) Colocación del trocar cánula con el puerto de 5mm; B) Retiro del trocar, dejando el puerto en posición.

Para tener un mejor campo visual dentro de la cavidad abdominal de la hembra, se insufla CO₂ dentro de la misma, hasta que se obtiene a la palmopercusión un sonido timpánico. No se debe insuflar oxígeno a la cavidad, ya que al introducir el telescopio con fuente de luz podría causarse combustión. (Figura 52)



Figura 52. Insuflado de CO₂ en cavidad.

Ya que se tiene insuflada la cavidad, se baja la camilla hasta tener una posición de un ángulo aproximado de 30° con la parte craneal del animal hacia el suelo (Figura 53), con el fin de poder desplazar los órganos internos hacia la parte craneal y así poder ubicar más fácil los cuernos uterinos para la inseminación. A través de uno de los puertos se introduce el telescopio con fuente de luz para la realización de la laparoscopia y por el otro puerto se introduce un manipulador de vísceras que nos ayuda a mover los órganos para la búsqueda y colocación de los cuernos uterinos para llevar a cabo la inseminación. (Figura 54)



Figura 53. A) Imagen en la que se muestra la camilla a 30° B) Imagen en la que se observa la camilla a 30° con la hembra en ella, para el desplazamiento craneal de vísceras



Figura 54. Cuernos uterinos vistos a través del laparoscópio.

Una vez que se tiene el cuerno uterino, se introduce la pistola de inseminación y con el áspic, se punciona el cuerno uterino lo más cercano posible al oviducto para la colocación de la dosis de semen. Se debe tener cuidado de introducir lo suficiente la aguja del áspic para depositar el semen directamente en el lumen del cuerno uterino (figura 55).

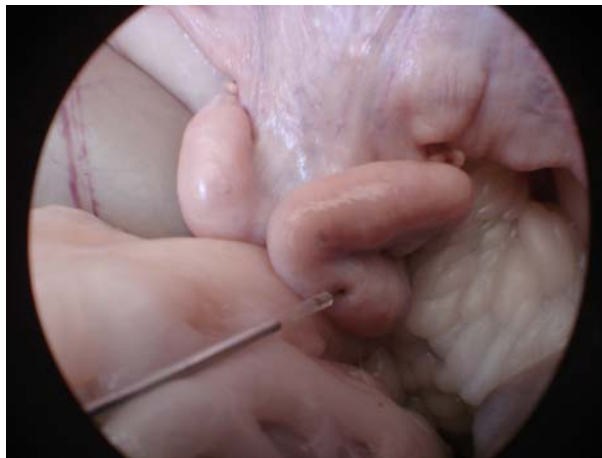


Figura 55. Punción del cuerno uterino con el áspic

Si no se realiza de forma correcta, entonces el semen puede ser depositado en la submucosa o en la serosa del cuerno uterino, formando una especie de burbuja. (Figura 56)

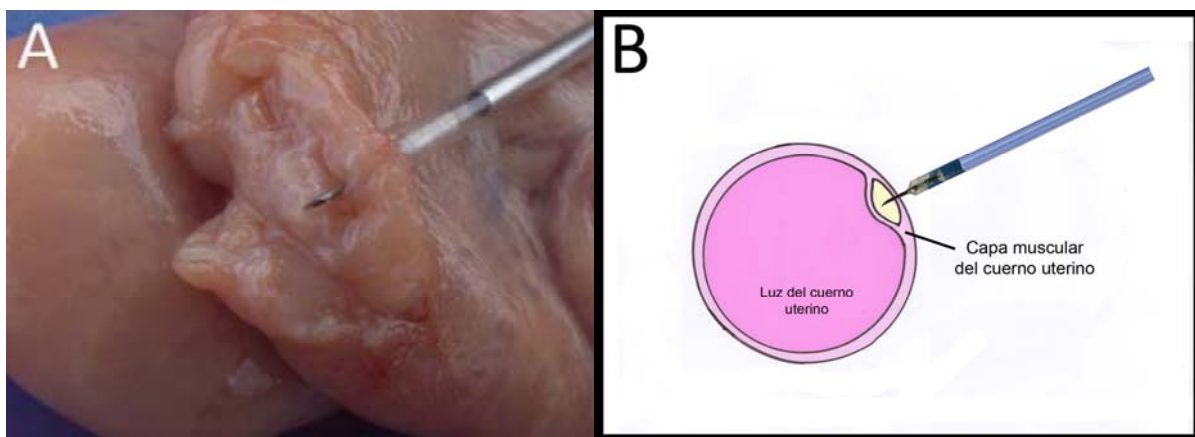


Figura 56. A) Punción correcta, depositando el semen en el lumen uterino, B) Punción incorrecta depositando el semen en la pared del cuerno uterino.

Recomendaciones

La técnica de IAL, aunque es una técnica quirúrgica, debe realizarse de manera rápida, sobre todo durante el tiempo en que la camilla es colocada en la posición de 30°, ya que al desplazar los órganos internos hacia delante, se comprime un poco la cavidad torácica y la hembra respira con mayor dificultad.

Durante la búsqueda de los cuernos uterinos y de su manipulación dentro de la cavidad para la inseminación, se debe tener cuidado en no manipular los ovarios de la hembra, ya que si se hace esto, podría dañarse el folículo preovulatorio.

4.5 Anexos

Descongelación de semen

La descongelación de semen almacenado, en **pajillas** se lleva a cabo retirando la pajilla de semen de la canastilla del termo de inseminación y se coloca en agua a 35°C en un baño María por aproximadamente 5 segundos. Se puede tomar una muestra para la evaluación de su movilidad e inmediatamente se coloca en la pistola de inseminación para introducirse en el cuerno uterino. (Figura 57)

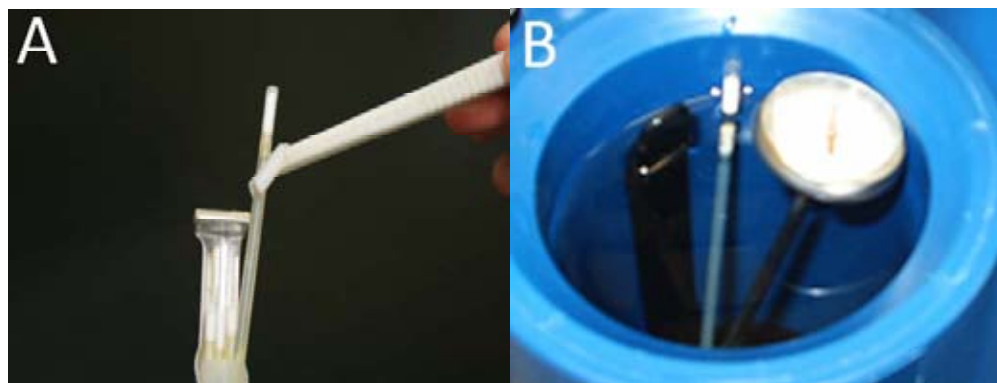


Figura 57. A) Forma de retirar la pajilla del termo de nitrógeno líquido, B) Colocación de la pajilla en el baño María.

Para la descongelación de semen procesado en **pellets** se deben utilizar pequeños viales de vidrio, preferentemente de color ámbar, para evitar que la luz dañe el semen, y un baño María de 35 a 37°C. Se coloca dentro del vial un volumen de solución salina fisiológica (SSF) que puede ser de 0.15 a 0.20ml, para hidratar el semen. Se homogeniza y se puede tomar una muestra para la evaluación de su movilidad. Una vez descongelado el semen, se carga en una pajilla de 0.25ml y se coloca dentro de la pistola de inseminación para ser introducido al cuerno uterino, o puede cargarse el semen directamente al áspic. (Figura 58)

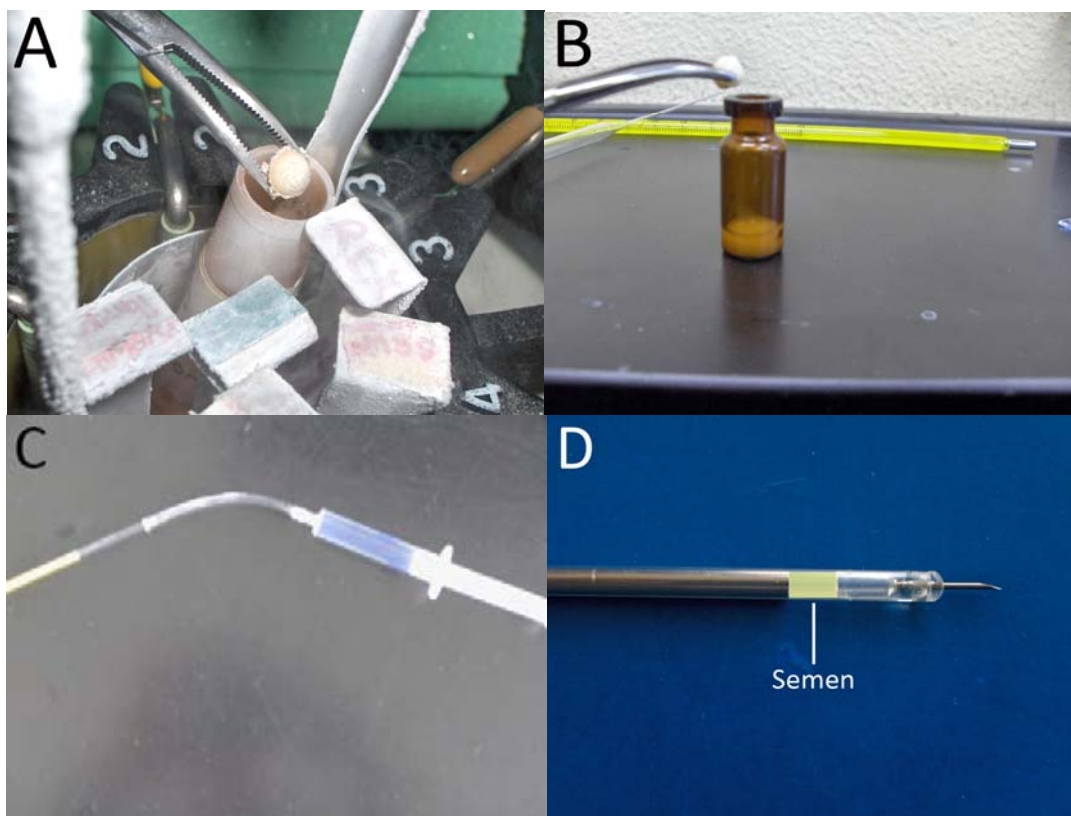


Figura 58. A) Forma de retirar los pellets del termo de nitrógeno líquido, B) Colocación del pellet en un vial color ámbar con SSF, C) Forma de cargar el semen en una pajilla, D) Semen en el áspic.

Registros

Es muy importante recordar que al realizar la IA, se debe llevar un registro de la hembra a la que se ha realizado, el día en que se realizó, la técnica que se utilizó, las condiciones en las cuales se encontraba el semen al momento de la inseminación y la identificación del semen que se inseminó (número de macho, raza, etc.).

5. CONCLUSIÓN

La descripción detallada de las diferentes técnicas de inseminación artificial en este manual, permite desarrollar habilidades y destrezas a los médicos veterinarios zootecnistas y personas interesadas en esta área.

6. LITERATURA

1. Anel L., Kaaby M. et al, Factors influencing the succes of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. Theriogenology, 63 (2005) 1235–1247.
2. Bedolla C. C., Hinojosa S. G., Bedolla G. E., González V. E., Arrollo O. L., Chávez E. A., González R. E. Técnicas de inseminación artificial en ovinos. [en línea] Abril 2007. <http://www.monografias.com/trabajos44/inseminacion-ovinos/inseminacion-ovinos.shtml>
3. Buckrell B.C., Buschbeck C., Gartley C. J., Kroetsch T., McCutcheon W., Martin J., Penner W. K. and Walton J. S. Further development of a transcervical technique for artificial insemination in sheep using previously frozen semen. Theriogenology 42: 601-611 (1994).
4. Butt P. E. El uso del laparoscopio para la inseminación artificial intrauterina utilizando semen congelado en el ganado ovino. Tesis de licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF, 1992
5. Campbell J. W., Harvey T. G., McDonald M. F., Sparksman R. I. Transcervical insemination in sheep: an anatomical and histological evaluation. Theriogenology. 45: 1535-1544. (1995)
6. Caballero G. V. Fertilidad de embriones frescos y congelados transferido por laparoscopía en cabras. Tesis Licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF, 1995.
7. Cerbón G. J. Recuperación de embriones en ovejas superovuladas inseminadas intrauterinamente o por monta natural. Tesis Licenciatura, Facultad de Medicina

- Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF, 1995.
8. Cueto M. and Gibbons A. Manual de inseminación artificial en la especie ovina. Manual de divulgación. Comunicación técnica de producción animal del INTA Bariloche.1995.
 9. Duran C. E. Evaluación de dos técnicas de inseminación artificial laparoscópica intrauterina y el efecto del número de espermatozoides inseminados en ovinos. Tesis Licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, Universidad Nacional Autónoma de México, México, 2007
 10. García C. R., Procedimientos quirúrgicos laparoscópicos aplicados en la reproducción de animales domésticos: Estudio recapitulativo. Tesis de Licenciatura, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF, 2005.
 11. Ghalsasi P.M., Nimbkar C., Evaluation of laparoscopic intrauterine insemination in ewes. Small Ruminant Research, 23 69-73 (1996).
 12. Hafez ESE. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7^a ed. South Carolina. EUA: Interamericana, 2002.
 13. Halbert G.W., Dobson H., Walton J.S., Sharpe P., Buckrell B.C. The structure of the cervical canal of the ewe. Theriogenology, 33: 6-1231-1243, (1990).
 14. Kershaw C., Khalid M., McGowan M. R., Ingram K., Leethongdee. S., Wax G., Scaramuzzi R. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. Theriogenology, 64: 1225-1235 (2005).

15. Marco-Jimenez, F. / Puchades, S. / Gadea, J. / Vicente, J.S. / Viudes-de-Castro, M.P.,
Effect of semen collection method on pre- and post-thaw Guirra ram spermatozoa.
Theriogenology, 64: 1756-1765, (2005)
16. Maxwell, W.M.C., Curnock, R.M, Logue, D.N. and Reed, H.C.B.:Fertility of ewes
following artificial insemination with semen frozen in pellets or straws, a preliminary
report, Theriogenology, 14: 82-89 (1980).
17. Maxwell, W.M.C., and J. Hewitt. A comparison of vaginal, cervical and intrauterine
insemination of sheep. J. Agric. Sci. 106: 191-193. (1986)
18. Sayre B. L. and Lewisa G. S. Fertility and ovum fertilization rate after laparoscopic or
transcervical intrauterine artificial insemination of oxytocin-treated ewes.
Theriogenology. 48: 267-275. (1997)
19. Senger PL. Pathways to pregnancy and parturition. 2nd ed. Ephrata, PA. Current
Conceptions, Inc., 2003.
20. Wulster-Radcliffe M.C., Wang S., Lewis G.S. Transcervical artificial insemination in
sheep: effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing
the cervix on pregnancy and lambing rates, Theriogenology, 62: 990-1002. (2004)