

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA  
UNIDAD- XOCHIMILCO  
DIVISION DE CIENCIAS BIOLOGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE PRODUCCION AGRICOLA Y ANIMAL  
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SS  
B  
1932

**INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL LEGAL:**

**"INFLUENCIA SOBRE LA MOTILIDAD Y SOBREVIVENCIA  
DE LOS ESPERMATOZOIDES DE CABALLO ANTES Y  
DESPUES DE LA CONGELACION UTILIZANDO DOS  
DILUYENTES DE CENTRIFUGADO"**

**Proyecto Genérico:**

**Mejoramiento Genético.**

**Prestadores De Servicio Social:**

ESCOBAR MORENO ARTURO ISRAEL 92338662.  
OCEGUEDA SANCHEZ VICTOR SERGIO 92247846.

**Asesores:**

**INTERNOS:**

M.V.Z. ERNESTO HERNANDEZ PICHARDO.  
M.V.Z. FILIBERTO FERNANDEZ REYES.

**EXTERNO:**

M.V.Z. FAUSTO RODRIGUEZ G.  
CED. PROF. 1467965

**Fechas de inicio y teminación:**

15 DE ENERO DE 1997.  
15 DE JULIO DE 1997.

**Institución:**

POLICIA MONTADA DE LA SECRETARIA DE SEGURIDAD PUBLICA DEL  
DISTRITO FEDERAL.

# INDICE

INTRODUCCION	1
EVALUACION DEL GARAÑON PARA SU VALIDEZ REPRODUCTIVA	1
HISTORIA	
EXAMEN FISICO	
COLECCION DE SEMEN Y ESTUDIO BACTERIOLOGICO	
CARACTERISTICAS FISICAS Y ANATOMICAS DE UNA YEGUA PARA RE- PRODUCCION	4
CONDICION CORPORAL GENERAL DE LA YEGUA	
PARASITISMO	
NEOPLASIAS	
HIPOTIROIDISMO	
ANORMALIDADES DE LA GLANDULA MAMARIA	
HERMAFRODITISMO (INTERSEXO)	
ENGRANDECIMIENTO DEL CLITORIS	
CONFIRMACION DE LA EDAD	
ANORMALIDADES MUSCULO-ESQUELETICAS	
EXAMINACIÓN CARDIOPULMONAR	
CONFORMACION PERINEAL	
ACTITUD Y COMPORTAMIENTO	
CICLO ESTRAL DE LOS EQUINOS	9
PROESTRO	
ESTRO	
METAESTRO	
DIESTRO	
INSEMINACION ARTIFICIAL	19
HISTORIA	
VENTAJAS DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL (I.A.)	
LIMITACIONES DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL	
MANEJO Y PREPARACION DE LA YEGUA PARA LA I.A.	
MANEJO DEL GARAÑON PARA LA I.A.	
EVALUACION SEMINAL	
CONTRASTACION MACROSCOPICA	
CONTRASTACION MICROSCOPICA	
CONTRASTACION BIOLOGICA DEL ESPERMA	
CRIOPRESERVACION DEL SEMEN DE EQUINO	34
HISTORIA	
VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL SEMEN CONGELADO	
ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LA CRIOPRESERVACION	
ACCION DE LOS CRIOPROTECTORES INTRA Y EXTRACE- LULARES	
DILUYENTES PARA CRIOPRESERVACION DEL SEMEN DE GARAÑON	
RESUMEN	45
OBJETIVOS	46
MATERIAL Y METODOS	47
ACTIVIDADES REALIZADAS	50
OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS	51
RESULTADOS	52

DISCUSION	57
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES	58
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	59
ANEXOS	

# INTRODUCCION

## EVALUACION DEL GARAÑON PARA SU VALIDEZ REPRODUCTIVA

Una profunda evaluación para validez reproductiva es recomendada 1) antes de la compra de un garañón (si es probado o no probado), 2) antes de su primera época como semental, 3) en garañones que se sabe o sospecha de subfertilidad, 4) en granjas de criadores para optimizar la eficiencia reproductiva del rebaño, y 5) antes de iniciar un programa de reproducción que use semen transportado fresco o congelado.

### *HISTORIA.*

Se obtiene una historia completa del garañón en cuanto a su uso previo y desarrollo reproductivo. Factores como infecciones y heridas pueden ser clarificados en cuanto a su duración y severidad. Los tratamientos médicos recibidos por el caballo como hormonas esteroides, esteroides anabólicos, hormona adrenocorticotrópica (ACTH), gonadotropinas, y otros pueden ser conocidos. La duración, nivel, e intensidad del desarrollo atlético pueden ser determinados en garañones que recientemente han sido retirados de las competencias. Para garañones que han sido utilizados para reproducción, la historia puede incluir detalles concernientes al número de hembras cubiertas, número de servicios por hembra, método de inseminación (artificial o natural), datos de preñez (por ciclo o por estación), y datos de potros por estación. Preguntas concernientes al líbido del garañón y comportamiento a la monta también son necesarias. Resultados de una evaluación de validez reproductiva puede estar disponible para comparar las conclusiones de la evaluación actual. Se deben tomar precauciones para que las conclusiones de la evaluación de otros o tempranas, no predispongan la actual evaluación del caballo o desvíen la atención lejos de conducir a una evaluación profunda y sistemática. La edad del caballo, número del tatuaje (si tiene), y marcas de identificación pueden ser registradas de tal modo que se pueda realizar la identificación positiva del caballo en una fecha posterior.

La historia de vacunación y el programa de control de parásitos para el caballo pueden ser registrados. Resultados de pruebas previas para Anemia Equina Infecciosa (EIA) pueden ser revelada. Un esfuerzo puede ser hecho para averiguar si el caballo nunca a sido vacunado contra Artritis Viral Equina (EVA). Los productos usados para desparasitar, métodos de aplicación, y frecuencia del tratamiento pueden ser conocidos.

Para garañones que han sido utilizados para reproducción, esto es aconsejable para obtener información básica correspondiente a las prácticas reproductivas, tal como 1) método usado para lavar el pene del caballo antes de la monta, 2) si posteyaculación al apareamiento, muestras de semen son evaluadas para motilidad y presencia de glóbulos blancos (en caballos por monta

natural), 3) método usado para el manejo del garañón al momento del apareamiento, y 4) típico comportamiento del garañón en el lugar de apareamiento. Estas observaciones históricas son analizadas en relación con observaciones hechas durante el curso de la actual evaluación de validez reproductiva.

### ***EXAMINACION FISICA.***

La condición general corporal del caballo y su buena salud pueden ser notadas. Especial atención se debe tener en el sistema músculo-esquelético. El caballo debe moverse libremente y tener la total flexión de todas sus articulaciones de las extremidades traseras en particular y debe de ser libre de dolor, laminitis, y ataxia. Los garañones con problemas locomotores pueden a menudo ser utilizados con éxito en su caballeriza; en estos caballos, consideraciones especiales o prácticas dirigidas pueden contribuir a una larga vida de uso y minimizar la exacerbación de problemas crónicos de laminitis.

Condiciones hereditarias confirmadas o sospechosas (e.g., malformación de vértebras cervicales, hernia escrotal o umbilical, criptorquidismo, boca de loro, síndrome combinado de inmunodeficiencia) u otros defectos en el garañón o en su descendencia pueden ser conocidas. La examinación física puede incluir pruebas de sangre para EIA y EVA, como estas infecciones vírales pueden ser pasadas a hembras durante la monta. Si el suero de un garañón resulta positivo en la prueba para encontrar anticuerpos de EVA, una alícuota de semen sin diluir debe de ser sometido a un laboratorio apropiado para que determine si el caballo alberga virus en el semen. Aproximadamente un cuarto de los garañones seropositivos contienen virus de EVA en el semen. La transmitibilidad de EIA en el semen queda de sobra.

Si un garañón es presentado para evaluación en condiciones de bajo peso o pobre estado de salud, un completo conteo de sangre, análisis clínico en suero, y examen fecal son indicados. Más exámenes minuciosos del estado general de salud de un garañón puede necesitarse si se sospecha de anormalidades.

### ***COLECCIÓN DE SEMEN Y ESTUDIO BACTERIOLOGICO.***

La calidad del semen puede estar afectada adversamente por culpa de la colección o por las técnicas de manejo. El semen debe de ser protegido de polvo, agitarse bruscamente, luz solar y exposición al agua o lubricantes espermicidas y debe tener un mínimo contacto con el liner de la vagina artificial.

Después de que el caballo es expuesto a una hembra en celo, el glande del pene, la fosa del glande y el divertículo uretral, y el tronco peniano son lavados, enjuagados con agua tibia y secados con toallas desechables.

En este punto, el glande es manejado para estimular la liberación de fluido preeyaculatorio. Subsecuentemente un algodón para cultivo estéril es pasado dos o tres veces dentro de la uretra. El algodón es pasado sobre una placa de Agar sangre o en otro medio conveniente para cultivo aerobio. En garañones con reducida fertilidad debido a infecciones vaginales o uterinas siguientes al apareamiento, esta puede ser necesario para obtener un frotis en un pene sucio, vaina, fosa del glande y divertículo uretral y prepucio para cultivo.

Estos frotis son repetidos después del proceso de lavado. Adicionalmente, un frotis directo del semen colectado puede ser cultivado.

*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus zooedidemicus*, y *Taxlorella equigenitalis* son los organismos de primera importancia en el garañón. La mayoría de los caballos afectados son portadores asintomáticos de estos organismos. Estos organismos pueden tener una transmisión horizontal para las hembras en la época de empadre.

La siguiente colección de semen e inmediatamente después de aparearse con la yegua, se agarra el pene erecto para mantener la dilatación del glande y la uretra. Un algodón estéril es otra vez pasado dentro de la uretra para obtener fluido posteyaculatorio y poder calcular el estatus bacteriológico de los órganos genitales internos. El método y sitios de frotis son escogidos para diferenciar entre contaminación e infección del aparato genital interno y externo.

Del tiempo que el caballo es conducido hacia el área de reproducción y expuesto a una hembra en celo, se pueden realizar observaciones menos cualitativas, concerniente al líbido y conducta del caballo. Amplios rangos de líbido y conducta excesiva son presentadas por garañones principiantes y experimentados. El líbido es un rango hereditario y es evidentemente influenciado por previo desarrollo del entrenamiento o falta de este, manejo en el área de reproducción y muchos factores ambientales. El examinador debe ganar experiencia para apreciar el líbido del garañón y el comportamiento al apareamiento, porque estos componentes de la conducta del garañón pueden influenciar mucho el desarrollo reproductivo.

El líbido y el comportamiento del apareamiento del garañón principiante no puede ser juzgado severamente, porque los métodos para desarrollar su entrenamiento no pueden promover la exhibición de estos comportamientos. El garañón frecuentemente necesita tiempo y práctica para desarrollar el comportamiento reproductivo normal.

Una puntuación cuantitativa puede ser de mucha ayuda para recopilar los intervalos de tiempo de entrada del garañón a el área de reproducción para la extensión y erección del pene del caballo, el intervalo de tiempo de erección para montar a la hembra, y el número de montas requeridas para eyacular. Estos datos son recopilados por cada secuencia de recolección de semen.

Ocasionalmente durante la colección de semen un garañón puede eyacular mientras desmonta. Si determinado caballo es usado para aparearse por servicio natural, estas conductas

de la monta pueden ser analizadas permitiendo al caballo cubrir yeguas en celo en libertad. La examinación por laminitis de miembros posteriores y problemas anteriores pueden ser registrados y la readaptación del garañón puede comenzar (16,26).

## **CARACTERÍSTICAS FÍSICAS Y ANATÓMICAS DE UNA YEGUA PARA REPRODUCCIÓN.**

La evaluación clínica de la yegua es esencial para encontrar correlación física con el potencial para su función reproductiva. Identificación de hembras en el contexto de récords, recuperación de datos históricos y futuras referencias es obligatorio. Investigación que puede ser verificada por un registro certificado, grabado de la marca del animal, número de tatuaje, fierro y fotografía. Legalmente también cuando, cierta rama de la medicina puede ocasionalmente ser suficiente en estímulo para establecer la identidad de cada individuo examinando y subsecuentemente tratado. Entre los factores que pueden afectar su comportamiento, ciclicidad, concepción y habilidad para llevar un potro a término pueden incluir los siguientes:

### ***CONDICIÓN CORPORAL GENERAL DE LA YEGUA.***

Estudios han conducido a establecer la relación entre la condición corporal y la grasa subcutánea para fertilidad. Estas evidencias indican que el rango de moderadamente flaco a sobre peso no parece presentar un decremento significativo en los datos de preñez, aunque en realidad hembras con muy buena condición corporal alcanzan mejores datos de preñez. Por lo tanto, solo en los casos de extrema pérdida de peso u obesidad podría afectar el potencial reproductivo para el mercado, porque suplementando el alimento al inicio de la estación reproductiva no resulta en un incremento de las tasas de preñez. La impresión clínica de administradores de granjas, veterinarios y nutriólogos se presentan para comprobar que el balanceo nutricional y la adecuada composición corporal son un factor positivo en estimular máxima fertilidad. Una política alentada por muchas granjas para aumentar la relación administración- cliente es la fotografía y peso grabado tomado de cada hembra admitida a la granja a su llegada. La presencia de una escala puede ser invaluable en la transacción con clientes quien creen su hembra ha perdido peso. Severos factores influyen en la condición corporal general en adición a la nutrición.

***Anormalidades de la dentadura.*** Una de las primeras consideraciones que pueden ser asociadas con la pérdida de peso del caballo es inhabilidad para masticar correctamente la comida. En todas las edades del caballo tiene predisposición para aberración dental. La hembra joven puede exhibir dificultad para masticar durante el período de erupción dentaria reteniendo dientes caducos y mudando cápsulas. Animales de edad media y viejos son candidatos para afilados bordes de molares inferiores y superiores que pueden interferir con la masticación. Mala

eclosión predispone a tasa de crecimiento anormal del segundo premolar con problemas de masticación, dientes perdidos por agitar la boca, abscesos arraigados y traumas ocasionales con fractura también pueden contribuir para comprometer la dentadura. Otras enfermedades o neoplasias pueden contribuir a la pérdida de peso, debilidad y estrés.

### ***PARASITISMO.***

Los efectos de una carga excesiva de parásitos internos es reportada frecuentemente. Las yeguas de edad para presentar el examen de precrianza son más susceptibles a infecciones o a mostrar los efectos de invasión de *Strongylus vulgaris* o *Gastrophilus sp.* Durante su migración el *Strongylus vulgaris* puede crear lesiones dentro de las arterias que dan como resultado compresión en el abastecimiento de sangre o isquemia en el intestino grueso y subsecuentes cólicos. El *Gastrophilus* o su larva selecciona al estómago como el lugar para adherirse y ocasionalmente penetrar. Es asociada comúnmente una carga pesada o una infección con estos parásitos, pérdida de peso, pobre condición física y ocasionalmente síntomas clínicos más severos.

### ***NEOPLASIAS.***

Diversos tipos de tumores podrían afectar posteriormente la reproducción de la yegua.

***Tumor en las células granulosas de la Teca.*** Este tipo de tumor es de origen ovárico y es comúnmente asociado con conductas anormales, Masculinidad, y ciclos irregulares. La mayoría de esos casos se reportan en yeguas de edad media o ya mayores, aunque en 78 yeguas el rango fué de 2 a 20 años. El diagnóstico se basa en su historial, examen rectal, ultrasonido y una prueba frecuente de concentración en el suero de testosterona. El ovario neoplásico se engrandece de moderadamente a extremadamente y es nodular a la palpación rectal. En la ultrasonografía, tiene comúnmente una apariencia multilobular o de "panal de abejas". Los niveles de testosterona se elevan más de 50 pg/ml considerándose significativos aunque no específicos para el diagnóstico.

***Pituitaria o adenoma de las células  $\beta$***  Esta neoplasia involucra la parte intermedia de la glándula pituitaria. Caracterizándose este síndrome por la pérdida de peso, desgaste muscular, bajas condiciones físicas, y una capa de pelo largo (frecuentemente rizado) que persiste en el verano. Sudor excesivo, poliuria, polidixia e hiperglicemia, y glicosuria son síntomas que frecuentemente lo acompañan. Elevadas concentraciones en plasma de adrenocorticoides pueden asociarse con el síndrome de Cushing. El adenoma de la pituitaria ocurre en yeguas mayores, generalmente en mayores de 13 años y en la mayoría de los casos se identifican al correlacionar su historial, edad y síntomas clínicos. El diagnóstico de la neoplasia es definitivo.

***Melanomas.*** Son tumores que no son comúnmente vistos en caballos viejos o caballos mayores de color gris o blanco. La evidencia externa es más frecuentemente observada alrededor

del ano, cola y región perineal. La aparición en otras partes del cuerpo tales como la crin, cabeza y cuello- son frecuentemente visibles como extensiones, o metástasis, del punto original. Los melanomas son menos comunes que los tumores del útero tales como carcinomas, fibromas y más en relación con la infertilidad de la yegua.

### ***HIPOTIROIDISMO.***

Aunque el hipotiroidismo en los perros se reporta como una causa de infertilidad en esas especies es menos común en los equinos. Los síntomas clínicos que se asocian con esta enfermedad incluyen obesidad y alopecia. Otros cambios metabólicos que se asocian con la deficiencia de tiroides, son los de efecto no adverso que se observan en la eficiencia reproductiva. Este diagnóstico puede confundirse con la prueba de respuesta de la estimulación hormonal de la tiroides TSH.

### ***ANORMALIDADES DE LA GLÁNDULA MAMARIA.***

La mastitis es caracterizada por engrandecimiento edematoso y dolor en la ubre. La mitad de la glándula se involucra y la incidencia es más alta en temporadas de destete debido al cese de amamantamiento, acumulación de leche en la glándula, algo de degradación del edema e inflamación, y predisposición a la infección ascendente. Una secuela común a la mastitis es la fibrosis en parte o en toda la glándula, la inflamación no resuelta, infección, y fibrosis frecuentemente tiende al no funcionamiento de la glándula para producción de leche en los potrillos posteriores.

El edema puerperal o mastitis se observa en el periodo neonatal y generalmente asociado con fallas al amamantar al potro o por posible septicemia sistémica de la yegua. Un examen profundo de la ubre se requiere par determinar la capacidad de la yegua en lactancia normal.

### ***HERMAFRODITISMO (INTERSEXO).***

Los intersexuales son individuos a los cuales la determinación primaria de su sexo se dificulta por variaciones anatómicas, congénitas y anormalidades de sus órganos genitales. Esto es poco común en ovejas, cabras y ganado y muy raro en caballos. Los hermafroditas tienen ambos, testículos y ovarios u ovarios y testículos. Los pseudohermafroditas masculinos fenotípicamente parecen hembras pero tienen testículos y los hermafroditas femeninos parecen macho pero tienen ovarios. Las variaciones y degradaciones de cambios químicos pueden ocurrir en la yegua, la aparición externa del intersexo es generalmente confirmada al área de la vulva clitoral en la cual el clítoris puede ser más grande o parecerse ligeramente a un pene. La abertura de la uretra puede localizarse en el caudal vaginal normal o en la estructura parecida al pene. El anestro y la conducta semejante al garañón frecuentemente acompaña la observación clínica.

La amniocentesis o recolección de líquido amniótico y células de análisis de diagnóstico se han ejecutado comúnmente en humanos en gestación temprana para detectar aberraciones fetales, sospechas o para determinar sexo. Solo algunas investigaciones limitadas se han detectado en algunos animales.

### ***ENGRANDECIMIENTO DEL CLÍTORIS.***

Es una identificación clínica singular, con o sin cambios de comportamiento y es más comúnmente relacionado con la administración sistemática de esteroides y anabólicos. Los estudios para determinar el efecto de esteroides anabólicos en la función reproductiva de yeguas jóvenes reportaron un engrandecimiento del clítoris marcado como un signo clínico adicional de los cambios de comportamiento y ejecución reproductiva reducida. El engrandecimiento del clítoris en la temporada de examinación externa de la yegua podría ser un indicativo de una terapia anterior de esteroides anabólicos. Este tipo de tratamientos bajo suposición de que es útil en el incremento de la masa muscular y velocidad, se maneja frecuentemente en eventos atléticos de alto rendimiento. Hay una ligera evidencia que apoya el uso de esteroides anabólicos en este propósito en los caballos.

### ***CONFIRMACIÓN DE LA EDAD.***

Aunque no es significativo la relación entre la edad y la fertilidad en yeguas normales al parecer existe una tendencia hacia el decremento, es inminente en yeguas mayores como resultado de una fuerte tendencia para desarrollar la vulva y cambios perineales que se predisponen a infecciones ascendentes y endometritis. Por lo tanto, la identificación de la edad por examinación visual de la dentadura no solamente verifica la edad sino que evidencia necesidades odontológicas que aumentarían la condición física.

### ***ANORMALIDADES MÚSCULO-ESQUELÉTICAS.***

Aunque las condiciones primarias se dan en el aparato reproductor normal cuando se acepta una yegua en la manada reproductiva, anomalías músculo-esqueléticas genera problemas de postura y riesgo en la concepción y gestación. El dolor y estrés puede afectar adversamente este ciclo y la evidencia reproductiva. Las carreras en ejecución atlética predisponen a la yegua fracturas, tendinitis, artritis, y otras condiciones dolorosas. Las condiciones crónicas incluyendo la laminitis y enfermedades naviculares pueden provocar dolor, debilidad y anorexia. Cada uno de estos problemas es perjudicial para la eficiencia reproductiva. La gestación avanzada normalmente involucra mayor peso en la yegua, acompañado de efectos dolorosos del miembro y unidos a la enfermedad. El mantenimiento de la gestación se puede afectar por adherencias abdominales resultado de cirugías previas caracterizadas por cólicos

crónicos o recurrentes. Causas adicionales musculoesqueléticas podrían incluirse a la difusión orgánica y factores de anemia. Exámenes clínicos de sangre y perfiles podrían ser de utilidad al determinar las causas y efectos de estas enfermedades.

La presencia de defectos abdominales también poseen un riesgo potencial en la yeguas durante la gestación. Hernias umbilicales también son comunes en potro neonatales. La evidencia está disponible para indicar que ésta es hereditaria, la hernia umbilical es más comúnmente reparada y corregida de 1 a 6 meses de edad. Presentar la corrección quirúrgica para ser el tratamiento a escoger. El potencial para estrangulación de un segmento del intestino esta siempre presente; sin embargo, con el incremento de la masa y peso abdominal en la gestación avanzada, la obstrucción del intestino a través de un defecto ventral abdominal es intensificado.

El edema ventral, con frecuencia visto en la gestación avanzada y asociada con confinamientos o falta de ejercicio no debe de ser confundida con la gran inflamación asociada con la ruptura del tendón prepúbico. El último puede amenazar la vida y siempre comprometer la capacidad de la yegua para expulsar el feto al momento del parto.

Evidencias de cicatrices en algún lado en área abdominal puede ser una indicación de una intervención quirúrgica anterior por cólico. Ocasionalmente adherencias postoperatorias que pudieron formarse y pueden interferir con el crecimiento uterino y la posición en la gestación avanzada.

Un examen físico inicial de la hembra usualmente identificará la causa y permitirá un régimen planeado de tratamiento anterior para especificar el rendimiento reproductivo.

### ***EXAMINACION CARDIOPULMONAR.***

Enfermedades crónico respiratorias y cardiacas pueden jugar un papel en el fracaso reproductivo. Identificar estas anomalías tempranamente pueden ser útil en eliminar tiempo y pérdidas económicas durante la época reproductiva. Enfermedades de obstrucción crónica pulmonar (COPD) es debilitante. Cuando se acompaña de disnea y tos, COPD, además de enfermedades y estrés, incrementan para neumovagina y subsecuentemente para una infección de tracto reproductivo. Enfermedades cardiacas, aunque relativamente poco común en el caballo, pueden aparecer en algunas hembras viejas. La auscultación es parte de la examinación física para identificar algunas de estas anormalidades. No contrario el efecto a corto plazo puede ser evidente; sin embargo una insuficiencia de alguna válvula o una congestión del corazón durante largo tiempo puede terminar con el rendimiento reproductivo.

El edema del abdomen ventral y miembros bajos es una indicación de potenciales anormalidades cardiovasculares. La vasculitis con incremento de permeabilidad capilar produce edema que puede ser asociado con la hemorragia púrpura equina (EPH) y anemia infecciosa equina (EIA). Anemias marcadas están presente en casos avanzados de EIA. Cuando cada uno

puede ser un efecto adverso sobre la eficiencia reproductiva, un rápido diagnóstico es esencial. La confirmación por el laboratorio serológico y la prueba de Coggia (EIA) positivamente identifica esta condición. El diagnóstico de EPH es basada sobre los diagnósticos clínicos de edema de la cabeza y miembros y a menudo una historia infecciosa previa con *streptococcus equi*.

### ***CONFORMACION PERINEAL.***

El área que envuelve la vulva y el ano puede relacionar cambios anatómicos o mostrar alteraciones de tamaño y tono normal de la vulva. La presencia de anormalidades y su grado de cambio puede predisponer una neumovagina y retención de orina. Por lo tanto, una evaluación clínica de esta área es constante, incluyéndose en el examen físico general. Evidencias de una operación de Caslick, episiotomías o resección del cuerpo perineal, uretroplastia, laceraciones perineales de tercer grado curadas son datos históricos benéficos para determinar eventos pasados y predecir futuras necesidades y potencializar la eficiencia reproductiva.

### ***ACTITUD Y COMPORTAMIENTO.***

Aunque patrones de comportamiento de las hembras puedan no ser adversos al desarrollo reproductivo, los procedimientos de manejo pueden ser alterados. Actitudes hacia manejadores y otros caballos y comportamientos anormales de tortura durante el estro, puede comprometer el horario de trabajo diario. Anticiparse a los cambios de manejo y de horario puede reducir el estrés y complicaciones posteriores.

Las características de comportamiento del potro pueden ser genéticas, adquiridas, o una combinación de ambas. Impresiones clínicas tienden a soportar la hipótesis de que tales rasgos del potro, buenas o malas, imitando aquello de la madre hasta en grado mayor que al padre.

Cambios extremos en el comportamiento de la hembra, especialmente masculinización y actitud de garrón, son sugestivamente de origen hormonal, neoplásico o terapéutico (26).

## **CICLO ESTRAL DE LOS EQUINOS**

Aunque existe un pequeño porcentaje de yeguas que ciclan todo el año, esta especie se clasifica como poliéstrica estacional. Esto significa que presentan estros cíclicos, pero únicamente durante una determinada época del año, que en nuestro país, es de marzo a octubre. En este tiempo, casi el 100% de la yeguas esta ciclando. Por el contrario en los meses de noviembre a febrero la mayoría de la yeguas están en anestro (21,30).

La actividad sexual de las hembras equinas va seguida de periodos de duración generalmente precisos, separados por otro de absoluto reposo (interestrus) de duración variable.

El tiempo en que transcurre el ciclo sexual con todas sus fases no responde a fechas fijas, ni siquiera en las hembras de la misma raza y edad. Ello es debido a las múltiples causas que influyen sobre este proceso biológico. En la yegua estos hechos conducen a la falta de relación entre el momento de ovulación y el coito.

El ciclo estral es levemente más largo en ponis hembras ( $24 \pm 3$  días) que en yeguas ( $22 \pm 3$  días) La duración del estro es de 8 y 7 días para ponis y yeguas respectivamente; sin embargo tiene un rango de 2 a 11 días. La fase lútea del ciclo es bastante constante (16 días para ponis y 15 días para yeguas) y sucede que la variación de la fase folicular constituye en forma máxima a la variación en la longitud del ciclo estral. La variación de la longitud del ciclo estral en un individuo dado es en primer término un efecto estacional y se manifiesta a través de una alteración en la longitud de la fase folicular. El estro es más largo al principio de la primavera y a finales del otoño (transición) y es más corto y bastante regular durante la primavera tardía y el verano (pico de la estación reproductiva) (Cuadro 1) (30).

**Cuadro 1. Duración de las fases del ciclo estral según los distintos autores.**

Autor	Proestro en Días	Estro en Días	Metaestro en Días	Diestro en Días
Nicholson	3	4	8	7
Sounembrodt	5	3	7	7
Saborn	3	2	10	8
Lesbouyries	3	4	8	9
Seaborin y Champy	3	3	10	8
Parisi	3	4	9	8
Franck- Albrecht	3	3	9	7
Williams	2	5	8	7
Cornevin	2	3	8	7

\* Pérez y Pérez 1985.

### **PROESTRO.**

Es el periodo del ciclo estral, que precede al de estro. Se caracteriza porque en él se inicia actividad folicular, teniendo lugar modificaciones importantes en todos los órganos del aparato reproductor, preparadoras a la fase siguiente (estro).

Las modificaciones que la fase de proestro determina en los principales órganos del aparato genital son:

- A) **Ovario.**- Al principio es difícil apreciar modificaciones en este órgano. Sin embargo, al final del proestro, los folículos, debido a su tamaño aparecen a la

palpación consistentes o fluctuantes; variando ligeramente el tamaño y consistencia del ovario. Así mismo, es difícil apreciar vestigios del cuerpo lúteo anterior. A este respecto, se indica, que solo 24 horas antes del celo es posible la apreciación del folículo en la vía de maduración. En la mayor parte de los casos de palpación de tales folículos es posible.

- B) **Oviducto.-** Durante esta fase se acentúa la actividad circulatoria, los vasos sanguíneos se hipertrofian y las células de revestimiento interno se muestran prominentes, con manifiestas actividades de crecimiento; su coloración es rojiza (estado de congestión activa) sobre todo en la segunda mitad de proestro.
- C) **Utero.-** Se aprecia ligero aumento de tono y hasta de tamaño; sus fibras son objeto de una hipertrofia que afectan desde los cuerpos al cuello uterino. Las glándulas aparecen alargadas y en ellas se ven abundantes flexuosidades, que se acentúan al acercarse el estro.

La mucosa, que al principio está cubierta de un barniz viscoso de color grisáceo, va aumentando y fluidificándose. El corion sufre la infiltración leucocitaria, que a través de la mucosa llega hasta la cavidad uterina para constituir un elemento esencial del exudado uterino, en el que, a su vez, se hallan abundantes células epiteliales procedentes de la mucosa que se va acrecentando a medida que se va acercando al estro, fenómeno inverso a lo que ocurre con los leucocitos.

En las zonas próximas a la base de los cuernos uterinos se observa una congestión de carácter progresivo.

- D) **Cuello uterino.-** Al principio del proestro se encuentra taponado con exudado viscoso, que en el curso de esta fase se fluidifica. Las células caliciformes empiezan su actividad y al final de este periodo se puede apreciar relajación de esfínter cervical, permitiendo la penetración de un dedo. Igualmente, es factible apreciar variaciones en la consistencia del grado de relajación en sus paredes.
- E) **Vagina.-** Solo al final de proestro se pueden apreciar cambios notables en su exudado, color, aspecto edematoso, etc. Por exploración directa se pone de manifiesto el carácter adhesivo y viscoso de la secreción, que en lo sucesivo se hace más fluida. A la altura del meatus uterino se observan principios de arborización vascular, suavemente destacada con las zonas vecinas (2,30).

## **ESTRO.**

Conocido también con el nombre de celo, es el momento culminante de la actividad sexual. Va precedido de una fase preparadora (proestro), y seguida de otras de regresión o continuadoras (gestación) (2,30).

En él sufren las yeguas los mayores influjos del sexo. Sintiendo la necesidad imperiosa de ser cubiertas, y existiendo un máximo de posibilidades de quedar fecundadas.

**Síntomas.**- Los síntomas característicos que integran el estro, en la yegua son muy diversos y generalmente, de fácil apreciación. Para su estudio se puede dividir en generales y locales, según que afecten a todo el organismo o queden principalmente reflejados en los órganos del aparato reproductor

1) **Síntomas Generales.**- En todas las hembras se aprecia un estado de hipersensibilidad nerviosa, que se traduce por el estado de inquietud en el que se encuentran (indocilidad y terquedad, etc.), que vienen a tratar con el comportamiento habitual de estas hembras.

La tendencia a la huida es frecuente en las yeguas, moviendo la cabeza y escarbando para conseguirlo. En libertad corre desordenadamente con la cola levantada y en presencia del macho lo acepta con facilidad. Cuando en sus proximidades encuentra a otra yegua, gruñe, manotea y se muestra violenta y agresiva.

El apetito, solo en raros casos se modifica y en el aspecto general se encuentra cambiado (pelo fino, brillante, mirada viva y ojos móviles con inquietud, cuello levantado, etc.).

Con frecuencia se observan micciones prolongadas, acompañadas de fuertes movimientos de los labios vulvares y en el clítoris (espejeo), la cola separada del periné.

En las potras los síntomas de celo son más discretos y se desencadenan con progresiva intensidad. En la yegua que no se encuentra en periodo de lactación, todos los síntomas generales se hallan más acentuados. En la cría o en yeguas lactíferas, algunas veces el celo transcurre discretamente y tal vez debido a que su síntoma no se aprecia fácilmente, por prestarse a confusión con las manifestaciones afectivas sobre su cría.

La temperatura en el 97% de los casos, sufre un aumento de 0.7 a 1.2° C. Los valores más elevados corresponden a la primera mitad del celo. Parece ser que existe una relación entre el tamaño del folículo (palpación ovárica) y la temperatura basal alcanzada.

2) **Síntomas Locales.**- Son todas aquellas modificaciones que tienen lugar en los órganos del aparato reproductor durante el estro. Los síntomas más significativos los constituyen:

- A) ***Relajación y dilatación del cérvix.***
- B) ***Congestión con exudado en todo el aparato genital.***
- C) ***Cierta tonicidad en el útero*** (Principalmente en el nacimiento de los cuernos).
- D) ***Diagnóstico de estro.*** Las pruebas bioquímicas del exudado vaginal (determinación de pH, viscosidad, adherencia), así como modificaciones histológicas, no tienen utilización práctica. Por el contrario, resulta de aplicación eficaz las pruebas del semental (recelado), que se basa, más que en determinar la mayor o menor excitación que aquél puede sentir ante la hembra (fenómeno poco significativo), en la tolerancia de la yegua ante éste. Ciertamente que en algunos casos (potras no habituadas al salto), el resultado puede ser dudoso, necesiándose complementarlo con la exploración detenida del aparato genital.

Algunos sementales como lo mismo que otras yeguas, tienen cierta predilección por un determinado individuo (color de la capa, alzada, etc.) que también puede dar lugar a resultados dudosos. Cuando se trata de cruces interespecíficos (híbridos) resultan frecuentemente tener que reunir la prueba a colocar delante del recelado una hembra de la misma especie. Es aconsejable, en tales casos, el empleo de recelado de la misma especie a la hembra problema.

- E) ***Duración del celo.***- Varía con circunstancias muy diversas (edad, precocidad, raza, alimentación, ambiente, temperatura, etc.), pero en general, varios autores concuerdan con un rango de 3 a 15 días, con una media de 6 días.

Se ha demostrado que las yeguas que durante el invierno han presentado largos períodos de anestro, tienden a manifestar prolongados períodos de celo (12 a 20 días). En algunos casos cuando se trata de yeguas mal alimentadas en los meses fríos (enero y febrero), el celo puede prolongarse de 40 a 60 días. En general a períodos de celo largos corresponden prolongados diestros. También se ha observado, que en muchos casos las yeguas que presentaban ciclos irregulares (quistes ováricos, etc.) a la temporada siguiente retornaban a la normalidad sexual.

- F) ***Primer celo post-parto.***- En la yegua la regresión de todas las modificaciones que la gestación determina se realiza con gran rapidez. Ello es debido, en primer lugar, a que el parto no significa para la especie equina, en condiciones normales, más que una separación sin desgarre entre la madre y el hijo, pero principalmente la rapidez del puerperio se debe a procesos endocrinos (ausencia del cuerpo lúteo). En estas especies, la citada glándula desaparece funcionalmente hacia la mitad de la gestación, confiando su acción protectora a la placenta, que una vez eliminada (secundinación), deja el campo de acción libre a los impulsos gonadotrópicos de la

hipófisis, sin que haya de esperar a que el cuerpo lúteo de la gestación desaparezca (caso de los rumiantes) en el post-parto.

Después del parto, el celo se presenta entre los 5 y 12 días (9 días en promedio). El porcentaje de fecundidad varía del 54%, de cuando la monta o inseminación artificial (IA) se hace a los 11 días, al 27%, cuando tiene lugar del día 12 al 14, y en los realizados entre el día 8 al 10 es de un 18.3% (30).

En un estudio que se realizó sobre 14 casos de esterilidad alternantes en yeguas se ha observado (30):

- La esterilidad propia del estado de la lactación se da preferentemente en yeguas comprendida entre los 4 y 8 años.
- En el 92% de los casos (13 casos de los observados) se trataban de yeguas que criaban productos del sexo masculino.
- En el 64% de los casos (9 casos) El celo post-parto apareció retardado entre los 15 y los 25 días, y en los restantes casos no tuvo lugar.

La causa de este fenómeno radica en el conocido antagonismo entre las hormonas gonadotropas y la prolactina. También puede admitirse que la causa sea debida, no precisamente a la neutralización de estas secreciones, sino a que el nivel que aquéllas alcanzan está en relación inversa, y, en este caso, la producción de prolactina sería elevada (periodo de secreción láctea), existiendo insuficiencia gonadotrópica hipofisiaria.

En este sentido se explican las influencias favorables:

- Del sexo macho del producto, ya que el macho requiere mayor consumo lácteo (con mayor número de lactaciones, que a su vez son de mayor duración).
- Celos *post-parto*.- En la yegua este fenómeno se presenta en general antes que en la vaca, posiblemente debido a que en aquéllas no son tan frecuentes los abortos de tipo infeccioso, concidiendo además la circunstancia de que en la primera mitad de la gestación, los abortos en las hembras equinas tienen lugar sin la menor alteración de sus funciones generales, cuerpo lúteo, etc.

Cuando el aborto tiene lugar después de la segunda mitad de la gestación, si la causa fue esporádica, el celo aparece con oscilaciones de tiempo semejantes al parto normal. En abortos de tipo infeccioso la presencia de estro está relacionada con la intensidad y extensión del proceso infeccioso.

Las modificaciones en los principales órganos del aparato genital de la hembra equina durante la fase de estro son:

A) **Ovario.**- Es el órgano que sufre modificaciones más profundas e intensas durante este período.

En esta fase del ciclo, los ovarios aumentan de tamaño, modificándose ligeramente su posición (un poco más descendidos y hacia atrás). La consistencia, prescindiendo de la influencia que en este sentido pueda tener la existencia de líquidos foliculares, es bastante menor. Por la palpación dan sensación de suavidad y laxitud. Estas modificaciones son consecuencia del especial estado de congestión e infiltración de los mismos.

La palpación profunda de los referidos órganos no produce en esta fase la menor sensación de dolor, en contraposición de la excitación que se observa cuando la operación se realiza fuera de este estado.

La existencia de folículos puede apreciarse en el proestro, si bien, puede resultar difícil diagnosticarlos 12 horas antes de que inicie el estro. Es frecuente encontrar folículos del tamaño de un huevo de paloma; se han descubierto folículos de 40 a 80 g. de peso. La consistencia folicular es notable en la primera parte del estro, de 2 a 4 horas antes de la ovulación. En la mayoría de los casos, aquélla desciende rápidamente para hacerse fofa, siguiéndose el fenómeno de la ovulación. La eclosión del folículo de Graff determina la expulsión de líquido folicular, óvulo, y de una parte del *cúmulos proliger*, todo lo cual, recogido por las trompas, caminan hacia el encuentro del espermatozoide. Al fenómeno de puesta ovular se designa con el nombre de ovulación (30).

**Momento en que tiene lugar la ovulación.**- La determinación de este momento dentro de la fase de estro es de gran importancia en las hembras equinas; tan importante, que una solución radical acabaría con el 40 – 50% de los casos calificados con el nombre de esterilidad fisiológica.

El éxito de los acoplamientos en los animales de vida libre, se atribuye, no sólo a la repetición de la cópula, sino a que ésta se llevaría a cabo en el momento de máxima atracción sexual, generalmente próxima al proceso de ovulación. En el estro de la yegua se considera un estado llamado *pregerminativo* (de unos 3 días de duración), durante el cual los espermatozoides viven en el aparato genital hasta 48 horas después del coito. Por otra parte, se admite que la monta o inseminación es solamente fecundo cuando los espermatozoides (aptos para fecundar) se hallan de 12 a 8 horas antes de la ovulación a 12 horas después en los oviductos.

En el centro de cría caballar rusa de Kresmovosk se ha observado ovulación al principio del estro en el 29.4% de los casos a las 24-48 horas; aquel fenómeno se da en un 49.1%. Se considera que es factible seguir perfectamente el curso de la ovulación por exploración y apreciar la fosa de ovulación cuando aquélla se ha realizado. Se ha demostrado en la yegua que cuando los estros duran 5 días, las ovulaciones se presentan en el 58% al tercer día, en el 33% al cuarto día, y sólo en el 15% en el segundo (30).

- B) **Trompas uterinas.**- En la fase de estro se encuentran congestionadas, con su espesor aumentado y cierta consistencia, por lo que la palpación esta facilitada. Las fibras musculares se hipertrofian y el epitelio presenta activa multiplicación celular. Durante este período el epitelio tubárico elabora material nutritivo para el óvulo antes de ser fecundado.
- C) **Utero.**- Sus paredes se hallan hipertrofiadas, las fibras de mayor longitud mostrando actividad contráctil, el volumen está algo aumentado, así como el tono de sus paredes. Las contracciones uterinas se suceden con intervalos de 1-2 minutos y con una duración de 2-3 segundos.

Las mucosa está congestionada, sobre todo en la parte próxima al nacimiento de los cuernos uterinos. La congestión sanguínea comienza 2 ó 3 días antes del estro, siendo la primera manifestación el enrojecimiento vaginal. La actividad de crecimiento de las células uterinas está aumentada, lo mismo que el número de células redondeadas. En la cavidad uterina abundan los exudados, en los que se observan células redondeadas. Este líquido llega a salir por el conducto cervical, aumentando las secreciones del mismo y de la vagina.

Las glándulas uterinas en el curso de esta fase folicular aumentan en longitud y de anchura, presentando flexuosidades y conteniendo abundante secreción.

- D) **Cuello uterino.**- Por palpación rectal, da la impresión de flacidez. Sus paredes son más blandas y están infiltradas; su posición da la impresión de estar modificada, aunque lo que en realidad ocurre es que alcanzan mayor longitud. En él se encuentran secreciones, la mucosa aparece edematosa y de color rosado. Sus pliegues en parte se desdoblán; las fibras infiltradas se relajan, determinando la abertura del esfínter cervical, que permite el paso de 2 ó 3 dedos en el momento culminante del estro.

Las células calciformes elaboran una secreción viscosa, clara más o menos transparente, según el momento de aquélla fase; el tapón gelatinoso de este conducto desaparece por fluidificación, eliminándose resbalando por las paredes de la vagina, a la que da una coloración grisácea.

- E) **Vagina.**- De aspecto tumefacto y congestionado; en élla se establecen modificaciones cíclicas de la forma siguiente:

1. En la porción cervical, que en condiciones de reposo presenta pliegues, aparece distendida en forma de balón, de aspecto edematoso, húmedo y de color rosado. Está cubierta por un epitelio cilíndrico, y los cambios que en él se verifican son muy parecidos a los de las proximidades de la vulva.

2. En el segmento medio (de gran longitud) se encuentra engrosado en sus paredes y muy vascularizado; en las hembras jóvenes se aprecia hemorragia. Al final del estro hacen presencia gran cantidad de leucocitos extravasados.
3. En la porción caudal de la vagina, y precisamente en la parte más próxima al vestíbulo, tienen lugar cambios histológicos del epitelio, que dan cierto valor en el diagnóstico del estro. Sin embargo, en esta especie, el referido fenómeno no es constante.

En términos generales, se puede decir que mientras en los segmentos anterior y medio de la vagina se llevan a cabo variaciones secretoras, en el vestíbulo se dan lugar cambios histológicos del epitelio.

- D) **Vulva.**- Durante el estro presenta congestión, color rosáceo, con los labios edematosos y entre abiertos, dejando ver el clítoris turgente y congestionado; por la comisura inferior fluyen exudados viscosos y filantes, en algunos casos con estrias hemorrágicas. Las glándulas sebáceas de la piel segregan abundantes productos, que proporcionan el aspecto suave y lustroso de la misma.

### ***METAESTRO.***

Es la fase que sigue en el ciclo estral a la del estro; su duración es aproximadamente de 7 a 10 días. El período se caracteriza porque en él tiene lugar la cesación de fase folicular, con la manifestación de una serie de fenómenos que son típicos en la fase lútea (formación del cuerpo lúteo). Fundamentalmente tiene la finalidad de preparar la mucosa uterina para la anidación del huevo o, en caso contrario la regresión de la modificación de la fase folicular (2,30).

Las variaciones que experimentan los principales órganos del aparato reproductor son los siguientes:

- A) **Ovario.**- El coágulo sanguíneo que llena la cavidad folicular a las pocas horas de la ovulación, sufre la organización, o la transformación, hasta convertirse en un órgano de naturaleza glandular (cuerpo lúteo). El coágulo nunca llega a formar parte del cuerpo lúteo, sino que serviría únicamente de medio para la formación de aquél, desapareciendo luego por reabsorción de sus elementos.
- B) **Oviductos.**- Desaparece el estado congestivo y el epitelio cesa en su actividad del crecimiento y el exudado se espesa, siendo más viscoso.
- C) **Utero.**- Las secreciones uterinas disminuyen para tornarse viscosas, de color gris amarillento (leche uterina de Williams). Las mucosas presentan al principio un aspecto típico uniforme (imagen de encaje), con numerosos estromas adecuados a la

anidación; la congestión de las paredes cesa progresivamente en los ligamentos anchos, cesando también las contracciones uterinas e iniciándose el retorno de la hipertrofia fibrilar.

Las glándulas se encuentran repletas de exudados y de aspecto flexuosos. El curso de estas transformaciones está en relación con la existencia o no de fecundación. Si la fecundación tuvo lugar, el proceso continúa y se completa para el mejor sostenimiento del óvulo fecundado; pero si no tuvo lugar, empieza la regresión de todas las modificaciones de la fase folicular. La fase regresiva (metaestro) no es en las hembras domésticas semejante en modo alguno a la de la mujer; es abundante en leucocitos y escasa cantidad de células epiteliales. Las glándulas han reducido su tamaño, apareciendo plegadas y con bordes que tienden a la rectitud.

El cuello uterino se encuentra casi cerrado y su exudado es escaso y viscoso, acumulado entre pliegues. La vagina presenta su mucosa replegada y pálida con pocos exudados, y la vulva con labios cerrados y mucosa pálida.

### ***DIESTRO.***

Sigue de la fase de metaestro y significa una fase fundamental en el período luteínico del ciclo. Su duración es de 7 a 8 días, existiendo variaciones en relación con la edad y especialmente en la estación del año en el que se desenvuelven los ciclos (2,30).

El diestro es, en general, más prolongado en el invierno y finales de otoño, hasta el punto de que algunos clínicos denominan diestro prolongado a los largos periodos que separa la actividad sexual de las hembras políestricas estacionales, tales como ocurre en las yeguas.

Las modificaciones ocurridas durante este período pueden interpretarse como sucesivas a las ya señaladas en cada uno de los órganos del aparato genital en el período de metaestro.

El cuerpo lúteo comienza a degenerar para desaparecer como glándula hacia la mitad de este período, permitiendo de este modo el posible crecimiento, que sucesivamente ocurrirá en los folículos de Graff dentro del período de proestro.

- A) ***Trompas uterinas.***- Se encuentran flexuosas y en su epitelio se aprecian numerosas zonas ocupadas por células vacuolares. El epitelio vibrátil se presenta flácido, y a medida que transcurre el proceso la imagen de secreción va desapareciendo para llegar un momento en el que, tras una fase de reposo absoluto, la estructura histológica se va definiendo hacia el aspecto proliferativo funcional. Fenómeno que ocurre cuando los ciclos se suceden inmediatamente. Por el contrario en el último metaestro que a de continuar con el periodo de interestro o de reposo sexual, la imagen histológica de los oviductos revelan un completo reposo en todos sus elementos estructurales.

- B) *Útero.*- Ofrece histológicamente, en los primeros días del diestro, la impresión histofuncionales de la fase de secreción, de tal modo que sus glándulas se encuentran muy desarrolladas y vierten a la cavidad uterina el producto idóneo para la nutrición histiotrofa del complejo ovular. Sucesivamente, la vascularización uterina disminuye para definir, en consecuencia, una imagen de reposo total (anemia uterina, astenia, atrofia, metaplasia de la fibras musculares, etc.).

Por el contrario, cuando el diestro se ha de continuar con un nuevo proestro (actividad sexual de ciclo continuo), el diestro va seguido, tras un breve periodo (2-3 días) de reposo que pudiéramos llamar absoluto, de la fase proliferativa que inicialmente caracteriza al nuevo proestro.

- C) *Cuerpo uterino.*- Permanece ocluido durante el diestro, no solo por las contracciones de las fibras circulares, sino por el establecimiento de ciertas cantidades de moco, que de forma inespecífica contribuyen al aspecto de oclusión. Las fibras que integran las estructuras del conducto cervical aumentan de tensión y en su protoplasma se verifican cambios bioquímicos relacionados con disminución de contenido en agua, principalmente; tales modificaciones están íntimamente relacionadas con el efecto de la progesterona, que define la fase luteínica.

- D) *Vagina.*- Apenas experimenta cambios notables durante la fase de diestro. Si bien hay que hacer notar que la acidosis vaginal se acentúa en los últimos días del diestro, circunstancia biológica que se mantiene hasta el comienzo del proestro y a través de largos periodos (a veces indefinidos), como sucede cuando se trata del último diestro y hasta el comienzo de una nueva fase de actividad sexual.

## INSEMINACION ARTIFICIAL

La Inseminación Artificial (IA) es la introducción de espermatozoides en los genitales femeninos por medios artificiales en lugar de naturales (9).

### **HISTORIA.**

Según la leyenda, tuvo su origen en 1322, cuando un caudillo árabe utilizó métodos artificiales para fecundar una yegua de un gran valor con el semen obtenido a hurtadillas de un semental que pertenecía a una tribu enemiga. Sin embargo, no existen pruebas fehacientes de que los árabes practicaran la IA en grado apreciable.

La primera investigación científica de la IA en animales domésticos fué realizada con perros por el fisiólogo italiano Lázaro Spallanzani, en 1780. Un siglo más tarde, veterinarios estadounidenses emplearon medios artificiales para fecundar a yeguas que habían fracasado persistentemente en concebir con los servicios naturales. Después del servicio natural observaron que a causa de ciertas obstrucciones se encontraba frecuentemente semen en la vagina y no en el útero. Aspirando el semen del fondo de la vagina con una jeringa e inyectándolo en el útero, le fue posible fecundar a las yeguas que presentaban esos defectos anatómicos.

El fisiólogo ruso Ivanoff comenzó un estudio de la IA en los animales domésticos, en 1899; y en 1922, el gobierno ruso lo incitó a aplicar su comprobación en un esfuerzo por restablecer la industria ganadera después del colapso que sufrió durante la primera guerra mundial. Aunque sus métodos eran primitivo, sus trabajos en equinos deben considerarse como el fundamento en el cual se basaron investigadores más reciente.

Después de la 1ª guerra mundial, una estación central para la investigación experimental sobre producción animal, fue establecida con Ivanoff como director. Varios investigadores continuaron su trabajo y desarrollaron una vagina artificial en el laboratorio de Moscu en 1930. Por 1938, aproximadamente 120,000 hembras habían sido inseminadas artificialmente en Rusia. En otros países, las técnicas de I.A. en caballos también se expandió su uso. Un total de 323 hembras fueron inseminadas artificialmente en Japón entre 1913 y 1917. Aproximadamente 600,000 hembras fueron inseminadas artificialmente en China en 1959, con una tasa de gestación del 61%. En 1960 semen de los 2 garañones más populares de China fue utilizado para inseminar artificialmente 4415 y 3093 hembras con resultados de tasas de gestación de 76.9 y 68.1%, respectivamente (9,26).

En los Estados Unidos, la industria de Standardbred expandió el uso de la I.A. desde los inicios de 1950. Más de 25,000 hembras han sido inseminadas artificialmente cada año (9,26).

El uso de la IA en gran escala en bovinos y ovinos, dos décadas después que se introdujo por primera vez en los equinos no tuvo por causa la disminución de la importancia del caballo y la mayor demanda de bovinos y ovinos, sino la comprobación de que en estos animales el progreso es más rápido y se obtiene más fácilmente, porque el mecanismo fisiológico de la reproducción es más favorable en ellos que en los caballos.

En la actualidad, existe un interés renovado por la IA en los equinos, a consecuencia del éxito obtenido por el método de congelación de semen. El semen del garañón se obtiene, se procesa y se congela en forma similar a la del semen de toro (9,26).

Las yeguas se inseminan mediante: 1) el uso de una *jeringa* y un *catéter* con un espéculo; 2) la colocación manual en el cérvix de una cápsula de gelatina que contienen de 5 a 25 ml de semen diluido; 3) la introducción de un catéter de goma en el cérvix y la inyección de semen por medio de una jeringa acoplada al otro extremo del tubo (26,30).

## ***VENTAJAS DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL (I.A.).***

Algunas de la ventajas de la IA son:

1. ***Favorecer el uso de reproductores sobresalientes.*** Mediante la I.A., muchos criadores pueden valerse del empleo de un garañón sobresaliente, mediante que los servicios de un animal de esas características estaban limitadas anteriormente a un solo propietario o, a lo sumo, a un pequeño grupo de propietarios.
2. ***Disminuye los peligros y los inconvenientes de mantener un garañón.*** El mantenimiento de un semental, sobre todo cuando se trata de un equino, encierra riesgos e inconvenientes.
3. ***Permite superar ciertos impedimentos físicos para el apareamiento.*** La I.A. es valiosa para aparear animales de tamaños muy diferentes, así como la utilización de garañones con trastornos articulares o de otra naturaleza, que no pueden realizar el salto.
4. ***Disminuyen los costos del garañón.*** En las manadas reducidas la I.A. suele ser menos costosa que la propiedad de un garañón, teniendo en cuenta los gastos correspondientes a instalaciones necesarias, alimentación y mano de obra.
5. ***Reduce la probabilidad de demoras costosas por el uso de sementales estériles.*** Con la eficiencia de la reproducción de los sementales que se utilizan artificialmente es verificada de manera constante, se reduce la probabilidad de aparear a las yeguas durante un largo periodo con un garañón de escasa fertilidad e incluso estéril.
6. ***Se puede probar una mayor cantidad de garañones.*** Muchos garañones nunca llegan a ser probados a causa del tamaño reducido de las manadas en que se le usa para el servicio natural. Otros incluso son eliminados antes que se conozca su verdadero valor reproductivo. Mediante la I.A. es posible determinar el valor genético de un garañón a una edad más temprana y con mayor certeza que en el servicio natural.
7. ***Crea grandes familias de animales.*** El uso de I.A. hace posible el desarrollo de grandes cantidades de animales dentro de una familia superior, proporcionando así uniformidad y brindando una base más sólida para el programa de reproducción constructivo. Algunos criadores temen que en ellos pueda redundar en un alto grado de consanguinidad. Sin embargo, no es ésta una consecuencia inevitable, pues el criador se encuentra en condiciones de seleccionar la líneas de sangre que prefiera; en realidad, podría hacerse enviar semen desde grandes distancias a fin de evitar la consanguinidad en su zona.

8. ***Aumenta la satisfacción de ser propietario.*** El propietario de una progenie de garañones sobresalientes siente el orgullo de esa propiedad, con la concomitante mejora en la alimentación y en el cuidado.
9. ***Puede disminuir y controlar ciertas enfermedades.*** La I.A. puede ser valiosa para prevenir y controlar la difusión de ciertas enfermedades, especialmente las relacionadas con los órganos de la reproducción como la *sífilis equina*. Sin embargo, cuando se practica incorrectamente, puede convertirse también en un medio de propagar enfermedades infecciosas. Por consiguiente, es fundamental que todos los reproductores sean examinados en busca de los síntomas de enfermedades transmisibles; que se evite la contaminación bacteriana durante la recolección y almacenamiento del semen, y que se utilice equipo limpio y estéril para la I.A.
10. ***Eleva las utilidades.*** Entre la progenie y el garañón sobresaliente que se usan artificialmente suele haber reproductores de mayor calidad y eficiencia, y por lo tanto, más rendidores. Además, la I.A. proporciona la oportunidad de utilizar más ampliamente a esos garañones.

#### ***LIMITACIÓN DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL (I.A.).***

Como todas las técnicas, la I.A. no deja de tener limitaciones. El conocimiento de éstas permitirá acentuar y extender su utilidad. Entre las limitaciones de la I.A. se encuentran las siguientes:

1. ***Debe conformarse a los principios fisiológicos.*** Sería de esperar que la práctica de la I.A. se hiciera conforme a ciertos principios fisiológicos. Desgraciadamente, se han divulgado muchos conceptos erróneos con respecto a la utilidad de la I.A.- por ejemplo, la creencia de que si las yeguas son inseminadas artificialmente concebirán en cualquier momento del periodo de estro. Otros han aceptado las afirmaciones exageradas de que la calidad del semen puede mejorarse con este método, solo para mentar desengaños.
2. ***Se necesitan técnicos especializados.*** A fin de tener éxito, la I.A. debe de ser efectuada por técnicos especializados, con capacitación y experiencia.
3. ***Se necesita un capital grande para iniciar y hacer funcionar un programa cooperativo de reproducción.*** Es necesario disponer de un capital considerable para un programa cooperativo de I.A., y aun más para ampliarlo y desarrollarlo correctamente.
4. ***No siempre es posible obtener los servicios de un garañón determinado.*** En los programas cooperativos de inseminación no siempre un miembro puede obtener el

servicio del garañón que elige. Además se recolecta el semen de los garañones con un programa definido.

5. ***Puede acentuar el daño que ocasiona un garañón de pocos méritos.*** Debe comprenderse que cuando un garañón engendra una progenie inadecuada, los prejuicios se acentúan a causa del mayor número de descendientes posibles. Pero esto ocurre muy rara vez, por el motivo de que en una caballeriza no se emplean en forma extensiva reproductores sin probar. Por ejemplo en la I.A. de vacunos para leche, el 60% de los toros son probados y responden con el 80% del apareamientos que se realizan.
6. ***Puede restringir el mercado de caballos.*** El hecho de que la demanda del garañón mediocre disminuye si se adopta en forma amplia la I.A. debería considerarse como un beneficio en lugar de una limitación.
7. ***Puede aumentar la difusión de enfermedades.*** Como se indicó previamente el empleo cuidadoso e inteligente de la I.A. disminuirá la propagación de enfermedades. Por otra parte, sin embargo, el descuido o la ignorancia puede dar como resultado que aquéllas se difundan rápidamente. No obstante, las organizaciones de I.A. siguen un rígido “código de sanidad de garañones” adoptado por el National Association of Animal Breeders y aprobado por la American Veterinary Medical Association.
8. ***Puede admitir ciertos abusos.*** La mayor oposición a uso más amplio de la I.A. es suscitada por las posibles inexactitudes en la genealogía, sea por accidente, por descuido o por fraude (sobre todo en los “programas de potros pedidos por correo”). Desde luego que si el semen es transportado de una granja a otra, la honestidad del técnico debe hallarse por encima de cualquier sospecha. Los trabajadores capacitados pueden descubrir la diferencia en los espermatozoides de un toro, un carnero, un verraco u caballo o un gallo; pero incluso al científico más competente le sería imposible distinguir entre el semen de un Pura Sangre de Carreras y un Morgan, sin mencionar la diferencia entre el de dos garañones de la misma raza. Sin embargo, ese engaño es más el producto de una presunción que de la realidad. En un estudio de tipo sanguíneo en el ganado vacuno, Rendel encontró errores en el 4.2% de los registros familiares de 615 animales engendrados por servicio natural, en comparación con el 4% de errores de los registros familiares de 199 animales engendrados por I.A.

Con la ejecución de las técnicas requeridas en la I.A. por parte de personal especializado, existe generalmente más control en las operaciones y quizá menor probabilidad de deshonestidad que cuando interviene el propietario solamente, como ocurre por lo común con el servicio natural.

Es necesario resolver algunos problemas. Hasta hace muy poco, no era posible almacenar el semen de caballo durante el tiempo suficiente- solo es viable por 1 o 2 días en estado líquido -,

pero a partir de 1964 ha sido congelado con éxito. Esta técnica puede escribir un nuevo capítulo en la cría de caballos, especialmente para el servicio de yeguas mestizas.

Sin embargo, antes de que la I.A. pueda emplearse en gran escala, se debe encontrar solución a ciertos problemas adicionales, como los siguientes:

1. **Posibilidad de gestar más yeguas por garañones.** En la actualidad, muy pocas yeguas- entre 8 y 15 –por garañón puede ser servida en una temporada, mientras que es posible gestar a 600 vacas con el semen de un toro.
2. **Posibilidad de determinar cuando las yeguas están preparadas para el servicio.** En ocasiones, es difícil determinar exactamente cuando se debe de servir a una yegua, o si ésta no es cubierta en el momento adecuado (dentro de las 20 a 24 horas previas a la ovulación), el índice de fecundación será muy bajo.
3. **Posibilidades de poner en celo a las yeguas a voluntad.** Las yeguas pudieran ser puestas a celo a voluntad, la fecundación artificial se simplificaría y sería posible hacer que los potros nacieran cuando se deseen. Los criadores podrían prestarse incluso la mano de obra en las épocas de parición. La natalidad planificada en los caballos parece ser inminente con el uso de hormonas; quizá pronto se pueda fecundar a una yegua en el momento deseado, en lugar de esperar que ocurra naturalmente el ciclo de estro.

Sin duda, a su debido tiempo se superarán estas barreras, y la I.A. alcanzará la difusión que tiene actualmente en la industria lechera de los Estados Unidos (9,26).

Aunque la I.A. fué practicada primeramente con los caballos, muchas asociaciones de registro norteamericanas la desaprueban o prohíben. Además, existe poca unanimidad entre ellas en cuanto a la forma en que deben aplicar sus reglamentaciones a esta práctica. El cuadro 2 proporciona un resumen por raza de la situación relativa al registro de garañones producidos mediante la I.A.

**Cuadro 2 . Normas de las asociaciones de registro de equinos, relacionadas con la inscripción de potrillos producidos artificialmente.**

Clase de equino	Raza	Asociación de Registro	Normas o recomendaciones de cada asociación de registro relacionadas con la I.A.
Caballos livianos:	American Albino Horse	American Albino Horse Club, Inc., Naper, Nebraska.	Acepta el registro del animal, si es aprobado en otros aspectos. Se exige certificado del recolector del semen y del inseminador de la yegua, quien debe ser un veterinario o un técnico calificado en I.A.

**Cuadro 2. Continuación.**

	American Gotland Horse	American Gotland Horse Association, Columbia, Misuri.	No hay disposiciones para inseminación artificial.
	American Saddle Horse	American Saddle Horse Breeder's Association, Louisville, Kentucky.	Los potrillos producidos artificialmente tienen derecho al registro a condición de que la inseminación se lleve a cabo en el local en el que se encuentra el garañón y en presencia del propietario o la parte autorizada para firmar los certificados de reproducción de aquél.
	Appaloosa	Appaloosa Horse Club. Inc., Moscu, Idaho.	Cuando se utiliza la inseminación artificial debe acompañarse de inseminación natural a fin de poder registrar al potrillo resultante.
	Arabe	Arabian Horse Club of American, Chicago, Illinois.	Sin derecho al registro.
	Medio- Arabe Anglo- Arabe	International Arabian Horse Ass., Burbank, California.	Sin derecho al registro.
	Cliveland Bay	Cliveland Bay Ass. Of America, Middleburg, Virginia.	Los potrillos engendrados artificialmente son aceptados a condición de que se presenten pruebas adecuadas.
	Hackney	American Hackney Horse Society, Fair Lawn, Nueva Jersey.	Sin derecho al registro.
	Missouri Fox Trotting Horse	Missouri Fox Trotting Horse Breed Ass., Ava, Missouri.	Sin normas actualmente, pero la asociación es favorable a la inseminación artificial.
	Morgan	Morgan Horse Club Inc., Hartford, Connecticut.	Sin derecho al registro.
	Palomino	Palomino Horse Breeder's of America, Box 249 Mineral Wells, Texas.	Aceptado a condición de que el criador presente el certificado junto con la solicitud de registro.
	Pinto	The Pinto Horse Ass. Of America, Inc., San Diego, California.	Se aceptan los potrillos engendrados artificialmente a condición de que se proporcionen pruebas adecuadas y que el caballo sea aprobado por el Comité Ejecutivo de la Asociación.
	Pura Sangre de Carreras	The Jockey Club, Nueva York.	Sin derecho al registro, a menos que sea concebido por servicio natural, aunque es permitido reforzar el servicio natural con la inseminación artificial, utilizando el semen del garañón que realiza el servicio natural en la yegua recién cubierta.
	Quarter Horse	American Quarter Horse Ass., Amarillo, Texas.	Limitado el uso al lugar o establecimiento de la recolección, e inmediatamente después de ésta.

**Cuadro 2. Continuación.**

	Spanish Mustang	Spanish Mustang Registry Finley, Oklahoma.	Aceptado.
	Standard	U.S. Trotting Ass. (StandardBreed) Columbus, Ohio.	No tiene derecho a ser registrado un potro concebido con el semen transportado fuera del establecimiento donde se produce.
	Tennessee Walking Horse	Tennessee Walking Horse Breeder's & Exhibitor's Ass. of America, Lewisburg, Tennessee.	Sin derecho al registro.
<b>Ponies</b>	Pony of the Americas	Pony of the Americas Club, Inc., mason City, Iowa.	Puede realizarse inseminación artificial en el establecimiento, pero el semen no puede ser despachado por correo.
	Pony Shetland	American Shetland Pony Club, Lafayette, Indiana.	El criador debe de ser dueño de la yegua y del garañón en el momento en que la yegua es inseminada artificialmente y debe de conservar a ambos progenitores hasta que el potrillo haya sido registrado.
	Wels Pony	Wels Pony Society of America, Inc., Edwardsville, Virginia.	No se permite la inseminación artificial.
<b>Caballos de tiro pesados:</b>	American Cream Horse	American Cream Horse Ass., Hubbard, Iowa.	No existen normas sobre el registro de potrillos engendrados artificialmente.
	Belga	Belgian Draft Horse Corp. of America, Unionville, Pensilvania.	Solamente tienen derecho a ser registrados los potrillo, si el garañón y la yegua se hallan en el mismo establecimiento en el momento en el que se recoge el semen y la yegua es fecundada.
	Clydesdale	Clydesdale Breeder's Ass. of United States, Batavia, Iowa.	No existen normas sobre el registro de potrillos engendrados artificialmente.
	Percherón	Percherón Horse Assn. Of America, Fair Oaks, Indiana.	Solamente tienen derecho a ser registrados los potrillo, si el garañón y la yegua se hallan en el mismo establecimiento en el momento en el que se recoge el semen y la yegua es fecundada.
	Shire	American Shire Horse Assn., Lynden, Washington.	Se aceptan los potrillos a condición de que se agregue a la solicitud una prueba satisfactoria.
	Suffolk	American Suffolk Horse Assn. Inc., Lynden, Washington.	Se aceptan los potrillos engendrados artificialmente a condición de que se presenten pruebas adecuadas.

\* Ensminger 1975

En la actualidad, la IA a adquirido una nueva dimensión. El semen de caballo se congela y almacena, con el resultado de que los garañones pueden reproducirse mucho tiempo después de su muerte.

Sin duda desde el punto de vista técnico el uso en gran escala de la I.A. para todas las especies de animales domésticos solo será posible cuando se solucionen algunos problemas que persisten en la actualidad. Indudablemente que hay resistencia, y continuará habiéndola, de parte de ciertas asociaciones de registro de equinos y de algunos criadores, con el resultado de que se seguirá atrasando la investigación en el ámbito de la I.A., pero el progreso no puede ser detenido. La I.A. en los caballos, y especialmente en la yeguas mestizas, se practicará con la misma intensidad que en la industria lechera, no bien se superen las barreras que aun quedan por franquear.

¿A quien no le agrada utilizar un garañón valioso por largo tiempo y hasta mucho después de su muerte?. Imagine que fuese posible aumentar substancialmente las cantidades de descendientes por año de un garañón que pertenece a una sociedad cuyo arancel de servicio es de 5,000 o de 20,000 dólares. Además mediante el uso en gran escala de la I.A., podrían eliminarse mucho reproductores (se mantiene actualmente un semental por cada 7.3 potrillos que se producen) y logran con ello un ahorro considerable de mantenimiento.

A quedado claramente establecido que altas tasas de gestación y potros pueden ser obtenidos con I.A. que con monta natural, siempre que la I.A. se aplique correctamente. La diferencia en tasas de concepción entre I.A. y monta natural de yeguas normales fué de 10.3% en favor de la I.A., en lo correspondiente a la diferencia entre I.A. y monta natural para yeguas con problemas fué de 30.1%. Esto apoya la opinión de que hembras, principalmente hembras con problemas al momento de la monta, por I.A. pueden alcanzar mayores tasas de concepción y potros que por monta natural (9,31).

### ***MANEJO Y PREPARACION DE LA YEGUA PARA INSEMINACION ARTIFICIAL.***

Se lleva a cabo el recelado mediante la presentación del garañón recelador a las yeguas, teniendo de promedio una barrera física para evitar la cópula, e identificar los signos de estro mencionados anteriormente, con el fin de comenzar un programa de monitoreo del desarrollo folicular por medio de la palpación rectal o ultrasonografía, para poder determinar el momento de la ovulación con un rango de error lo más corto posible (de 24 horas antes, hasta 12 horas después de la ovulación) y así poder asegurar el momento en el que el espermatozoide tendrá más posibilidades de fecundar el óvulo y dejar gestante a la yegua en cuestión.

Una vez identificado un folículo preovulatorio, se lleva a la yegua a una manga de manejo o en todo caso se le coloca un tirapie, para evitar que el animal pueda golpear a la persona que vaya a realizar la inseminación. Una vez colocada la yegua en el lugar de manejo se le venda completamente la cola con el fin de no dejar ningún pelo suelto que nos pueda causar la contaminación del equipo o del semen. Se realiza un lavado de la región perianal con jabón neutro y gasas estériles con movimientos que van de la región de la vulva hasta cubrir parte de los cuartos traseros (movimientos de adentro hacia afuera), y se enjuaga con agua corriente para

eliminar los residuos del jabón. Se expone el clítoris abriendo la parte inferior de la vulva con los dedos para retirar el cerumen y residuos de orina que se acumulan en esa parte con la ayuda de agua corriente y gasas estériles. El exceso de agua que queda en la región perineal es retirado con gasas estériles y con movimientos de adentro hacia afuera<sup>(26,30)</sup>.

### ***MANEJO DEL GARAÑÓN PARA INSEMINACION ARTIFICIAL.***

El manejo del garañón para la I.A. se basa primordialmente en la recolección de semen, para su procesado (ya sea fresco o congelado) y subsecuente introducción en el aparato genital de la yegua, buscando obtener el mayor porcentaje de fertilidad.

El método de recolección de semen más usado es por medio de vagina artificial. El primer modelo para equinos fue ideado por Walton, en Cambridge, en 1933. La cual se trataba de una vagina cilíndrica inspirada en la que se utiliza en toros, que más adelante se construyó en cuero, uralita y materiales muy diversos<sup>(30)</sup>.

Los modelos de vagina artificial más usados en la actualidad son el sistema Hannover, que consta de tubo rígido de caucho, agarradera de cuero, válvula, manga interior de látex, cintas elásticas para sujetar la manga interior, mangas plásticas desechables que aseguran la extracción higiénica del semen, y vaso colector de 250 ml con un filtro para separar la fracción de gel; y el sistema Colorado, el cual consta de un tubo rígido de aluminio, válvula, manga interior de látex, cintas sujetadoras de la manga interior, mangas plásticas desechables y vaso colector.

Los dos modelos de vagina artificial funcionan proporcionando un estímulo de temperatura y presión sobre el glande, mediante la introducción de agua caliente en el espacio que queda entre el tubo rígido y la manga interior de látex, para proporcionar una temperatura interior de la vagina de 45° a 50°C. La diferencia del sistema Hannover es que utiliza aire para darle la presión necesaria en lugar de volumen de agua como en el sistema Colorado. Esta diferencia la hace más ligera y maniobrable, pero su reducido diámetro puede dar problemas de que se atore en animales que engorren mucho al momento de la eyaculación (españoles y algunos aztecas por ejemplo).

La vagina una vez armada y puesta a la temperatura y presión requerida, debe de ser lubricada con productos no espermicidas para garantizar la sobrevivencia de los espermatozoides (el producto más usado es el carboximetil celulosa), también debe de ser estéril para no contaminar el eyaculado.

El garañón del que se va a colectar el semen, debe de ser manejado con un castigo para tener mejor control del animal y evitar cualquier accidente. Este castigo puede ser pasando la cadena del ronsal por la ternilla, colocando la cadena del ronsal a manera de freno o poniendo la cadena del ronsal en la encía de la mandíbula superior (quebradientes), jalando firmemente el ronsal a manera de que corra la cadena. Se acerca el garañón a una yegua en celo a una distancia

en la cual el garañón puede sentir la suficiente excitación para erectar el pene, esto para poder lavarlo. El lavado del pene puede llevarse a cabo con jabón neutro y agua corriente, pero si no se realiza una buena eliminación del jabón puede causar la muerte de los espermatozoides al momento de la recolección; por eso se recomienda lavar el pene 2 veces por semana y enjuagar solo con agua corriente tibia cuando se recolecte.

La recolección puede ser realizada utilizando una yegua en celo que permita la monta o con los garañones que se encuentren entrenados con un maniquí. La yegua colectora debe de estar sujeta a un potro de apoyo pectoral, a fin de soportar los impulsos violentos de cópula; las extremidades posteriores deben de estar trabadas por un tirapie. La cola se venda por completo y se desvía hacia uno de los lados para evitar la contaminación mediante el pelo.

El semental no debe acercarse a la hembra hasta que a distancia de la misma, haya sufrido la correspondiente excitación sexual y se encuentre en plena erección, en cuyo momento el manejador le dejará caminar en línea recta hacia la hembra. Tan pronto como tiene lugar la monta, el operador, preparado y situado en el lado derecho del animal, se dispone a colocar la vagina sobre la nalga, en posición oblicua, paralela a la dirección de la grupa y en ángulo de 45° aproximadamente. El operador debe esperar a situar la vagina hasta que el semental haya montado perfectamente y se encuentre con las extremidades anteriores fijas sobre el tórax de la hembra. Mientras que con la boca pinza la crin de la misma, siendo muy conveniente esperar a que termine los primeros movimientos de la monta, tumultuosos y que pueden dañar al operador. El ayudante, situando la vagina en la posición señalada por el operador desviará el pene tomándolo por la base lo más cerca posible al prepucio, para de este modo, orientarlo a la vagina artificial.

La entrada del pene a la vagina artificial va seguida de uno movimientos anteroposteriores en los cuales el operador debe de participar moviendo a la vagina en la dirección de los mismos, para que por último y al dirigir aquélla hacia atrás, el glande pueda tomar punto de apoyo en la base cónica de la vagina, de particular importancia en el desencadenamiento de la eyaculación. En todo momento el operador debe de sostener la vagina artificial con seguridad, y al mismo tiempo con suavidad, para evitar toda reacción de extraños que resultaría contraproducente a la eyaculación. El operador puede sujetar suavemente la base del pene para poder sentir el momento en el que el semental está eyaculando o puede fijarse en los movimientos de la cola de arriba hacia abajo (movimientos de bandera), aunque este último puede prestarse a confusiones.

Una vez obtenido el semen el operador debe esperar a que el semental relaje ligeramente el pene para poder sacar la vagina, generalmente se sigue al garañón hasta que baje de la yegua o maniquí y una vez relajado el pene se saca la vagina. Al obtener el semen se tapa la entrada de la vagina con la mano para evitar que entren contaminantes y se lleva para su evaluación y procesado (26).

## ***EVALUACION SEMINAL.***

La evaluación del semen constituye una premisa obligada en I.A. en la que realmente se pone de manifiesto el interés de la I.A. sobre la monta natural. La evaluación del eyaculado tiene la finalidad de apreciar el valor sanitario, biológico y de capacitación fecundante del semen, antes de destinarse a la inseminación de las respectivas hembras; aunque, en ciertos casos, no contamos más que con métodos o pruebas que aproximadamente, nos señalan el valor de los respectivos aspectos (30).

La evaluación del semen de los equinos comprenden tres puntos fundamentales: a) contratación macroscópica. b) contrastación microscópica o zoospérmica propiamente dicho, y c) contrastación biológica.

### ***CONTRASTACION MACROSCOPICA.***

Se basa en la apreciación de caracteres que radican en la masa del eyaculado, que puede llamarse también contrastación del eyaculado.

De los datos que interesa reseñar, tenemos el *volumen, color, opacidad, fluidez y viscosidad.*

El *volumen* del eyaculado en los equinos varía de entre 30 y 300 ml., tomando como media 60 a 80 ml. Existe una relación entre el régimen alimenticio y el volumen eyaculatorio, de modo que en los animales sometidos a un régimen verde es más voluminoso que bajo el efecto de una alimentación concentrada. Hay que tener en cuenta que la mayor parte del eyaculado procede de las glándulas vesiculares y, en general, no puede establecerse relación directa entre el volumen eyaculado y contratación zoospérmica, sino más bien relación inversa (10,15,18,19,26,29,30,33).

Las variaciones en el volumen del eyaculado dependen no solo del método de recolección, sino del ritmo con que aquéllas se practican. Como norma general se recomienda 3 recolecciones semanales, aunque en sementales jóvenes y pletóricos pueden ser 3 recolecciones en días sucesivos, seguidas de uno de descanso. La integración del eyaculado se hace tras la mezcla de las tres fracciones:

*1ª fracción:* Origen glandular paragenital, que carece de espermatozoides, reacción ligeramente ácida procedente de las glándulas de Cowper, Littré y próstata. Representa el 30-40% del volumen total del eyaculado.

*2ª fracción:* Origen de las ampollas de Hele y epidídimo. Rica en espermatozoides, Representa el 15-30% del volumen eyaculado.

**3ª fracción:** Procede de las glándulas vesiculares. Rica en tampones, representa el 20-30% del eyaculado.

Integrado el eyaculado, la llamada fracción gelatinosa (de gran viscosidad) recuerda a la tapioca del eyaculado del verraco. Se trata de un producto generado en la reacción del material integrante (10-12%), que debe ser eliminada por filtración<sup>(30)</sup>.

Los grandes volúmenes de eyaculado superior a lo 400 ml. deben interpretarse como anormales y, en general, están relacionados con reacción inflamatoria de las glándulas para genitales. Por el contrario, los escasos rendimientos eyaculatorios, salvo el caso en su concentración sea particularmente elevada en espermatozoides, corresponde a una deficiencia en los métodos de recolección del semen empleados, y en otros casos el fenómeno está relacionado con el agotamiento sexual.

El *color* del eyaculado en los equinos presenta una tonalidad verdosa amarillenta con tendencia a grisácea. Se descubrió un *lipocromo* responsables de la tonalidad colorante del semen. Existen variaciones importantes en la tonalidad del mismo, en relación con la alimentación, influyendo el régimen verde en la definición de la tonalidad amarillo verdoso, mientras que los tonos grisáceos corresponden a la alimentación seca y concentrada. La coloración del semen deriva esencialmente en los equinos de la secreción glandulovesicular y de la prostática. Lo mismo que en otras especies, las variaciones destacadas del color eyaculado a de interpretarse como sospechosas de proceso inflamatorio, degenerativos o contaminantes del eyaculado<sup>(26,30)</sup>.

**Opacidad (Índice nefelométrico).** Se refiere a los datos recogidos a tal efecto cuando el eyaculado se examina a la luz en un recipiente de vidrio. La opacidad se valora en la actualidad con distintas técnicas de opacimetría; en este caso tiene un valor más abstracto, haciendo referencia solo a la impresión que nos produce respecto al carácter más o menos homogéneo de la masa líquida, turbidez, etc.

La existencia de grumos significa contaminaciones, a veces groseras, con cuerpos extraños de variada naturaleza que es preciso analizar.

En general, la contrastación física o macroscópica del eyaculado se apoya en la apreciación subjetiva que, por otra parte, al no tener relación inmediata con lo espermatozoides, su concentración biológica resulta exclusivamente de un valor muy relativo y solo aproximado.

## ***CONTRASTACIÓN MICROSCOPICA.***

Se refiere a la apreciación objetiva de una serie de circunstancias que provienen de los propios espermatozoides, por lo cual su interés es de máxima importancia.

***Concentración espermática.*** La determinación de la concentración de espermatozoides en una muestra de semen es extremadamente importante, porque estos parámetros son usados en determinar el volumen de muestra necesario para incluir el número correcto de espermatozoides en cada dosis de inseminación. La concentración de esperma puede ser determinada usando un hematocitómetro después de la dilución del eyaculado. El espectrofotómetro, sin embargo, es probablemente el método más común para determinar la concentración del esperma. Este método mide el grado de dispersión de luz que una muestra de semen causa, y la concentración de esperma es determinada por la comparación de las medidas espectrofotométricas con una curva estándar determinada por conteo real de una muestra estándar usando una cámara de conteo microscópica o una máquina de conteo de partículas. La precisión y exactitud son incrementadas por muestras estándar calibradas con máquinas de conteo de partículas, cuando incrementa el número de células son contadas para estimar el promedio poblacional.

Las medidas espectrofotométricas no son exactas para muestras que contienen partículas extrañas a los espermatozoides en el medio, yema de huevo, grasa de leche en lo que se diluido previamente el semen de caballo o semen contaminado con orina o sangre. Este tipo de muestra, sin embargo, puede ser evaluada usando el hematocitómetro o por el uso de "tinción fluorescente" que solamente marca el espermatozoide y no partículas extrañas. Usando esta tecnología la concentración de espermatozoides en una muestra de semen puede ser determinada usando fluorometría y flujo citométrico.

La concentración espermática puede ser altamente variable, entre eyaculados y entre caballos con fertilidad aparentemente normal. Se sugiere que la concentración de espermatozoides es poco importante si ésta sobrepasa  $10 \times 10^6$  /ml. Se reportaron concentraciones de 100 a  $350 \times 10^6$  / ml., dependiendo de la influencia estacional y de la frecuencia de eyaculaciones. La concentración de espermatozoides usualmente está en el rango de 50 a  $100 \times 10^6$  / ml<sub>(10,15,18,19,,26,29,30,33)</sub>.

***Motilidad.*** La motilidad de los espermatozoides en el semen libre de gel es estimada inmediatamente (dentro de 5 minutos) después de la colección, usando los objetivos de 10x y 40x sobre la platina precalentada del microscopio, bajo un cubre objetos precalentado o en una cámara de comparación. Ambos métodos son altamente subjetivos y dependen mucho de la experiencia del examinador. La estimación de la motilidad es más fácil bajo una iluminación de contraste de fases. Un efecto similar puede ser obtenido cubriendo el condensador de un microscopio convencional<sub>(10,15,19,26,30)</sub>.

Los espermatozoides de caballo no producen movimiento de remolino (motilidad masal) como en el ganado. La motilidad es evaluada en porcentaje, como oscilatoria, que es cuando los espermatozoides están vivos pero se mueven en su lugar y progresiva, esto es, que los

espermatozoides cruzan el campo de observación con movimiento hacia adelante. También, se ha registrado movimiento circular y en forma de serpentina. Se reportó una correlación directa entre tasa de concepción alcanzada y el porcentaje de motilidad progresiva de espermatozoides.

Más métodos objetivos para evaluar la motilidad de los espermatozoides de caballo han sido descritos. Estos son, un método por fotografía de campo oscuro (Elliot *et. Al.* 1973), un método cinematográfico (Plewinska- Wierzbowski y Bielanski, 1970) y un análisis automatizado por computadora (Amann 1987; Jasko *et. Al.* 1988; Blach *et. Al.* 1989). Jasko *et. Al.* (1990) comparó los análisis de las características de movimiento de los espermatozoides de caballo usando dos computadoras automatizadas para análisis de semen, como instrumento, la CellSoft Automated semen analyzer (CRYO Resources Ltd. New York, USA) y la HTM-2000 Motion analyzer (Hamilton Thorn Research, Danver, MA, USA) y la evaluación subjetiva manual. Ellos concluyeron que la comparación directa de resultados fue difícil por que los resultados obtenidos fueron a menudo distintos por muchas determinaciones. Nunca, técnicas por computadora serán probablemente para favorecer “el estado de arte” para investigaciones y quizá para “control de calidad” para programas comerciales de I.A (33).

### ***CONTRASTACIÓN BIOLÓGICA DEL ESPERMA.***

La contrastación biológica del eyaculado en los equinos se refiere a las apreciaciones de una serie de reacciones que entrañan en los zoospermos grado de resistencia, vitalidad, etc., que pueden relacionarse con la capacidad biógena y resultante.

***Porcentaje de vivos y muertos.*** El porcentaje de formas muertas del eyaculado equino es muy elevado en condiciones normales, pueden alcanzar hasta un 30%. El rango de vivos y muertos es altamente variable pero la mayoría de los garañones de fertilidad normal tienen más del 60% de espermatozoides vivos. Se sugiere que en caballos viejos, la proporción de espermatozoides muertos y anormalidades se incrementa. La tinción se realiza utilizando un igual volumen de semen y eosina-negrosina. En términos generales, se considera que la cabeza de los espermatozoides vivos no se tiñe mientras que la cabeza de los espermatozoides muertos se vuelven eosinofílicos. La proporción de espermatozoides vivos y muertos se obtiene por conteo diferencial de células.

***Morfología.*** Reportes sobre los últimos 25 años indican que cuando el porcentaje de espermatozoides con anormalidades morfológicas aumenta en muestras de semen la fertilidad decrece. En particular, Los espermatozoides que poseen cabezas anormales, bolsas en el núcleo y acrosomas anormales son asociados con baja fertilidad.

Se ha descrito un método de tinción de eosina-negrosina fina que permite examinar y cuantificar más exactamente el rango de vivos y muertos y anormalidades morfológicas.

Se sugiere que esto es posible para predecir fertilidad normal en garañones por manifestar espermatozoides con morfología normal superiores al 80%, 10% de gota citoplasmática medial, 30% de colas dobladas, 30% de cabezas desprendidas y 1% de otras anomalías individuales. De un estudio en el que se examinó 538 eyaculados de garañones propiedad de varios criadores se clasificó, el 60% de los espermatozoides como normales (19,29,30,33).

En la cuadro 3 se muestra el porcentaje y su desviación estándar de anomalías espermáticas de eyaculados de garañones normales.

**Cuadro 3. Clasificación de las características morfológicas del esperma de caballo y el porcentaje promedio de espermias normales en el eyaculado de caballo.**

<b>Características</b>	<b>Porcentaje ± desviación estándar</b>
<b>Espermias normales</b>	52 ± 18
<b>Cabezas anormales (incluyendo deformidades de forma y acrosoma)</b>	8 ± 7
<b>Cabezas sueltas</b>	3 ± 4
<b>Gota citoplasmática proximal</b>	11 ± 9
<b>Gota citoplasmática distal</b>	8 ± 9
<b>Cuello anormal</b>	8 ± 9
<b>Colas anormales</b>	11 ± 9

\* (19,29,30,33)

**Respirometría.** La Respirometría se puso en práctica, en Cambridge, por Walton y Edwarst. Se refiere al consumo de O<sup>2</sup> que exige o necesita por unidad de tiempo un volumen determinado de esperma, fenómeno que está en relación con la actividad de los espermatozoides contenidos en el mismo. Para apreciación de dicho consumo se utiliza el respirómetro de Barcroff-Dixon (30).

El conocimiento de los procesos de la reproducción que se obtengan con la práctica de la IA puede contribuir esencialmente al aumento de la eficiencia de la producción animal. Por consiguiente, entre sus ventajas debe tenerse en cuenta la posibilidad de que asegura un índice de concepción más alto en los caballos.

# **CRIOPRESERVACION DEL SEMEN DE EQUINO**

## ***HISTORIA.***

El uso de la I.A. en caballos era casi inexistente en muchos de los países del oeste de Europa. Sin embargo 26 años de investigación hace resurgir el uso de esta técnica para la crianza de caballos en muchos programas de reproducción en el oeste de Europa y de Estados Unidos.

El reavivamiento en el interés de la I.A. equina fué principalmente debido al desarrollo de improvisados métodos para almacenar y transportar el semen de caballo. Inicialmente, esta expansión involucra cortos periodos de almacenamiento en forma líquida pero, por muchos años a existido la creencia, que el espermatozoide de garañón es particularmente frágil y que, a diferencia del espermatozoide de toro, ello impediría realizar la subsecuente congelación y descongelación. No fué hasta tiempo después que se usó el semen congelado para cruce de ganado, llegando a ser casi universal. En 1966 se reportó el nacimiento del primer potro de una yegua que fué inseminada con semen congelado de un eyaculado recolectado.

Desde entonces, en muchas partes del mundo se usaron varias técnicas de recolección, diluyentes, envasado y métodos de congelación mostrando que tasas aceptables de concepción pueden ser alcanzadas con semen congelado. Casi el único factor común revelado en muchas de la investigaciones publicadas es que hay una considerable variación individual entre garañones en cuanto a la sobrevivencia del congelado y el descongelado. Se ha reportado que el 20% de los garañones, sobrevive su semen al proceso de descongelado.

Aunque recientes mejoras en las técnicas han tenido un considerable incremento en la proporción de caballos cuyo semen puede ser congelado con éxito, es común encontrar entre estos trabajos en el campo que una minoría significativa de caballos fértiles que aun producen semen con una tasa de concepción pobre al descongelado.

En 1980, personal del Laboratorio de Reproducción Animal, en la Universidad del Estado de Colorado, concluyeron que ciertos aspectos de la industria equina resultarían beneficiados de la congelación de semen con tal de que técnicas satisfactorias para procesamiento, envasado, congelado, descongelado e inseminación puedan ser desarrolladas<sup>(5)</sup>.

## ***VENTAJAS Y DESVENTAJAS DEL SEMEN CONGELADO.***

Existen varias ventajas y desventajas potenciales en el semen congelado de equino. La relativa importancia de esto, para un criador dependerá de muchos factores. Nosotros creemos que la mayoría de los criadores considerarían los siguientes puntos para aprovecharlos:

- A) Es mucho más económico el embarcar un contenedor de nitrógeno líquido a través de un país que embarcar un caballo. Varios cientos de docenas de semen se pueden embarcar a través de un país por más o menos \$50, y con este semen inseminar varias yeguas, aun en diferentes meses, y puede trasladarse en un solo embarque.
- B) Las yeguas no necesitan trasladarse para quedar preñadas, lo cual reduciría enormemente los costos de crianza, así como el seguro. La yegua no sería expuesta a estrés de traslado, lo cual podría contribuir al decremento en la pérdida de gestaciones. Por lo que el reciente potro de la hembra no sería expuesto a riesgos de estrés de traslado. Generalmente el potro sería mejor cuidado en casa. En suma, las yeguas y potros no serían objeto de las numerosas enfermedades potenciales frecuentemente asociadas con las grandes granjas de crianza.
- C) La temporada de crianza de un garañón podría continuar mientras está participando, en espectáculos o eventos de ejecución, o mientras se recupera de enfermedades o heridas. Solo el gerente o dueño de un garañón que haya tenido que pedir a los dueños de las yeguas que las recojan antes de ser preñadas puede apreciar completamente el impacto de la congelación de semen.
- D) Las diferencias en las temporadas de crianza, entre los hemisferios del sur y del norte no tendrían problemas para planear los apareamientos.
- E) El semen del garañón de extremo valor sería almacenado con una póliza de seguros y utilizarlo años después cuando se necesite el semen, aun después de que haya muerto el garañón. Por ejemplo, sería altamente beneficioso en el desarrollo de caballos deportivos si el semen congelado de Native Dancer y Bold Ruler estuviera disponible. En suma los genes de características no comunes de moda podrían ser retenidos para su uso futuro.
- F) Reduce el uso de garañones genéticamente inferiores. Obviamente aquellos que posean garañones inferiores crearían que el semen congelado es una desventaja.

Existen varias desventajas asociadas con el uso de semen congelado. Varias de las supuestas desventajas se imaginan o están basadas en información incompleta. Los siguientes puntos probablemente son contemplados primero en las mentes de la mayoría de los dueños de los caballos.

- A) Para muchos garañones las técnicas actuales de procesamiento, empaque, congelamiento e inseminación con semen congelado no presenta un porcentaje satisfactorio de gestaciones. En el presente los espermatozoides de cerca de una tercera parte de todos los garañones proveerían un porcentaje de gestaciones equivalentes al 60% de aquel obtenido bajo condiciones comparables al utilizar

semen fresco. En un juicio de crianza conducido en el Laboratorio de Reproducción Animal en 1983, los porcentajes de gestaciones obtenidas con el semen congelado y el semen fresco de los mismos garañones no fueron significativamente diferentes. Desafortunadamente, cuando se utilizó el mismo procedimiento en 1984 con el semen de otros 3 garañones, los resultados con el semen congelado fueron menos satisfactorios. El porcentaje reducido de gestaciones no fueron necesariamente un resultado inevitable del semen congelado. Debido a que la búsqueda de semen congelado de equino continua, la fertilidad mejorará.

- B) Es frecuentemente establecido que con la disponibilidad de semen congelado, muchas yegua quedarían preñadas por un garañón. Obviamente el dueño del garañón puede limitar las ventas de semen. Aun con las mejoras en la tecnología, es poco probable que más de 50 dosis de inseminación se puedan preparar de semen eyaculado por un garañón en una semana, y aun menos cuando el semen se procesa en la temporada de no crianza, por lo que, algunas dosis de inseminación deberán utilizarse para evaluar la calidad del producto y la mayoría de las dosis de inseminación potencial no serían satisfactorias para utilizarse y se descontarían. Por lo que es poco probable que de 500 a 600 dosis de inseminación de semen satisfactorio se pueden obtener de un garañón normal en un periodo de 12 meses. Puesto que la mayoría de las yeguas, son diferentes a las vacas, serían preñadas en cada ciclo estral con suficientes dosis de inseminación disponibles para inseminar de 200 a 300 yeguas con un garañón en un año en comparación con las más de 50,000 vacas con un solo toro. Consecuentemente el número de garañones requeridos para preñar a las yeguas no sería reducido drásticamente. Debido al número relativamente limitado de yeguas que pueden ser inseminadas con el semen congelado de un garañón anualmente, no hay razón para asumir que la consanguinidad ocurrirá mucho más rápidamente que a través del servicio natural. Quizá incluso disminuiría la consanguinidad debido a que el semen puede ser enviado a todas las partes del mundo. De este modo, los criadores no se limitarían a garañones locales.
- C) El costo para el dueño del garañón se vería reducido, esto puede ocurrir puesto que su el uso de semen congelado probablemente resulte en la mayor utilización de garañones superiores.
- D) Numerosos criadores se preocuparían por el declinamiento de la cuota de sus sementales. Los costos involucrados en la colección, procesamiento y almacenamiento del semen de caballo debe ser distribuidos lejos del menor número de dosis de inseminación como es para el semen de toro. Consecuentemente en adición a regular las “cuotas de los sementales”, el costo por preparar y almacenar un número suficiente de dosis de inseminación para alcanzar una preñez en promedio, aproximadamente costaría US\$ 100 por una yegua o quizá de 10 a 20 del costo para gestar una vaca. Además de esta cantidad para la habitual cuota del semental podría parecer razonable, entregando limitados números de dosis que pueden ser procesadas

de un garañón, y los costos actuales del procesamiento del semen, es improbable que la disponibilidad del semen de equino congelado pueda tener un mayor impacto sobre la cuotas del semental.

- E) Sobre la congelación de semen de garañones en granjas podría presentarse como una ventaja pero en la mayoría de los casos esto puede ser una desventaja. Esto puede ser posible por un laboratorio portátil de congelación que vaya de granja en granja, pero esto es probable que la calidad del producto obtenido pueda aproximarse pudiendo ser inferior a la obtenida en una estación permanente de garañones. Esta conclusión es basada sobre experiencias de semen congelado de toro. Granjas lecheras y ranchos fueron rápidamente aprendiendo que la fertilidad del semen congelado y procesado tiene la mayor parte de unidades motiles siendo inferior para el procesamiento del semen en los principales toros sementales. Con optimismo un criador que tenga garañones puede ponerlos en un centro que tenga un equipo apropiado de laboratorio y un personal calificado. De este modo puede ser necesario que el caballo deba ser transportado a un establecimiento central para recolección de semen, procesamiento y congelación. Alternativamente una granja de crianza con muchos garañones valiosos puede elegir establecer su propio laboratorio de procesamiento y grupo de trabajo con personal calificado.
- F) Algunos criadores les preocupa que el uso de semen congelado podría conducir a errores de identidad y, consecuentemente un “pedigri” incorrecto. La integridad del criador, no usa el procedimiento preñando hembras, determinando la pureza de una cruce. Sin embargo, si cada caballo del cual se congela su semen es cuidadosamente identificado, fotografiado, y obtenido su tipo de sangre, y de cada dosis de inseminación (pajilla) es permanentemente etiquetada con una identificación completa del semen que contiene. Mediante el uso del tipo de sangre, de ambos padres y la progenie puede facilitar la identificación de criadores descuidados o deshonestos <sup>(26)</sup>.

### ***ASPECTOS FISIOLÓGICOS DE LA CRIOPRESERVACIÓN.***

Siendo el agua la fuente esencial para las funciones vitales de cualquier organismo, no es raro pensar que la falta o solidificación de ésta cause incompatibilidad para la vida. Sin embargo, la permanencia de una célula en el estado de congelación se contraponen a lo anteriormente dicho, ya que con el método de congelación se puede preservar una célula a temperaturas extremadamente bajas, permitiendo que el metabolismo se reduzca “absolutamente”, sin que pierda su potencial vital. A temperaturas de  $-196^{\circ}\text{C}$  no hay reacciones bioquímicas ni energía térmica dentro de la célula, a un más, no hay evidencia de que puedan haber cambios de origen genético. No obstante, dicha estabilidad solamente puede ser mantenida a temperaturas por debajo de  $-130^{\circ}\text{C}$ , ya que a temperaturas mayores, puede haber agua no congelada intracelularmente la cual permite funciones metabólicas, causando degradación de la célula.

Al pensar en criopreservar semen se debe de tener claro que el objetivo es mantener los siguientes requerimientos y propiedades de un espermatozoide para poder fertilizar:

- 1) Metabolismo para llevar a cabo la producción de energía para sus funciones.
- 2) Proteínas necesarias para su sobrevivencia dentro del aparato reproductor femenino, y para la adhesión al ovocito en el momento de la fertilización.
- 3) Enzimas acrosomales útiles para la penetración del ovocito.
- 4) Capacidad de movimiento progresivo.

Está comprobado que al reducir la temperatura por debajo de los 20° C, el espermatozoide comienza a presentar cambios biofísicos, principalmente en las membranas plásticas, pero no es sino cuando se somete a temperaturas entre los 0° C y los -20° C, o hasta los -60° C que el espermatozoide sufre efectos de descompensación iónica y de líquidos suficientemente graves para causar un choque térmico. Esto se puede detectar al microscopio por la presencia de espermatozoides con cola doblada, con pérdida de motilidad por disminución de energía, o realizando movimientos en círculo, los cual se debe al aumento de permeabilidad de la membrana plástica y a la salida de iones y moléculas.

El problema en la criopreservación no es la habilidad del espermatozoide para mantener viable a -196° C sino sortear el daño que ocurre durante el congelamiento y descongelamiento, al pasar las células por una zona de temperatura crítica en -15° C y -60° C durante el cual se producen fenómenos que se derivan del proceso de enfriamiento, tales como formación de cristales intra y extracelularmente, deshidratación y distorsión de la membrana.

Bajo condiciones normales, el daño que una célula sufra durante el congelamiento depende de la velocidad del enfriamiento a la que ocurra dicho proceso. Mientras disminuye la temperatura, antes de llegar a -5° C, los líquidos aun no sufren cambios, pero al bajar de estas temperaturas, se comienzan a formar cristales extracelulares de agua pura, logrando que por el mismo fenómeno de cristalización todos los solutos queden separados del cristal, aumentando así las concentraciones de sales en la porción de agua que aun no se congela (agua precongelada). El término precongelamiento define al momento umbral antes de que una célula o su ambiente sea congelado. Dentro de las células hay agua precongelada, la cual se difunde hacia el exterior de la célula para que la concentración de sales en el interior y en el exterior de la célula se equilibren, sucediendo así la deshidratación celular. Si el agua no sale rápidamente hay formación de cristales intracelulares, que dañan mecánicamente a las células. Si la tasa de enfriamiento es lenta, la alta concentración de sales que quedan en la porción no congelada dentro de la célula pueden dañarla, además de deshidratarla, por lo que se hace importante encontrar el ritmo óptimo de enfriamiento.

Con la finalidad de entender mejor el proceso se hace necesario remontarse a la fisiología de la membrana espermática. La configuración bilaminar de las cadenas de ácidos grasos de los fosfolípidos, junto con las proteínas integrales y periféricas, conforman una barrera hidrofóbica difícil de atravesar. Los fosfolípidos de la membrana se pueden mover lateralmente en la

membrana, por lo que se dice que la membrana es un mosaico fluido. La fluidez de la membrana puede alterarse por varios factores, entre ellos la temperatura. Al bajar ésta se produce un reacomodo de las cadenas de fosfolípidos en forma de paquetes, ya sea en forma bilaminar o hexagonal, formándose con esto regiones cristalinas. Sin embargo, hay regiones en la que todavía existen líquidos, y aquellas proteínas que fueron separadas del bloqueo cristalino se reagrupan, de forma que se construyen brechas de comunicación en la membrana. Una hipótesis que también se plantea explica que al descender la temperatura por debajo de 0° C disminuye la formación de ATP por lo que la bomba de Na y K de la membrana plasmática (ATP dependiente) también disminuye su actividad. Esto causa que el potasio que atraviesa la membrana para salir, fluya a una tasa mayor que el potasio que entra por lo que la concentración de K intracelular disminuye, y la relación Na – K se altera. Esto causa una despolarización parcial de la membrana, abriéndose por ello los canales de calcio, el cual activa enzimas fosfolipasas, ocasionando una alteración general de las membranas. Otra alternativa de explicación plantea que la célula se vuelve menos tolerante a los cambios bruscos de volumen y concentración cuando está a temperaturas por debajo de -5° C.

Dependiendo del ritmo de enfriamiento los eventos que suceden son distintos. Cuando el ritmo de congelamiento es rápido (reducción de temperatura mayor a 10 – 20° C/minuto) al agua intracelular no le da tiempo de salir, por lo que se forman cristales que, al aumentar el ritmo de congelamiento, se hacen cada vez más pequeños, hasta hacerse imperceptibles aun con el microscopio electrónico. Esto es saludable para las células mientras permanecen en ese estado. No obstante, esos microcristales son termodinámicamente inestables, por lo que al ser descongelados tienden a agruparse (recristalización) y forman cristales más grandes, que son letales para las células, por lo que la solución es un ritmo de descongelación rápido. No se conoce bien la forma como el proceso de recristalización daña las células. Se cree que no es físico el daño es más, se piensa que directamente es inocuo, pero que genera cambios letales en el sistema celular, los que son de carácter letal.

Con el ritmo de congelamiento lento (reducción de temperatura menor a 5° C/minuto) se puede evitar el congelamiento celular, por lo que este ritmo permite que el agua intracelular y extracelular encuentre su equilibrio, ya que el agua intracelular puede salir continuamente, mientras el exterior se va congelando. Llega un momento en el que la temperatura de nucleación del hielo de la célula en que ésta prácticamente no tiene agua y no se congela. Hay evidencia que indica que cuando aproximadamente 90% de agua es removida, el 10 % restante no es capaz de congelarse a ninguna temperatura. Pero ante esta situación, la proporción de hielo extracelular es tan grande que le causa daños a la membrana por su lado externo (1,26,27).

### ***ACCIÓN DE LOS CRIOPROTECTORES INTRA Y EXTRACELULARES.***

Teóricamente se podría hacer más resistente a un espermatozoide reduciendo el número de poros en la membrana y reduciéndole las funciones ATP dependientes, así como la agregación

proteínica y formación de bloques lipídicos. Presumiblemente ésta es la acción de las lipoproteínas de la yema de huevo y de la leche en los diluyentes, y de crioprotectores, como por ejemplo el dimetil sulfóxico, la betaina y el glicerol.

Aun que no se tienen bien determinado si la acción del glicerol tiene efectos internos y externos en la célula, hay evidencia de que la presencia de un aditivo crioprotector reduce la concentración de sales intracelulares a una temperatura dada, debido a que incrementa la fracción no congelada en el exterior de la célula. El problema que se presenta con estos crioprotectores es que también producen toxicidad, y que esta toxicidad disminuye la concentración de otros ácidos que pueden ser usados en el diluyente y por lo tanto limita la eficiencia de ellos.

Los diluyentes utilizados tanto para el semen refrigerado como para el semen congelado, ha sido necesario incluir leche descremada o yema de huevo, sobre todo en esta última. A pesar de haber sido utilizada desde hace varias décadas, lo único que se conoce sobre el efecto de la yema de huevo es que su inclusión mejora la fertilidad del semen. Tiene bondades conocidas pero prejuicios desconocidos, principalmente actividades de tipo enzimático potencialmente dañinas.

Uno de los obstáculos que se presentan para realizar la evaluación del semen en estudios de diluyentes con base en yema de huevo, es la consistencia de la misma la cual interfiere, tanto por la viscosidad que produce en el diluyente, como por la poca nitidez que tiene el campo visual el microscopio. La densidad del diluyente con yema de huevo puede influir en la dirección o movimiento espermático. De hecho, los estudios de viabilidad espermática en humanos requiere de efectuar lavados de las células para evitar distorsiones en la medición, aunque esto, eventualmente, puede causar pérdidas en la motilidad.

Recientemente han conseguido investigaciones en las que se utilizan alternativas proteínicas dentro de los diluyentes en lugar de la yema de huevo, así pues, se ha utilizado albúmina sérica bovina, suero equino, suero bovino, proteínas de soya, calostro, alcohol polivinílico, etc. Todos ellos proveen la oportunidad de hacer estudios *in vitro* con buena visibilidad ante el microscopio, aun que los diversos ingredientes proteínicos que se mencionan han sido utilizados de manera experimental solo en diluyentes para semen fresco o refrigerado, y no para semen congelado, excepto la albúmina sérica bovina (1,26,27).

### ***DILUYENTES PARA CRIOPRESERVACIÓN DE SEMEN DE GARAÑÓN.***

Un diluyente calentado de leche entera, conteniendo el 10% de glicerol, fue usado para obtener la primera gestación con semen criopreservado de garañón. Desde entonces la mayoría de los diluyentes para congelar espermatozoides de caballo pueden consistir de leche, yema de huevo, varios azúcares, electrolitos y glicerol (26).

Pueden no ser sacadas conclusiones validas para poder comparar datos de dos o más estudios, porque confundirlos la influencia del caballo, sistema de envasado, datos de enfriamiento y calentado, y la naturaleza subjetiva de la evaluación visual postdescongelado de la motilidad espermática.

Algunos de los diluyentes más usados se muestran en los Cuadros 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10:

**Cuadro 4. Composición del medio de centrifugación y para preparar el medio de congelación Citrato-EDTA y el de Glucosa-EDTA.**

Componente	Citrato-EDTA	Glucosa-EDTA
Glucosa	1.500 g	59.985 g
Citrato de Na dihidratado	25.950 g	3.700 g
EDTA Disódico	3.699 g	3.699 g
Bicarbonato de Sodio	1.200 g	1.200 g
Penicilina		10 <sup>6</sup> UI
PH	6.89	6.59
Mosm/kg	290	409

• Diluido en 1000 ml de agua desionizada.

(1, 6, 14, 26, 30, 32)

**Cuadro 5. Composición del diluyente para congelación Lactosa-EDTA-Yema de Huevo.**

Componentes	Cantidad
Solución Lactosa (11% p/v)	50 ml
Solución Glucosa-EDTA (Cuadro 5)	25 ml
Yema de Huevo	20 ml
Glicerol	5 ml
Equex STM	0.5 ml

(1, 6, 14, 26, 30, 32)

**Cuadro 6. Composición del diluyente de congelación utilizado en Este de Europa.**

Componentes	Original	Modificado
Lactosa	11.0 g	6.6 g
Mannitol	-----	2.1 g
Glucosa	-----	0.7 g
EDTA Disódico	0.1 g	0.15 g
Citrato de Na Dihidratado	0.089 g	0.16 g
Bicarbonato de Sodio	0.008 g	0.015 g
Agua Desionizada	100 ml	100 ml
Yema de Huevo	1.6 g	2.5 g
Glicerol	3.5 ml	3.5 ml

(1, 26, 30, 32)

**Cuadro 7. Composición de un diluyente de leche usado en Francia.**

Componentes	Cantidad
Leche en Polvo Estéril	50 ml
Solución de Sal y Azúcar *	50 ml
Glucosa	2.50 g
Lactosa	0.15 g
Rafinosa	0.15 g
Citrato de Na Dihidratado	0.03 g
Citrato de K	0.04 g
Agua bidestilada	50 ml
Yema de Huevo	2.0%
Glicerol	2.5%

(1, 26, 30, 32)

- Mezclar la leche en polvo y la solución sal/azúcar 1:1. El diluyente además contiene 5000 UI de penicilina y 5.0 mg de gentamicina.
- Mezclar 95.5 ml de la solución de leche, sal y azúcar con 2.0 ml de yema de huevo y 2.5 ml de glicerol para preparar el diluyente de congelación.

**Cuadro 8. Composición de el diluyente HF-20 usado en Japón para diluir el semen para centrifugar y como diluyente de congelación.**

Componentes	Cantidad
Glucosa	5.00 g
Lactosa	0.30 g
Rafinosa	0.30 g
Citrato de Na Dihidratado	0.15 g
Fosfato Sodico (dibásico)	0.05 g
Tartrato Sodicopotásico	0.05 g
Agua deshinizada	100 ml
Yema de Huevo	2.5 – 5 ml

(1, 26, 30, 32)

- El diluyente contiene penicilina y estreptomycinina y es usado para diluir (7:3) el semen para centrifugado. Para preparar el semen de congelación, se le adiciona 10% de glicerol.

**Cuadro 9. Componentes del diluyente HEPES (N-[2-hidroxietil]piperazina-N'-[2-ácido etanosulfúrico]) -azúcar amortiguador (HBS) utilizado para centrifugar y el de leche en polvo para la dilución final (SM) usado para congelar.**

Componentes	HBS 1 litro	SM 1 litro
Leche en Polvo Descremada SANALAC	-----	55.75 g
Glucosa	50.00 g	27.64 g
Citrato de Sodio Dihidratado	0.60 g	0.30 g
Lactosa	3.00 g	1.50 g
Refinosa	3.00 g	1.50 g
Citrato de Potasio	0.82 g	0.42 g
HEPES	7.14 g	7.14 g
Ticarcilina	1.00 g	10.00 g
PH	7.0	7.0
Mosm/kg	300-310	300-310

Heitland *et al.* 1996.

**Cuadro 10. Composición del diluyente de Leche descremada en polvo-Glucosa (Kenney).**

Componentes	Cantidad
Leche en polvo descremada*	2.4 g
Glucosa	4.9 g
Ticarcilina Disódica	1 mg/ml
Agua estéril Desionizada	100 ml
Yema de Huevo	3 %
Glicerol	6 %

- Leche en polvo descremada SANALAC.

Bedford *et al.* 1995 y McKinnon 1993

Estos diluyentes se ocupan según la técnica realizada por cada persona, características individuales del caballo que se vaya a congelar su semen, disposición de los ingredientes del mismo, costos y facilidad de manejo.

## RESUMEN

Se recolectaron 40 eyaculados con un mínimo de 50% de motilidad inicial, de 8 garañones de distintas razas y edades, en el periodo que comprende del 15 de enero de 1997 al 15 de julio de 1997. El semen se diluyó en leche semidescremada para su transporte y centrifugado y resuspendiéndolo en los diluyentes de congelación Lactosa-EDTA-Yema de Huevo y el diluyente comercial Kenney para congelarlo por medio de dos técnicas: una rápida de 20 minutos y otra lenta de 140 minutos, descongelándolos después por medio de tres técnicas una a 50° C/45 segundos, a 60° C/15 segundos y a 70° C/15 segundos; analizando los resultados estadísticamente. En ninguna de las variables estudiadas (motilidad y sobrevivencia postdescongelado) se encontró una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

## **OBJETIVOS**

1. Se analizó la motilidad y sobrevivencia de los espermatozoides de caballo que fueron transportados en leche semidescremada ultrapasteurizada, evaluándose la viabilidad después de haber sido diluido el semen.
2. Se determinó la motilidad y sobrevivencia de los espermatozoides después de que fueron centrifugados en leche semidescremada ultrapasteurizada y resuspendidos en los diluyentes de congelación Lactosa-EDTA-Yema de huevo y el diluyente comercial Kenney (leche en polvo descremada-Glucosa).
3. Se observó la motilidad y sobrevivencia de los espermatozoides de caballo, los cuales fueron congelados en nitrógeno líquido con los diluyentes de congelación Lactosa-EDTA-Yema de huevo y el diluyente comercial Kenney (leche en polvo descremada-Glucosa), Después de ser descongelado por tres métodos: 1) sumergiendo el macrotubo en agua a 50° C durante 45 segundo y pasándolo a 37° C por 2 minutos; 2) Sumergiendo el macrotubo en agua a 60° C durante 15 segundos y pasándolo en agua a 37° C por 2 minutos; y 3) sumergiendo el macrotubo en agua a 70° C durante 15 segundos y pasándolo en agua a 37° C durante 2 minutos.

## MATERIAL Y METODOS

En el periodo que comprende del 15 de enero de 1997 al 15 de julio de 1997, se realizó este trabajo con 8 sementales de distintas razas y diferentes edades (*Cuadro 11*), propiedad del Agrupamiento a Caballo de la S.S.P del D.F. Se eyacularon 2 sementales cada semana durante 6 meses, para obtener un total de 40 eyaculados, los cuales debieron tener una motilidad mayor del 50% una vez adicionado el diluyente de transporte, para su procesamiento.

**Cuadro 11. Raza y edad de los sementales utilizados para la congelación de semen.**

Nombre y Número	Raza	Edad
Galán No. 317	Pura Sangre Español	10 años
Bodeguero	Pura Sangre Español	4 años
Salvaje No. 443	Azteca	9 años
Gallo No. 468	Azteca	10 años
Black Sugar No. 999	Pura Sangre Inglés	10 años
Huapango No. 227	Anglo Arabe	20 años
Capricho No. 228	Cuarto de Milla	20 años
Kadafy	Warm Blood	6 años

- Datos proporcionados de los registros de Reproducción del Agrupamiento a Caballo.

La recolección de semen se realizó por medio de una vagina artificial modelo Hannover la cual se llena con agua a 70° C, para alcanzar una temperatura interna de 45°C a 50° C y se introduce aire aproximadamente a 5 libra de presión (13). Se coloca un vaso colector de 50 ml con un capuchón de nylon para separar la tercera fracción del eyaculado (22,26,30).

Una vez obtenido el semen libre de gel, se verifica el volumen del eyaculado y se evalúa la concentración por mililitro en la cámara de Neubauer, el porcentaje de vivos, muertos y anomalías por medio de la tinción con Eosina-Nigrosina y el porcentaje de motilidad individual en un microscopio de cuerpos opacos con el objetivo de 10x (7,14). Se agrega el diluyente de transporte y centrifugado, el cual debe estar a 37° C para no producir un choque térmico a los espermatozoides (7,14). Para el transporte y centrifugado se utilizó leche semidescremada en la cual se evaluó el porcentaje de motilidad después de la dilución y centrifugado.

El semen se transportó en un termo a temperatura ambiente de las instalaciones del agrupamiento a caballo, a las instalaciones del Laboratorio de Reproducción de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco.

Una vez en el laboratorio, el semen se mantuvo a 20° C y se procedió a centrifugarlo a 100 rpm (6,11,14,17,28) durante 15 minutos en cantidades de 9 ml. Se retiró el sobrenadante del tubo hasta quedar solamente el paquete espermático, esto se realizó debido a que el semen de caballo contienen una gran cantidad de cloruros que al congelar el semen le son nocivos. Al paquete

espermático se le resuspende en los diluyentes de congelación 1) Lactosa-EDTA-Yema de huevo (**Cuadro 12 y 13**)<sup>(1,7,20,32)</sup> y 2) el diluyente Leche descremada en polvo-Glucosa (Kenney) (**Cuadro 14**), y se empajilla en macrotubos de 5 ml <sup>(11,14)</sup>, luego se congeló por medio de dos técnicas, una rápida en la cual los macrotubos son introducidos a vapores de nitrógeno (a 3 cm de la superficie en una temperatura de -120° C) después de 20 minutos de haberse empajillado. Se mantuvieron ahí por un periodo de 15 minutos y después se sumergieron en el nitrógeno líquido para pasar a las canastillas del termo de nitrógeno y conservarse a -196° C <sup>(20,30)</sup>.

**Cuadro 12. Composición del diluyente para congelación Lactosa-EDTA-yema de huevo.**

Componentes	Cantidad
Solución Lactosa (11% p/v)	50 ml
Solución Glucosa-EDTA (Cuadro 4)	25 ml
Yema de Huevo	20 ml
Glicerol	5 ml
Equex STM	0.5 ml

(1, 6, 14, 26, 30, 32)

**Cuadro 13. Composición del medio de centrifugación y para preparar el medio de congelación Citrato-EDTA y el de Glucosa-EDTA**

Componentes	Citrato-EDTA	Glucosa-EDTA
Glucosa	1.500 g	59.985 g
Citrato de Na dihidratado	25.950 g	3.700 g
EDTA Disódico	3.699 g	3.699 g
Bicarbonato de Sodio	1.200 g	1.200 g
Penicilina		10 <sup>6</sup> UI
PH	6.89	6.59
Mosm/kg	290	409

- Diluido en 1000 ml de agua desionizada.

(1, 6, 14, 26, 30, 32)

**Cuadro 14. Composición del diluyente de Leche descremada en polvo-Glucosa (Kenney).**

Componentes	Cantidad
Leche en polvo descremada*	2.4 g
Glucosa	4.9 g
Ticarcilina Disódica	1 mg/ml
Agua estéril Desionizada	100 ml
Yema de Huevo	3 %
Glicerol	6 %

- Leche en polvo descremada SANALAC.

Bedford *et al.* 1995 y McKinnon 1993

En la segunda técnica (forma lenta) los macrotubos son envueltos en papel e introducidos en un refrigerador a 4° C con el fin de disminuir la temperatura del semen a una velocidad

promedio de  $-0.07^{\circ}\text{C}/\text{minuto}$  hasta alcanzar la temperatura de  $5^{\circ}\text{C}$  y dejando un periodo de equilibrio de 20 minutos a esta temperatura. Una vez alcanzada la temperatura de  $5^{\circ}\text{C}$  los macrotubos se introducen en un termo con nitrógeno líquido y se colocan en forma horizontal a 3 cm de la superficie para obtener una temperatura de  $-120^{\circ}\text{C}$  y se dejan por un periodo de 15 minutos. Transcurrido ese tiempo los macrotubos se pasan a las canastillas del termo de nitrógeno líquido y permanecen a una temperatura de  $-196^{\circ}\text{C}_{(20,30)}$ .

El semen congelado en el nitrógeno líquido permaneció en el termo durante una semana y se descongeló por medio de tres métodos: 1) a  $50^{\circ}\text{C}$  durante 45 segundos y a  $37^{\circ}\text{C}$  por 2 minutos; 2) a  $60^{\circ}\text{C}$  por 15 segundos y a  $37^{\circ}\text{C}$  por 2 minutos y 3) a  $70^{\circ}\text{C}$  por 15 segundos y a  $37^{\circ}\text{C}$  por 2 minutos, para después evaluar la motilidad y sobrevivencia de los espermatozoides post descongelado.

Los resultados se recopilaron en los registros de los garrones y se hizo el análisis estadístico por medio de una prueba de independencia de  $\chi^2$  por comparación de medias y tres tablas de contingencia de  $2 \times 2$  de  $\chi^2$ .

## **ACTIVIDADES REALIZADAS**

En el periodo que comprendió del 15 de enero de 1997 al 15 de julio de 1997, se trabajó en el programa reproductivo de el Agrupamiento a Caballo de la Secretaria de Seguridad Pública, en lo concerniente a la detección de estros, diagnósticos de gestación, ultrasonografía, servicios naturales, inseminación artificial, congelación de semen y evaluación de garañones realizando las siguientes actividades:

1. Se realizaron un total de 360 palpaciones rectales para detección de estros y diagnósticos de gestación. Se palpaban 3 hembras por día aproximadamente realizando un detallado registro de la evolución de sus estructuras anatómicas, determinando así el momento de la ovulación o la etapa fisiológica del ciclo en la que se encuentra, el diagnóstico de gestación a los 30 días y la subsecuente verificación de la gestación a los 60 y 90 días.
2. La ultrasonografía se realizaba cada semana, a las hembras que se sospechaban con problemas reproductivos, así como para diagnóstico de gestación difícil o temprana.
3. Una vez detectados los estros en las yeguas, se determinaba con que garañón debería ser cubierta y si sería por servicio natural o inseminación artificial ya sea con semen fresco o congelado. En los servicios naturales se dirigía al garañón y/o a la yegua para evitar accidentes. En los concerniente a la inseminación artificial se preparaba a la yegua y el material necesario para realizar esta operación, bajo supervisión del veterinario encargado.
4. Los garañones se eyaculaban 2 veces por semana y el semen era transportado a las instalaciones del Laboratorio de Reproducción Animal de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Xochimilco para su evaluación y procesamiento.

## **OBJETIVOS Y METAS ALCANZADAS**

Se obtuvieron los 50 eyaculados y se trabajó solamente con 40, puesto que 10 de los 50 eyaculados se eliminaron por uroespermia elevada y baja motilidad. Se realizó en su totalidad las evaluaciones seminales registrándose los datos.

En cuanto a la evaluación de los dos diluyentes de centrifugado solamente se pudo trabajar con la leche semidescremada, puesto que en el diluyente Glucosa-EDTA los espermatozoides morían en su totalidad al momento de la dilución.

Se observó la motilidad post descongelado de los espermatozoides que fueron congelados en los dos diluyentes de congelación Lactosa-EDTA-Yema de Huevo y el diluyente comercial Kenney, registrando los resultados y analizándolos estadísticamente.

La evaluación de la motilidad postdescongelado se realizó en las tres técnicas de descongelado registrando y analizando los resultados.

# RESULTADOS

En el Cuadro 15, se observa el promedio de las evaluaciones seminales realizadas a los garañones durante esta investigación.

El volumen encontrado osciló de 35 a 68.33 ml, con un promedio de 52.33 ml. En cuanto a la concentración por ml, el rango de los garañones tuvo una media de  $490.33 \times 10^6$ , siendo el menor de  $346.66 \times 10^6$  y el mayor de  $600 \times 10^6$ . El promedio de la concentración total fué de  $24,304.39 \times 10^6$ . La motilidad de todos los eyaculados se encontró de 60% a 77.5% con un promedio de 70.49%.

En cuanto al porcentaje de vivos el más alto fué el caballo Capricho (No. 228) con el 90% y el más bajo fué el Huapango (No. 227) con 74.5%, la media de todos los garañones fué de 80.17%. El porcentaje de muertos tuvo un rango del 10% hasta el 35%, con un promedio de 19.83%.

Las anomalías primarias tuvieron una media de 0.82%. Las anomalías secundarias resultaron como sigue: Cabezas sueltas 4.47%, gotas citoplasmáticas 5.27% y las colas dobladas 7.21%.

**Cuadro 15. Promedios de la evaluación seminal realizada a los sementales trabajados.**

Característica seminal	Huapango 227	Gallo 468	Black Sugar 999	Galan 317	Salvaje 443	Capricho 228	Kadafy s/n	Bodeguero s/n	$\bar{X}$
Volumen (ml)	54	68.33	60	35	48	53.33	50	50	52.33
Concentración / ml ( $\times 10^6$ )	375.83	346.66	460	618	489	433.33	600	600	490.35
Concentración total ( $\times 10^6$ )	16,825	23,150	27,600	21,510	23,220	22,133.3	30,000	30,000	24,304
Motilidad %	76	73.33	62.5	68	77.5	76.66	70	60	70.49
Vivos %	74.5	89.16	86	79.4	78.3	90	79	65	80.17
Muertos %	25.5	10.84	14	20.6	21.7	10	21	35	19.83
Normales %	70.1	88.83	83.5	84	78.9	84.33	74	85	81.08
<b>Anormalidades</b>									
Primarias %	2.66	0.5	0	0.8	0.3	1.33	1	0	0.82
<b>Secundarias:</b>									
Colas Dobladas	7.75	7.16	4.5	4.2	7.1	7	11	9	7.21
Gota Citoplasmática	8.33	2	9.5	4.8	9	4.3	3	1	5.27
Cabezas Sueltas	2.91	2	2.5	4.4	4	3	11	6	4.47

El Cuadro 16, muestra los promedios de la motilidad postdescongelado con respecto a los dos tipos de diluyentes para congelación, en el cual se desarrolló la prueba estadística de T de Students <sup>(8)</sup> para comparación de medias con diferente número de muestras, en la cual no se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa a un nivel de significancia de  $\alpha$  0.05 ( $P < 0.05$ ).

**Cuadro 16. Prueba estadística de T de Students para los promedios de los dos tipos de diluyentes.**

Caballo y Número	Motilidad inicial del semen	Motilidad Postdescongelado con el diluyente Kenney	Motilidad Postdescongelado con el diluyente Lactosa-EDTA-Yema de huevo
Huapango 227	76.00	48.57	48.12
Gallo 468	73.33	52.50	42.77
Black Sugar 999	62.50	27.50	
Galan 317	68.00	10.00	16.00
Salvaje 443	77.50	42.85	47.14
Capricho 228	77.66	30.00	55.00
Kadafy	70.00	47.50	
Bodeguero	60.00	47.50	

El Cuadro 17, muestra los promedios de la motilidad post-descongelado de acuerdo al tipo de diluyente, observándose que para el de la Lactosa-EDTA-Yema de Huevo fué de  $41.5\% \pm 17.127\%$  y para el Kenney de  $41.538\% \pm 17.307\%$ , con una media de  $41.519\%$ .

**Cuadro 17. Tipo de diluyente en relación a la motilidad post-descongelado.**

Tipo de Diluyente	No. de Muestras	Promedio de la Motilidad Post-descongelado	Desviación Estandar
Kenney	26	41.53846	17.30718
	30	41.5	17.12782
Lactosa-EDTA-Yema de Huevo			
Total	56		
Promedio		41.51923	

Se desarrolló el análisis estadístico de las dos técnicas de congelado (Lenta 140 min. y Rápida 20 min.), con la prueba de T de Students <sup>(8)</sup> para comparación de medias con diferente número de muestras, no encontrando ninguna diferencia estadísticamente significativa a un nivel de significancia de  $\alpha$  0.05 ( $P < 0.05$ ), como se muestra en el Cuadro 18.

**Cuadro 18. Prueba estadística de T de Students para los promedios de las dos técnicas de congelación (Lenta 140 min. y Rápida 20 min.).**

Caballo y Número	Motilidad inicial del semen	Motilidad Postdescongelado al semen congelado con la Técnica Lenta (140 min.)	Motilidad Postdescongelado al semen congelado con la Técnica Rápida (20 min.)
Huapango 227	76.00	47.50	51.66
Gallo 468	73.33	49.00	20.00
Black Sugar 999	62.50	27.50	
Galan 317	68.00	11.25	5.00
Salvaje 443	77.50	45.00	45.00
Capricho 228	77.66	30.00	55.00
Kadafy	70.00	47.50	
Bodeguero	60.00	47.50	

Se registraron los siguientes promedios de la motilidad post-descongelado en relación con las técnicas de congelado en el Cuadro 19, mostrando que en la técnica lenta fué de 42.333%  $\pm$  16.905% y para la rápida de 35.833%  $\pm$  18.065% con una media de 39.083%.

**Cuadro 19. Técnica de congelación en relación a la motilidad post- descongelado**

Técnica de Congelado	No. de Muestras	Promedio de la Motilidad Post-descongelado	Desviación Estandar
Lenta 140 min.	45	42.333	16.90885
Rápida 20min.	11	35.833	18.06554
Total Promedio	56	39.083	

Se realizó una prueba de hipótesis <sup>(8)</sup> para determinar si existía una diferencia significativa entre las dos técnicas de congelado (lenta 140 min. y rápida 20 min.) (Cuadro 20), no encontrando diferencia significativa ( $P < 0.05$ ).

**Cuadro 20. Prueba de hipótesis para la técnica de congelado**

Técnica de Congelado	Motilidad Antes de Congelar	Motilidad Post-descongelado
Lenta 140 min.	74.6666	42.3333
Rápida 20 min.	78.1818	35.833

Se muestran los promedios de motilidad postdescongelado, en relación a las tres técnicas de descongelación, observando que para la técnica de 50° C/ 45 seg. el más alto fué el Huapango

227 (60%) y los más bajos fueron el Gallo 468 (25%) y Salvaje 443 (25%). En la técnica de 60° C/ 15 seg. el Salvaje 443 es el que obtuvo el mayor porcentaje de motilidad postdescongelado (54%), siendo el menor el caballo Galán 317 con una media de 18.75%; y en la técnica de 70° C/ 15 seg. el mayor porcentaje los obtuvo el Salvaje 443 con 52% de motilidad y el menor fué el Galán 317 con 12.5%

**Cuadro 21. Promedios de la motilidad postdescongelado de acuerdo a las tres técnicas de descongelado por caballo.**

Caballo y Número	Motilidad inicial del semen	Motilidad Postdescongelado con la Técnica de 50° C/ 45 seg.	Motilidad Postdescongelado con la Técnica de 60° C/ 15 seg.	Motilidad Postdescongelado con la Técnica de 70° C/ 15 seg.
Huapango 227	76.00	60.00	46.25	49.16
Gallo 468	73.33	25.00	48.00	49.00
Black Sugar 999	62.50	27.50		
Galan 317	68.00		18.75	12.50
Salvaje 443	77.50	25.00	54.00	52.00
Capricho 228	77.66	40.00	37.50	
Kadafy	70.00	47.50		
Bodeguero	60.00	47.50		

Se analizó la motilidad post-descongelado de las tres técnicas de descongelación de las cuales se muestra su promedio en el Cuadro 22. Para la técnica de 50° C/45 segundos el promedio fué de 36.153%± 12.934%; de la técnica de 60° C/ 15 segundos tuvo una media de 42.916%± 17.125% y la de 70° C /15 segundos fué de 43.421% ± 19.368%. El promedio de todas las técnicas fué de 40.83%

**Cuadro 22. Técnica de descongelado en relación a la motilidad post-descongelado**

Técnica de Descongelado	No. de Muestras	Promedio de la Motilidad Post-descongelado	Desviación Estándar
50° C/ 45 seg.	13	36.15385	12.933475
60° C/ 15 seg.	24	42.91667	17.12592
70° C/ 15 seg.	19	43.42105	19.36869
Total	56		
Promedio		40.83052	

En el Cuadro 23, se observa la prueba de independencia de  $\chi^2_{(8)}$  por comparación de medias para el análisis de las técnicas de descongelación con respecto al diluyente, en la cual el resultado no fué significativo ( $P < 0.05$ ).

**Cuadro 23. Prueba de independencia de  $\chi^2$  por comparación de medias.**

Diluyente	50° C/ 45 seg.	60° C/ 15 seg.	70° C/ 15 seg.
<b>Kenney Lactosa-EDTA-Yema de Huevo</b>	35.5 38.3333	46 42.10526	45 41.25

Se realizaron tablas de contingencia de 2x2 de  $\chi^2_{(8)}$ , para analizar la diferencia entre las tres técnicas de descongelado (50° C/45 seg; 60° C/ 15 seg. y 70° C/ 15 seg.) con respecto a los diluyentes. En ninguna de las tres pruebas, el resultado fué significativo ( $P < 0.05$ ).

## DISCUSION

En la evaluación seminal realizada a los garañones trabajados, se observó que en lo concerniente al volumen el promedio fué de 52.33 ml. que concuerda con lo reportado por Rickett S.W. en 1993 <sup>(33)</sup>, en donde menciona un rango de 50 a 100 ml.

La concentración promedio por ml. que se obtuvo fue de  $490.35 \times 10^6$  que es superior a los reportado por Jasko J.D. en 1992 <sup>(19)</sup> y Parlevliet J.M. *et al.* en 1994 <sup>(29)</sup>, donde obtuvieron  $213 \pm 127 \times 10^6$  y  $214.3 \pm 4.9 \times 10^6$  respectivamente. Por otro lado Pérez en 1985 <sup>(30)</sup>, menciona que continuamente, caballos de sangre oriental superan los  $500 \times 10^6$  y el Pura Sangre Español tiene concentraciones superiores a los  $300 \times 10^6$ , así mismo McKinnon en 1993 <sup>(25)</sup>, reportó un promedio para varias razas de  $342 \times 10^6$  con una desviación estándar de  $\pm 234 \times 10^6$ .

Con respecto a la motilidad promedio encontrada en el semen fué de 70.49%, que es similar a la reportada por Jasko J.D. *et al.* en 1992 <sup>(18)</sup> de  $70 \pm 17\%$ . La media del porcentaje de espermatozoides vivos fué de 80.17% superior a lo reportado por Rickett S.W. en 1993 <sup>(33)</sup>, donde menciona que la fertilidad normal del garañón supera el 60% de espermatozoides vivos.

Los espermatozoides normales en promedio encontrados en esta investigación fué de 81.08%, lo que hace que se consideren los garañones trabajados como fértiles, según el reporte de Rickett S.W. en 1993 <sup>(33)</sup>, mencionando que caballos con  $\geq 80\%$  de espermatozoides normales son fértiles; aunque Jasko J.D. *et al.* en 1992 <sup>(18)</sup> y Parlevliet J.M. *et al.* en 1994 <sup>(29)</sup>, encontraron porcentajes promedio de  $52.5 \pm 20.1\%$  y  $66.5 \pm 0.2\%$  respectivamente.

Al comparar los dos tipos de diluyente para congelación con respecto a la motilidad postdescongelado, se confirma lo reportado por Torres B.F. *et al.* en 1995 <sup>(35)</sup>, que comparó los diluyentes Lactosa-EDTA-Yema de Huevo y el Kenney (nombre comercial), no encontrando una diferencia significativa, al igual que en la presente investigación.

Se encontró que para las dos técnicas de congelado en relación a la motilidad postdescongelado, no hubo una diferencia significativa. Esto es similar a lo reportado por Cochoran J.D. *et al.* en 1984 <sup>(6)</sup>, donde al comparar la técnica rápida de 20 minutos y la técnica moderada de 28 minutos, no encontró una influencia significativa sobre la motilidad de los espermatozoides. Amann R.P. y Pickett B.W. en 1987 <sup>(1)</sup> lo confirma al mencionar que el porcentaje de motilidad a la descongelación no esta influenciada por la tasa de enfriamiento.

En cuanto a la técnica lenta de congelación (140 min) Bedford S.J. y colaboradores en 1995 <sup>(4)</sup>, reporta que para las características de motilidad y sobrevivencia no se afectan por la tasa de enfriamiento. De acuerdo a esto, se llegó a la conclusión de que si no existe una diferencia significativa en cuanto al uso de esta técnica para la motilidad postdescongelado; sí es favorable usar la técnica rápida, ya que se ahorra tiempo y se necesita menor equipo lo cual simplifica el procesamiento de congelación, sobre todo a nivel de campo.

En relación a la técnica de descongelado Amann R.P. y Pickett B.W. en 1987<sup>(1)</sup> recomienda que para los macrotubos (4 ml) la temperatura ideal para descongelar es de 50° C/ 40 segundos y de 60° C/ 30 segundos no influyendo sobre la motilidad del semen; así mismo Palacios A.A. y colaboradores en 1992 <sup>(28)</sup> descongeló macrotubos de 4 ml a una temperatura de 50° C/ 40 segundos, obteniendo porcentajes de motilidad (41.45±2.69%) similares a los observados en esta investigación (40.83%). No hubo diferencia significativa entre las tres técnicas de descongelación utilizadas en esta investigación, lo cual concuerda a lo realizado por Cochoran J.D. *et al.* en 1984 <sup>(6)</sup> donde comparó la técnica de 70° C/ 7 segundos con la de 37° C/ 30 segundos, no encontrando una diferencia significativa.

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación se concluye que no influyen significativamente sobre la motilidad postdescongelado el uso de los dos diluyentes trabajados de congelación, la técnica de congelación, ni las técnicas de descongelación, considerando que posiblemente la mayor influencia para esta característica está dada por el animal mismo.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda hacer más estudios relacionados a la congelación de semen de equino, puesto que está cobrando gran auge a nivel internacional y en México casi no se han hecho trabajos sobre este tema; debido a lo cual hay que realizar mayor investigación con un mayor número de muestras y disminuyendo las variables como tipo de diluyente, técnica de congelación y descongelación, edades de los caballos, razas y época del año, para poder obtener resultados más homogéneos y significativos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Amann, R.P. and Pickett, B.W. PRINCIPLES OF CRYOPRESERVATION AND A REVIEW OF CRYOPRESERVATION OF STALLION SPERMATOZOA. J. Equine Vet. Sci. 7 (3): 145-173 (1987).
2. Arthur, G.H.; Noakes, D.E. y Pearson, H. REPRODUCCION Y OBSTETRICIA VETERINARIA. Interamericana. México, D.F., 1991.
3. Bedford, S.J.; Graham, J.K.; Amann, R.P.; Squires, E.L. and Pickett, B.W. USE OF FREEZING EXTENDERS COOL STALLION SPERMATOZOA TO 5° C WITHOUT SEMINAL PLASMA. Theriogenology (43): 939-953 (1995).
4. Bedford, S.J.; Jasko, D.J.; Graham, J.K.; Amann, R.P.; Squires, E.L. and Pickett, B.W. EFFECTS OF SEMINAL EXTENDER CONTAINING EGG YOLK AND GLYCEROL ON MOTION CHARACTERISTICS AND FERTILITY OF STALLION SPERMATOZOA. Theriogenology (43): 955-967 (1995).
5. Boyle, M.S. ARTIFICIAL INSEMINATION: ASSESSING STALLION SEMEN QUALITY AFTER FREEZING. J. Equine Vet. Sci. 28 (1): 5-6 (1996).
6. Cochran, J.D.; Amann, R.P.; Froman, D.P. and Pickett, B.W. EFFECTS OF CENTRIFUGATION, GLYCEROL LEVEL, COOLING TO 5° C, FREEZING RATE AND THAWING RATE ON THE POST-THAW MOTILITY OF EQUINE SPERM. Theriogenology 22 (1): 25-38 (1984).
7. Cristanelli, M.J.; Amann, R.P.; Squires, E.L. and Pickett, B.W. EFFECTS OF EGG YOLK AND GLYCEROL LEVELS IN LACTOSA-EDTA-EGG YOLK EXTENDER AND FREEZING RATE ON THE MOTILITY OF FROZEN-THAWED STALLION SPERMATOZOA. Theriogenology 24 (6): 681-686 (1985).
8. Daniel, W.W. BIOESTADISTICA BASES PARA EL ANALISIS DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD. Limusa. 1993.
9. Ensminger, M.E. PRODUCCIÓN EQUINA. El ateneo. 2ª edi. 1975.
10. Graham, J.K. ANALYSIS OF STALLION SEMEN AND ITS RELATION TO FERTILITY. Vet. Clinics of North America: Equine Practice. 12 (1): 119-129 (1996).
11. Heffer, G. INVESTIGATION ON THE STORAGE OF FRESH STALLION SEMEN. EFFECT OF VARIOUS CENTRIFUGATION DILUENTS ON THE KEEPING PROPERTIES FRESH SEMEN. Anim. Breeding Abstr. 62 (1760) 1994.

12. Heiskaenen, M.L.; Huhtinen, M.; Pirhonen, A. and Mäenpää, P.H. INSEMINATION RESULTS WITH SLOW-COOLED STALLION SEMEN STORED FOR APPROXIMATELY 40 HOURS. Acta. Vet. Scand. 35 (3): 257-262 (1994).
13. Heiskaenen, M.L.; Huhtinen, M.; Pirhonen, A. and Mäenpää, P.H. INSEMINATION RESULTS WITH SLOW-COOLED STALLION SEMEN STORED FOR 70 OR 80 HOURS. Theriogenology 42 : 1043-1051 (1994).
14. Heitland, A.V.; Jasko, D.J.; Squires, E.L.; Graham, J.K.; Pickett, D.W. and Hamilton, C. FACTORS AFFECTING MOTION CHARACTERISTICS OF FROZEN-THAWED STALLION SPERMATOZOA. J. Equine. Vet. Sci. 28 (1): 47-53 (1996).
15. Hermetet, M.J.; Sawter,, H.R.; Pickett, B.W.; Amann, R.P.; Squires, E.L: and Long, P.L. EFFECTS OF STAIN, TECHNICIAN, NUMBER OF SPERMATOZOA EVALUATED AND SLIDE PREPARATION ON ASSESSMENT OF SPERMATOZOA VIABILITY BY LIGHT MICROSCOPY. J. Equine Vet. Sci. 13 (8): 449-455 (1993).
16. Hurtgen, P.J. EVALUATION OF THE STALLION FOR BREEDING SOUNDNESS. Vet. Clinics of North America: Equine Practice. 8 (1): 149-165 (1992).
17. Jasko, D.J.; Hathaway, J.A.; Schalterbrand, V.L.; Simper; W.D. and Squires, E.L. EFFECTS OF SEMINAL PLASMA AND EGG YOLK ON MOTION CHARACTERISTICS OF COOLED STALLION SPERMATOZOA. Theriogenology (1992).
18. Jasko, D.J.; Little, T.V; Lein, L.H. and Foote, R.H. COMPARISON OF SPERMATOZOAL MOVEMENT AND SEMEN CHARACTERISTICS WITH FERTILITY IN STALLION: 64 CASES (1987-1988). J. of the American Vet. Med. Ass. 200 (7): 979-985 (1992).
19. Jasko, J.D. EVALUATION OF THE STALLION SEMEN. Vet. Clinics of North America: Equine Practice. 8 (1): 129-147 (1992).
20. Keyser, J.P.; Amann; R.P.; Shideler; R.K.; Squires, E.L.; Jasko, D.J. and Pickett, B.W. EFFECTS OF LINEAR COOLING RATE ON MOTIONS CHARACTERISTICS OF STALLION SPERMATOZOA. Theriogenology 38: 601-614 (1992).
21. Lofstedt, R.M. CONTROL DEL CICLO ESTRAL EN LA YEGUA. Vet. Clinics of North America: Equine Practice. Intermedica. Buenos Aires, Argentina. 1993.
22. Love, C.C. SEMEN COLLECTION TECHNIQUES. Vet. Clinics of North America: Equine Practice. 8 (1): 111-128 (1992).

23. Love, C.C.; Loch, W.L.; Bristol, I.F.; García, M.C. and Kenney, R.M. COMPARISON OF PREGNANCY RATES ACHIEVED WITH FROZEN SEMEN USING TWO PACKAGING METHODS. Theriogenology 31 (3): 613-622 (1989).
24. Malmgren, L.; Op den Kamp, B.; Wöckener, A; Boyle, M. and Colenbrander, B. MOTILITY, VELOCITY, AND ACROSOME INTEGRITY OF EQUINE SPERMATOZOA STORED UNDER DIFFERENT CONDITIONS. Reprod. Dom. Anim. 29 :469-476 (1994).
25. McDowell, K. REPRODUCTION REPORT. J. Equine Vet. Sci. 13 (8): 446-448 (1993).
26. McKinnon, A.O. and Voss, J.L. EQUINE REPRODUCTION. Lea & Febiger. U.S.A. 1993.
27. Palacios, A.A. ASPECTOS FISIOLÓGICOS A CERCA DEL CONGELAMIENTO DE SEMEN. Vet. Méx. 25 (3): 207-209 (1994).
28. Palacios, A.A.; Valencia, J.M. y Zarco, L.Q. EFECTOS DEL SISTEMA DE ENVASADO Y LA CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA SOBRE EL DAÑO ACROSOMAL Y LA MOTILIDAD POST-DESCONGELADO DEL SEMEN DE EQUINO. Vet. Mex. 23 (4): 315-318 (1992).
29. Parlevliet, J.M.; Kemp, B. and Colenbrander, B. REPRODUCTIVE CHARACTERISTICS AND SEMEN QUALITY IN MAIDEN DUTCH WARBLOOD STALLION. J. Reprod. and Fertility. 101: 183-189 (1994).
30. Pérez y Pérez. REPRODUCCIÓN ANIMAL, INSEMINACIÓN ARTIFICIAL Y TRANSFERENCIA DE EMBRIONES. Científica Medica. Madrid, Esp. 1985.
31. Pickett, B.W. and Shiner, K.A. RECENT DEVELOPMENTS IN ARTIFICIAL INSEMINATION IN HORSES. Livestock Prodc. Sci. 40: 31-36 (1994).
32. Pickett, B.W.; Squires, E.L. and MacKinnon, A.O. PROCEDUES FOR COLLETION, EVALUATION AND UTILIZATION OF STALLION SEMEN FOR ARTIFICIAL INSEMINATION. Colorado State University. September 1987.
33. Ricketts, S.W. EVALUATION OF STALLION SEMEN. Equine Vet. Educ. 5 (5): 232-237 (1993).
34. Samper, J.C. and Crabo, B.G. ASSAY OF CAPACITATED, FREEZE-DAMAGED AND EXTENDER STALLION SPERMATOZOA BY FILTRATION. Theriogenology 39: 1209-1220 (1993).
35. Torres, B.F.; Sato, K.; Oka, A.; Kanno, Y.; Hochi, S.; Oguri, N. and Braun, J. RELATIONSHIP AMONG SEMINAL CHARACTERISTICS, FERTILITY AND SUITABILITY FOR SEMEN PRESERVATION IN DRAFT STALLION. J. Vet. Med. Sci. 57 (2): 225-229 (1995).

36. Webb, G.W.; Arns, M.J. and Pool, K.C. SPERM CONCENTRATION INFLUENCES RECOVERY OF PROGRESSIVELY MOTILE SPERMATOZOA AND NUMBER OF INSEMINATION SHIPPED IN CONVENTIONAL CONTAINERS. J. Equine Vet. Sci. 13 (9): 486-489 (1993).

EVALUACIÓN SEMINAL DE LOS GARAÑONES TRABAJADOS

No.	Fecha	Volumen ml	[ ] / ml	Motilidad %	Vivos %	Muertos %	Normales %	Anormalidades			
								1as %	2as (%) Colas D. Gota C. Cabeza S.		
227	17/09/97	40	390	70	0	100	88	1	9	0	2
	28/10/97	90	240	80	0	100	93	0	5	0	2
	13/10/97	50	540	70	0	100	93	1	3	1	2
	13/10/97	50	620	70	0	100	93	1	3	1	2
	24/11/97	80	330	80	90	10	71	0	6	19	4
	27/11/97	60	210	75	40	60	74	7	9	4	6
	15/12/97	40	360	70	91	9	78	1	11	6	4
	16/12/97	110	180	70	85	15	73	1	10	13	3
	12/01/98	10	840	80	76	24	62	1	11	21	5
	12/01/98	10	840	80	76	24	62	1	11	21	5
	13/01/98	25	420	90	64	36	59	1	17	22	1
	13/01/98	25	420	90	64	36	59	1	17	22	1
	14/01/98	20	240	90	90	10	84	0	2	11	3
	14/01/98	20	240	90	90	10	84	0	2	11	3
	15/01/98	70	140	70	80	20	90	0	7	2	1
	15/01/98	70	140	70	80	20	90	0	7	2	1
Promedio 468		54	375,8333	76	51,33333	48,5	70,08333	2,666667	7,75	8,333333	2,916667
468	15/12/97	20	510	80	92	8	94	0	6	0	0
	16/12/97	50	180	60	88	12	86	1	9	2	5
	12/01/98	70	540	70	92	8	84	0	9	6	1
	12/01/98	70	540	70	92	8	84	0	9	6	1
	13/01/98	110	440	80	91	9	92	1	4	2	1
	13/01/98	110	440	80	91	9	92	1	4	2	1
	13/01/98	110	440	80	91	9	92	1	4	2	1
	14/01/98	90	240	80	90	10	88	0	9	0	3
	14/01/98	90	240	80	90	10	88	0	9	0	3
	14/01/98	90	240	80	90	10	88	0	9	0	3
	15/01/98	70	170	70	82	18	89	1	6	2	2
Promedio 999		68,33333	346,6667	73,33333	89,16667	10,83333	88,83333	0,5	7,166667	2	2
999	24/09/97	60	500	60	82	18	71	0	7	19	3
	30/10/97	60	420	65	90	10	96	0	2	0	2
Promedio		60	460	62,5	86	14	83,5	0	4,5	9,5	2,5

1-11

EVALUACIÓN SEMINAL DE LOS GARAÑONES TRABAJADOS

No.	Fecha	Volumen ml	[ ] / ml	Motilidad %	Vivos %	Muertos %	Normales %	Anormalidades			
								1as %	2as (%)	Colas D.	Gota C.
317	15/12/97	60	390	60	75	25	81	1	3	6	9
	16/12/97	20	270	70	83	17	82	1	5	7	5
	12/01/98	60	900	70	69	31	82	1	4	2	2
	13/01/98	25	630	60	80	20	90	1	4	2	3
	15/01/98	10	900	80	90	10	85	0	5	7	3
	15/01/98	10	900	80	90	10	85	0	5	7	3
	15/01/98	10	900	80	90	10	85	0	5	7	3
Promedio		35	618	68	79,4	20,6	84	0,8	4,2	4,8	4,4
443	10/09/97	50	810	70	60	40	91	1	3	0	5
	24/09/97	40	750	70	0	100	88	0	5	3	4
	13/10/97	40	550	80	66	34	82	2	6	2	1
	24/11/97	40	210	75	80	20	70	0	11	15	4
	27/11/97	60	330	70	91	9	72	0	12	13	3
	15/12/97	60	360	70	82	18	71	0	7	19	3
	16/12/97	70	330	80	94	6	81	0	9	3	7
	13/01/98	20	450	80	80	20	62	0	7	25	6
	13/01/98	20	450	80	80	20	62	0	7	25	6
	13/01/98	20	450	80	80	20	62	0	7	25	6
	13/01/98	20	450	80	80	20	62	0	7	25	6
	14/01/98	60	690	90	73	27	85	0	7	6	2
	15/01/98	40	410	90	82	18	87	0	4	4	5
	15/01/98	40	410	90	82	18	87	0	4	4	5
Promedio		48	489	77,5	70,8	29,2	78,9	0,3	7,1	9	4
228	24/09/97	40	580	70	85	15	82	2	9	3	4
	16/12/97	60	330	80	93	7	88	0	4	6	2
	15/01/98	60	390	80	92	8	83	2	8	4	3
	15/01/98	60	390	80	92	8	83	2	8	4	3
Promedio		53,33333	433,3333	76,66667	90	10	84,33333	1,333333	7	4,333333	3
Kadafi	22/10/97	50	600	70	79	21	74	1	11	3	11
	22/10/97	50	600	70	79	21	74	1	11	3	11
Promedio		50	600	70	79	21	74	1	11	3	11

EVALUACIÓN SEMINAL DE LOS GARAÑONES TRABAJADOS

No.	Fecha	Volumen ml	[ ] / ml	Motilidad %	Vivos %	Muertos %	Normales %	1as %	Anormalidades		
									Colas D.	2as (%) Gota C.	Cabeza S.
Bodeguero	22/10/97	50	600	60	65	35	85	0	8	1	6
	22/10/97	50	600	60	65	35	85	0	8	1	6
Promedio		50	600	60	65	35	85	0	8	1	6

**CUADROS DE RESULTADOS DEL DILUYENTE KENNEY**

No. Caballo	Fecha	Diluyente	T. de C.	Técnica de Descongelado			M.P.D. %
				50/45	60/15	70/15	
227	17/09/97	Kenney	N			X	20
	28/10/97	Kenney	N			X	60
	13/10/97	Kenney	N			X	50
	13/10/97	Kenney	R			X	50
	24/11/97	Kenney	N		X		45
	15/12/97	Kenney	N			X	65
	16/12/97	Kenney	N		X		50
468	15/12/97	Kenney	N			X	60
	16/12/97	Kenney	N		X		55
999	24/09/97	Kenney	N	X			25
	30/10/97	Kenney	N	X			30
317	15/12/97	Kenney	N			X	10
	16/12/97	Kenney	N			X	10
443	10/09/97	Kenney	N	X			20
	24/09/97	Kenney	N	X			20
	13/10/97	Kenney	R			X	50
	24/11/97	Kenney	N	X			30
	27/11/97	Kenney	N		X		60
	15/12/97	Kenney	N			X	70
	16/12/97	Kenney	N			X	50
228	24/09/97	Kenney	N	X			40
	16/12/97	Kenney	N		X		20
Kadafi	22/10/97	Kenney	N	X			50
	22/10/97	Kenney	N	X			45
Bodeguero	22/10/97	Kenney	N	X			50
	22/10/97	Kenney	N	X			45
Total							26
Promedio				38,21429	46	45	41,53846
Desviación standar							17,30718
Varianza							299,5385



Motilidad por la tecnica de descongelado de 70/15

No	fecha	Diluyente	T. de C.	M.P.D.
<b>Caballo</b>				
227	17/09/97	Kenney	N	20
	28/10/97	Kenney	N	60
	13/10/97	Kenney	N	50
	13/10/97	Kenney	R	50
	15/12/97	Kenney	N	65
	12/01/98	L-EDTA- YH	N	50
468	15/12/97	Kenney	N	60
	12/01/98	L-EDTA- YH	N	60
	12/01/98	L-EDTA- YH	N	45
	13/01/98	L-EDTA- YH	N	50
	13/01/98	L-EDTA- YH	N	30
317	15/12/97	Kenney	N	10
	16/12/97	Kenney	N	10
	15/01/98	L-EDTA- YH	R	5
443	13/10/97	Kenney	N	50
	15/12/97	Kenney	N	70
	16/12/97	Kenney	N	50
	13/01/98	L-EDTA- YH	N	40
	13/01/98	L-EDTA- YH	N	50
Promedio				43,42105
Total				19
Desviación standar				19,36869
Varianza				375,1462
Kenney				45
L-EDTA-YH				41,25

Motilidad por la técnica de descongelado de 50/45

No.	fecha	Diluyente	T. de C.	M.P.D.
<b>Caballo</b>				
999	30/10/97	Kenney	N	30
	24/09/97	Kenney	N	25
443	10/09/97	Kenney	N	20
	24/09/97	Kenney	N	20
	24/11/97	Kenney	N	30
	13/01/98	L-EDTA- YH	N	30
228	24/09/97	Kenney	N	40
Kadafi	22/10/97	Kenney	N	50
	22/10/97	Kenney	N	45
Bodeguero	22/10/97	Kenney	N	50
	22/10/97	Kenney	N	45
227	12/01/98	L-EDTA- YH	N	60
468	13/01/98	L-EDTA- YH	N	25
Total				13
Promedio				36,15385
Desviación standar				12,93475
Varianza				167,3077
Kenney				35,5
L-EDTA-YH				38,33333

Motilidad por la tecnica de descongelado de 60/15

No.	fecha	Diluyente	T. de C.	M.P.D.
<b>Caballo</b>				
227	24/11/97	Kenney	N	45
	16/12/97	Kenney	N	50
	13/01/98	L-EDTA- YH	N	50
	13/01/98	L-EDTA- YH	N	20
	14/01/98	L-EDTA- YH	N	50
	14/01/98	L-EDTA- YH	N	50
	15/01/98	L-EDTA- YH	R	60
	15/01/98	L-EDTA- YH	R	45
468	16/12/97	Kenney	N	55
	14/01/98	L-EDTA- YH	N	55
	14/01/98	L-EDTA- YH	N	55
	14/01/98	L-EDTA- YH	N	55
	15/01/98	L-EDTA- YH	R	20
443	27/11/97	Kenney	N	60
	13/01/98	L-EDTA- YH	N	65
	14/01/98	L-EDTA- YH	N	60
	15/01/98	L-EDTA- YH	R	55
	15/01/98	L-EDTA- YH	R	30
228	16/12/97	Kenney	N	20
	15/01/98	L-EDTA- YH	R	55
317	12/01/98	L-EDTA- YH	N	10
	13/01/98	L-EDTA- YH	N	15
	15/01/98	L-EDTA- YH	R	20
	15/01/98	L-EDTA- YH	R	30
Promedio				42,91667
Total				24
Desviación standar				17,12592
Varianza				293,2971
Kenney				46
L-EDTA-YH				42,10526

Motilidad posdescongelado por la técnica de congelado rápida (R)

No.	Fecha	Diluyente	Técnica de Descongelado			M.P.D.
			50/45	60/15	70/15	%
<b>Caballo</b>						
227	13/10/97	Kenney			X	50
	15/01/98	L-EDTA- YH		X		60
	15/01/98	L-EDTA- YH		X		45
468	15/01/98	L-EDTA- YH		X		20
317	15/01/98	L-EDTA- YH			X	5
	15/01/98	L-EDTA- YH		X		20
	15/01/98	L-EDTA- YH		X		30
443	13/10/97	Kenney			X	50
	15/01/98	L-EDTA- YH		X		55
	15/01/98	L-EDTA- YH		X		30
228	15/01/98	L-EDTA- YH		X		55
Total						11
Promedio			0	40,55556	35	35,91667
Desviación standar						18,06554
Varianza						326,3636

Motilidad posdescongelado por la técnica de congelado lenta (L)

No. Caballo	Fecha	Diluyente	Técnica de Descongelado			M.P.D. %	
			50/45	60/15	70/15		
227	17/09/97	Kenney			X	20	
	28/10/97	Kenney			X	60	
	13/10/97	Kenney			X	50	
	24/11/97	Kenney		X		45	
	15/12/97	Kenney			X	65	
	16/12/97	Kenney		X		50	
	12/01/98	L-EDTA- YH	X			60	
	12/01/98	L-EDTA- YH			X	50	
	13/01/98	L-EDTA- YH		X		50	
	13/01/98	L-EDTA- YH		X		20	
	14/01/98	L-EDTA- YH		X		50	
	14/01/98	L-EDTA- YH		X		50	
	468	15/12/97	Kenney			X	60
		16/12/97	Kenney		X		55
12/01/98		L-EDTA- YH			X	60	
12/01/98		L-EDTA- YH			X	45	
13/01/98		L-EDTA- YH			X	50	
13/01/98		L-EDTA- YH			X	30	
13/01/98		L-EDTA- YH	X			25	
14/01/98		L-EDTA- YH		X		55	
14/01/98		L-EDTA- YH		X		55	
14/01/98		L-EDTA- YH		X		55	
999	24/09/97	Kenney	X			25	
	30/10/97	Kenney	X			30	
317	15/12/97	Kenney			X	10	
	16/12/97	Kenney			X	10	
	12/01/98	L-EDTA- YH		X		10	
	13/01/98	L-EDTA- YH		X		15	
443	10/09/97	Kenney	X			20	
	24/09/97	Kenney	X			20	
	24/11/97	Kenney	X			30	
	27/11/97	Kenney		X		60	
	15/12/97	Kenney			X	70	
	16/12/97	Kenney			X	50	
	13/01/98	L-EDTA- YH			X	40	
	13/01/98	L-EDTA- YH			X	50	
	13/01/98	L-EDTA- YH	X			30	
	13/01/98	L-EDTA- YH		X		65	
228	14/01/98	L-EDTA- YH		X		60	
	24/09/97	Kenney	X			40	
Kadafi	16/12/97	Kenney		X		20	
	22/10/97	Kenney	X			50	
Bodeguero	22/10/97	Kenney	X			45	
	22/10/97	Kenney	X			50	
Promedio			36,15385	44,6875	45	42,33333	
	Total					45	
	Desviación standar					16,90885	
	Varianza					285,9091	

Motilidad posdescongelado por la técnica de congelado lenta (L)

No. Caballo	Fecha	Diluyente	Técnica de Descongelado			M.P.D.
			50/45	60/15	70/15	%
227	12/01/98	L-EDTA-YH			X	50
	13/01/98	L-EDTA-YH		X		50
	13/01/98	L-EDTA-YH		X		20
	14/01/98	L-EDTA-YH		X		50
468	14/01/98	L-EDTA-YH		X		55
	14/01/98	L-EDTA-YH		X		55
	14/01/98	L-EDTA-YH		X		55
317	12/01/98	L-EDTA-YH		X		10
	13/01/98	L-EDTA-YH		X		15
443	13/01/98	L-EDTA-YH		X		65
	14/01/98	L-EDTA-YH		X		60
Total						11
Promedio						44,09091
Desviación standar						19,34143
Varianza						374,0909