

MANUAL DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL PARA LA OPERATIVIDAD DE SEMEN CONGELADO EN YEGUAS (*Equss caballus*) DEL CRIADERO MILITAR DE GANADO SANTA GERTRUDIS CHIHUAHUA

Olguín R.O.¹; Esquivel V.R.²

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue la elaboración de un manual operativo que describa la técnica de inseminación artificial en yeguas del Criadero Militar de Ganado Santa Gertrudis, Chihuahua; así mismo describiendo a la vez el tratamiento y manejo del semen congelado, utilizado para la inseminación artificial. El manual se baso en el manejo con sementales y yeguas en estabulación de la raza Pura Sangre Inglés y Warmblood clínicamente sanos en etapa reproductiva. La información de este manual es resultado de la observación y registro sistemático de las rutinas de manejo de la inseminación artificial en este criadero, mismos que fueron contrastados y complementados con información encontrada en literatura especializada en el tema, sobre la metodología a seguir en el desarrollo de una inseminación artificial en yeguas, así como el procesamiento, manejo y uso de semen congelado de garañones. El manual ayudará a tener un panorama más claro sobre la manipulación de semen congelado reduciendo tiempo y malos manejos en su manipulación, mejorando además la eficiencia en la fertilidad y en el uso de los recursos necesarios para llevar a cabo una inseminación, en el momento más preciso posible, logrando así una gestación y un aumento en las tasas de concepción por servicio.

Palabras clave: metodología, procesamiento, manipulación.

¹ Autor de la Tesis profesional que presenta como requisito parcial para obtener el título de Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo.

² Profesor investigador de tiempo completo del departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo.

**ARTIFICIAL INSEMINATION MANUAL FOR THE OPERATION OF SEMEN
FROZEN IN MARES (*Equss caballus*) OF MILITARY BREEDING CATTLE
SANTA GERTRUDIS CHIHUAHUA**

Olguín R.O.¹; Esquivel V.R.²

SUMARY

The aim of this work was the writting of on operative manual describing the artificial insemination technique in mares from the Santa Gertrudis Chihuahua militare cattle breeding. This manual also discrib the management and treatment of frozen semen and was based on handling stallions and mares of Englis pure breed and Warmblood. Information was gathering by handling routine artificial inseminacion and from specialized scientific literature. This manual will help to have a clear point of view about the handling of frozen semen reducing time and mismanagement, as well as, improving fertility.

Key Words: methodology, processing, manipulation

¹ Author of professional thesis presented as partial requirement for the degree in Agricultural Engineering Specialist in Animal Science. Autonomous University Chapingo.

² Full-time Research Professor Department of Animal Science. Autonomous University Chapingo.

INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) se practica en numerosos mamíferos, incluyendo seres humanos, especies de interés zootécnico y especies zoológicas exóticas. Tiene una larga historia iniciando con caballos árabes, sin embargo la primera inseminación se realizó en el siglo XIV. El desarrollo significativo de la técnica se produjo hasta finales del siglo XIX. La investigación se llevó a cabo principalmente en caballos y perros, siendo la primera aplicación comercial en caballos en Rusia a finales del siglo XIX. El reciente aumento del interés por la IA equina durante los últimos 15 años ha sido un reflejo del aumento en el número de caballos, junto con el ocio en desarrollo de gente interesada en montar a caballo y la obtención de ventajas económicas de la IA (Perry, 1968).

La IA como técnica reproductiva se desarrolla de forma comercial primero en bovinos de leche en sistema intensivo a mitad del siglo pasado y a partir de esta especie se ha ido extendiendo al resto de las especies zootécnicas. Durante los últimos 15 años se inseminan más yeguas, aunque no se llegan a alcanzar los porcentajes de uso que se observan en bovinos. Sin embargo, hoy en día esta técnica reproductiva, que tiene una reconocida capacidad en la mejora zootécnica y en el control sanitario. La técnica es cada vez más aceptada por los ganaderos y su empleo se está extendiendo en más razas de caballos (Galina y Valencia, 2008).

La IA consiste en la colección de semen procedente de un garañón, por lo general de un valor genético superior, seguido por la introducción de ese semen en el cuerpo del útero de una hembra sexualmente receptiva en el momento de la ovulación, con el fin de dar lugar a la fertilización.

La técnica tiene muchas ventajas, como el mejoramiento genético, mejor aprovechamiento del garañón, ayuda a mejorar la fertilidad, reduce el riesgo de transmisión de enfermedades, facilita los programas de selección y nos permite poder disponer de esperma de buena calidad evitando riesgos, así como gastos en transporte de los sementales (Galina y Valencia, 2008).

El criadero militar de ganado Santa Gertrudis se ha dedicado a la producción de caballos Pura Sangre Inglés (PSI) y Warmblood (WB) desde hace varias décadas realizando día a día mejoras en el área reproductiva mediante la técnica de IA, produciendo sementales y yeguas con un alto valor genético para la función zootécnica de deportes ecuestres a nivel internacional, así mismo el criadero preocupado por las necesidades del campo mexicano y haciendo uso del conocimiento reproductivo de los équidos, se ha dedicado a la producción de híbridos y asnos como una fuerza de tracción, para cumplir las diferentes faenas del campo en poblaciones marginadas de nuestro país, mediante donación de los mismos.

El objetivo del manual operativo es que describa la técnica de inseminación artificial en yeguas utilizando semen congelado, así como la descripción, tratamiento y manejo del mismo en el Criadero Militar de Ganado Santa Gertrudis Chihuahua.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en el criadero militar de ganado no. 2, con matriz en Santa Gertrudis Chihuahua, cuenta con una superficie de 149,590 hectáreas. Se localiza en la parte meridional de dicho estado a los 27° 47' de latitud norte, 105° 43' de longitud oeste y 1402 msnm, entre el río San Pedro y río Conchos (Figura 1).



Figura 1. Imagen satelital del criadero militar de ganado Santa Gertrudis Chihuahua.

El clima es extremoso las temperaturas medias van de los 0°C en el invierno y superiores a los 40°C en el verano, es semidesértico y con escasez de lluvias en todas las épocas del año, cuenta con régimen pluviométrico entre los 100 y 200 mm anuales (García, 1981). El pastizal corresponde al tipo matorral halófito con presencia de zacates como navajitas (*Bouteloa sp*), toboso (*Ilaria sp*) y arbustivas como el mezquite, mariola y largoncillo de los géneros *Acacia sp.* y *Prosopis sp.*

El manual se basó en el manejo con sementales y yeguas en estabulación de la raza Pura Sangre Inglés (P.S.I.) y Warmblood (W.B.) clínicamente sanos en etapa reproductiva.

Las yeguas son monitoreadas diariamente siguiendo su desarrollo folicular, buscando que la inseminación artificial con semen congelado se llevara a cabo antes de la ovulación, optimizando el número de servicios por concepción.

La información de este manual es resultado de la observación y registro sistemático de las rutinas de manejo, de la inseminación artificial en este criadero, mismos que fueron contrastados y complementados con información encontrada en literatura especializada en el tema, sobre la metodología a seguir en el desarrollo de una inseminación artificial en yeguas, así como el procesamiento, manejo y uso de semen congelado de garañones.

Las imágenes que describen los diferentes procedimientos llevados a cabo en el manual y el diferente material utilizado fueron tomadas mediante fotografías en el mismo criadero.

Procedimientos de Colección de semen

Después de la excitación y la limpieza del pene al semental se le debe permitir el enfoque del domi o yegua (Figura 2a). El procedimiento de colección con yegua o domi es muy similar, solo que pueden requerirse menos manejadores con el domi. Es indispensable que empezando el momento de colección, tanto el manejador como el colector estén colocados del mismo lado del semental (Figura 2b). La colocación de todos los manejadores en el mismo lado cuando se utiliza una yegua ayudará a reducir un accidente en caso de que sucedan problemas con el procedimiento, ya que tanto la cabeza de la yegua como la del semental serán tirados al mismo lado del colector haciendo que los cuartos traseros de la yegua y semental se separen unos de otros, así como del colector.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 1. Sucesión de eventos en la colección de semen con domi: a) enfoque del semental al domi, b) manejadores del mismo lado del semental antes de la colección, c) retracción del pene hacia la VA, d) colocación de vagina a 25° aproximadamente sobre la horizontal, e) colocación en forma vertical de la VA con el semen colectado.

Una vez que el semental enfocó el domi y está listo para montar se le debe permitir hacerlo con la más mínima interferencia, la interferencia excesiva durante el momento previo de introducción de la vagina artificial (VA) puede reducir la libido o distraer al semental; enseguida de que monta se le debe permitir un poco de tiempo para que se estabilice ya sea en la yegua o domi. La cantidad de tiempo no debe ser demasiado largo y el colector debe estar listo para desviar el pene para evitar que sea introducido en la vagina o sufra lesiones con el domi.

El colector a continuación da unos pasos hacia adelante y desvía el pene hacia la entrada de la VA (Figura 2c). Una vez que la VA se ha colocado sobre el pene, el lubricante, calor y la presión deben estimular la eyaculación. Puede ser necesario debido al tamaño del semental y al empuje sobre la VA reducir o aumentar la presión inyectando o permitiendo que escape un poco de aire, esto es más frecuente con sementales nuevos, a los cuales no se les tiene una presión determinada (Revell y Glossop, 1985).

Durante el empuje y la posterior eyaculación, la VA debe ser inclinada en un ángulo de aproximadamente 25 ° con la horizontal, lo que equivale al ángulo natural de la vagina de la yegua a la altura del anca (Figura 2d), una mano debe sostener el mango de la VA, mientras que el otro apoya desde abajo. El éxito de la eyaculación es normalmente marcado por la contracción del ano, puede ser precisada deslizando la mano de apoyo hasta la base del pene para sentir las contracciones rítmicas de la uretra a lo largo de la parte ventral del pene; una vez que se ha comprobado la eyaculación, el extremo distal de la VA debe irse inclinando verticalmente para facilitar el paso del eyaculado hacia el bote colector. La VA debe permanecer en el pene el mayor tiempo posible para garantizar la colección máxima de la eyaculación.

Tan pronto como la VA sea retirada del pene y se haya confirmado la eyaculación, el colector debe alejarse del semental poniendo la vagina en forma vertical (Figura 2e) y colocándola lejos de la luz solar. El tapón de llenado debe ser desatornillado para permitir que el agua drene reduciendo la presión y permitiendo que el semen fluya hacia el recipiente. Una vez que todo el semen se tiene en el recipiente debe ser llevado a laboratorio para su evaluación protegiéndolo de la luz solar (Parlevliet *et al.*, 1994).

Almacenamiento y transporte de semen

Las principales ventajas de la utilización de la inseminación artificial son el potencial del transporte de semen en todo el mundo evitando restricciones geográficas y tener la capacidad de mantener almacenado el semen para el momento que tenga que ser utilizado. Para la inseminación, el semen es normalmente disponible ya sea fresco, refrigerado o congelado y su método de procesamiento determina su esperanza de vida potencial.

El almacenamiento va depender del tipo de semen que se tenga disponible, si es semen congelado se encuentra almacenado en pajillas o popotes y un semen que será utilizado refrigerado será transportado en equitainer.

Extensor para su uso con semen congelado

Los extensores de la criopreservación de semen equino se componen de mezclas diversas de yema de huevo, leche, azúcares, electrolitos, antibióticos y glicerol (Cuadro 1).

La preparación para criopreservación de semen implica el uso de dos extensores (Varner *et al.*, 1987) en un proceso de diluyente doble: un extender primario para una dilución inicial que es utilizado en la centrifugación antes de la adición de un extender secundario para la congelación

La función principal de un extender primario no solo es mantener la movilidad, sino que también actúa para proteger a los espermatozoides durante el proceso de centrifugación.

Muchos de los extender secundarios son similares a los extender primarios pero con la finalidad de proteger a los espermatozoides del golpe de frío, por lo cual la adición de un crioprotector es necesaria. Estos extensores secundarios pueden ser utilizados de forma aislada sin centrifugación previa, o utilizados después de la centrifugación. Después de la centrifugación es utilizado normalmente el extensor secundario (Heffe, 1993)

Cuadro 1. Formula de extender para la criopreservación de semen equino.

Componente	Cantidad
Sacarosa	7.0 g
Glucosa	0.9 g
Leche descremada	2.4 g
Yema de huevo	4.0 ml
Glicerol	3.5 ml
Agua destilada	100 ml

Criopreservación de semen

Este proceso detiene los procesos metabólicos de los espermatozoides, lo que permite (en teoría) el almacenamiento por tiempo indefinido sin pérdida significativa de la capacidad de fertilización.

La criopreservación de semen implica el almacenamiento de los espermatozoides a temperaturas bajo cero. El criógeno utilizado normalmente para esta tarea es el nitrógeno líquido (-196 °C). Si los espermatozoides soportan el proceso de congelación y descongelación, la integridad del espermatozoide se puede mantener indefinidamente en nitrógeno líquido, ya que la actividad metabólica de los espermatozoides se considera insignificante a esta temperatura (Moran *et al.*, 1992).

Para llevar a cabo la criopreservación se toma en cuenta el siguiente protocolo:

- Colectar el semen de la forma habitual.
- Cuantificar el volumen del eyaculado.
- Realizar la evaluación de motilidad con una gota del eyaculado en el microscopio.
- Diluir en la cubeta del espectrofotómetro: 0.25 mL. de eyaculado y 3 mL. de Solución Salina Fisiológica (SSF).

El espectrofotómetro debe haberse calibrado previamente quedando de la siguiente forma:

1º Transmitancia	0.0	sin la cubeta y cerrado
2º Absorvancia	0	con la cubeta cargada con 3 mL. de SSF
3º Concentrancia	0	con la cubeta cargada con 3 mL. de SSF
4º Factor	2.10	con la cubeta cargada con 3 mL. de SSF
5º Transmitancia	100	con la cubeta cargada con 3 mL. de SSF

- Realizar la lectura del espectrofotómetro. Si la lectura es por debajo de 0.5 se pone en la cubeta del espectrofotómetro el doble de eyaculado (0.5 mL) y 2.75 mL. de SSF, con el objeto de que siempre quede en la cubeta 3.25 mL.
- Habiendo realizado la lectura en el espectrofotómetro, la cantidad representa los millones de espermatozoides que existen en un mililitro. Por lo que se multiplica la lectura por el volumen de eyaculado obtenido y se tendrá el total

de espermatozoides en el eyaculado completo. Con esto se puede calcular el número de popotes que vamos a congelar realizando la siguiente operación:

$$\# \text{ popotes} = \frac{(\text{concentracion espermática por litro})(\text{volumen del eyaculado})(\text{porcentaje de motilidad})(0.9)}{600 \text{ millones de espermatozoides por popote}}$$

Número de popotes a congelar:

- Se procede a la centrifugación, colocándose un colchón del extender de congelación pero sin glicerol en cada una de las cubetas de la centrífuga.
- Habiendo terminado la centrifugación se reconstituye el paquete espermático con extender de congelación al volumen de los popotes que vayamos a congelar que nos resultó en la fórmula anterior.
- Se colocan los popotes ya identificados y cargados con el semen a una congelación lenta en vapor de nitrógeno a 1 pulgada del nivel del mismo, durante 15 minutos aproximadamente.
- Posteriormente se sumergen los popotes en el nitrógeno líquido durante por lo menos 10 minutos más y entonces se puede evaluar una muestra, con el proceso de descongelación.

Descongelación

La tasa de descongelación puede ser manipulada por varios factores, incluyendo la temperatura y la naturaleza del medio ambiente y la conductividad térmica de los envases (Loomis *et al.*, 1983).

El método más fácil para descongelar el semen es colocar la pajilla o popote en un baño de agua caliente. La temperatura elegida para el baño de agua depende de la velocidad deseada del calentamiento y las especificaciones del proveedor del semen en caso que sea comprado (Martin *et al.*, 1979).

Para el proceso de congelación descrito anteriormente, la descongelación de semen se llevara acabo de la siguiente manera:

- Para semen criopreservado en popote: será extraído del termo rápidamente y puesto en baño maría a una temperatura de 50 °C durante 45 segundos. Evaluando posteriormente la motilidad.
- Para semen criopreservado en pajilla: será extraída rápidamente del termo y sumergirla en baño maría a una temperatura de 37 °C durante 15 segundos. Evaluando posteriormente la motilidad.

Manipulación del ciclo estral

Se considera al equino como una especie poliéstrica estacional, fototrópica positiva, por lo que la estación reproductiva se manifiesta en primavera y durante el verano. Generalmente después del anestro invernal, las yeguas entran en un periodo de transición caracterizado por una actividad cíclica errática antes de ingresar al periodo de actividad sexual regular y fértil (Galina *et al.*, 2008). Este periodo de transición es sumamente variable entre los individuos tanto en características como en duración. Este es un periodo que coincide con el comienzo de la temporada de servicios impuesta en forma arbitraria por las asociaciones de cría, por lo que muchas veces genera frustraciones en los propietarios de las yeguas que se quieran servir en forma temprana para obtener una ventaja ya sea comercial o de edad sobre el resto de la generación.

Por lo tanto, se debe hacer un esfuerzo por controlar el periodo reproductivo de las yeguas para tratar que las mismas ciclen lo más temprano posible durante los meses de Febrero y Marzo.

Los siguientes métodos son utilizados actualmente para inducir una actividad sexual fértil en las yeguas:

1. **Luz artificial:** es sabido desde los primeros tiempos, que el aumento de las horas luz por medios artificiales produce la transición del anestro a la etapa de ciclos fértiles regulares.

Los equinos como la mayoría de los animales poseen lo que se denomina "reloj biológico". La exposición de 14 - 16 horas de luz pone en marcha el reloj biológico para la actividad de días largos. Luego de varios estudios se ha llegado a la conclusión que lo más práctico, es la extensión del día luego de la puesta del sol, para lograr esto se colocan las yeguas en caballerizas iluminadas. Las yeguas son colocadas en estas caballerizas por la tarde, controlando el encendido de las luces por medio de células fotoeléctricas o de timers. Luego de 2.5 horas (o las que fuesen necesarias para completar las 16 horas las luces se apagan).

Con respecto a la luz, cualquier forma es efectiva, ya sea fluorescente o incandescente de 100 o 200 watts. La intensidad lumínica debe ser de 8 pies candela a la altura de la cabeza de la yegua. El pie candela es la luz que da una vela por metro cuadrado (Galina y Valencia, 2008).

- 2. Prostaglandinas (PGF 2α):** Su función es la de destruir o lisar un cuerpo lúteo en cualquier momento del ciclo estral, causando un descenso rápido de la progesterona circulante. De esta forma se termina el bloqueo que esta ejerce sobre el hipotálamo y permite un aumento en la secreción de FSH y LH, logrando así desencadenar el crecimiento preovulatorio y posterior ovulación del folículo reclutado.

Se aplica prostaglandinas con previo diagnóstico de un cuerpo lúteo por ecografía. El celo debe aparecer en un lapso de 5 a 9 días y la ovulación es variable dependiendo del tamaño del folículo presente en el ovario (Loy *et al.*, 1979).

- 3. hCG.** Se aplican 2500 a 5000 UI de hCG a folículos mayores a 35 mm. La ovulación debe ocurrir entre 24 y 72 horas después en el 85 % de los casos (Voss *et al.*, 1975). Este último método se convierte en el más importante en programas de inseminación artificial con semen enviado de lugares lejanos ya que se sincroniza la ovulación con la llegada del semen y el momento de la inseminación. Este efecto es aún mejor si se trabaja con semen congelado

debido a la corta duración de su viabilidad, lo cual hace indispensable sincronizar al máximo la inseminación con la ovulación de la yegua.

Preparación física de la yegua

El éxito de la IA se mide por la capacidad del procedimiento para obtener una descendencia viable. Una de las consideraciones principales es la colocación de los espermatozoides en el tracto genital, lo que podrá ser traducido a una fertilización. También es esencial que el momento de la inseminación este sincronizado con la ovulación. La sincronización de estos dos eventos es más difícil con la IA de lo que es con la monta natural, ya que los signos de celo y la ovulación son interpretados normalmente por el hombre en lugar del semental.

Es imprescindible que se preste atención a la detección de la ovulación para realizar en el momento más exacto la inseminación. Las dos técnicas principales que se utilizan para evaluar la actividad del ovario de una yegua y para predecir el momento de la ovulación, son la palpación rectal y ecografía. Ambas técnicas se utilizan ampliamente en estudios para la infertilidad, investigación y diagnóstico de gestación, así como la evaluación de los folículos en los ovarios.

Una vez que se determina el momento de la inseminación, la cola de la yegua debe ser vendada para evitar contaminación y la zona perineal de la yegua debe ser lavada a fondo con jabón neutro y enjuagada para eliminar cualquier agente antibacteriano que pueda ser o actuar como espermicida y como irritante en la zona genital. Posteriormente el área debe secarse con una toalla limpia, seca, desechable sin pasar la toalla dos veces por el mismo lugar. Durante el lavado, debe prestarse especial atención a la eliminación de toda la contaminación fecal (Kenney *et al.*, 1975). Todo el equipo debe ser no tóxico, estéril y desechable.

Métodos de inseminación

Una vez que la yegua y el semen se han preparado, se procede a la inseminación por vía vaginal introduciendo la pipeta a través del cérvix llegando a útero. Es importante, que a lo largo de todo el proceso de preparación del semen y durante

la inseminación todo el equipo se mantenga a 37 °C para evitar un choque térmico. El semen también debe protegerse de la exposición al aire y la luz solar.

Inseminación por vía vagina

El brazo del inseminador debe ser cubierto con un guante de inseminación estéril. La pipeta de inseminación se coloca en el centro de la mano (Figura 3a). Posteriormente se aplica una pequeña cantidad de lubricante (gel no espermicida) en el nudillo de la mano, evitando el contacto con la pipeta de inseminación (figura 3b). A continuación el inseminador, abre un labio de la vulva con la mano que no trae la pipeta para permitir el paso de la mano (Figura 3c) y enseguida se introduce la mano en forma extendida en la vagina con los dedos juntos y protegiendo la pipeta, posteriormente se continua metiendo la mano hacia la parte craneal de la vagina cerca del cérvix (Figura 3d).

La abertura del cérvix se encuentra utilizando el dedo índice. La pipeta de inseminación se guía a través del cérvix y se introduce en el útero (Figura 4). Como penúltimo paso se conecta a la pipeta el popote o pajilla, en el caso de pajilla se utiliza el aplicador para empujar hasta la punta terminal de la pipeta y sea expulsado el semen de la pajilla y en caso de popote solo se corta el extremo opuesto al que está conectado para que fluya el aire y baje por gravedad el semen. Para desplazar la totalidad del semen que se encontraba en la pipeta, se aplica un poco de aire con una jeringa (Figura 3e). Después de inseminada la yegua debe ser llevada a su caballeriza o corraleta (Fromann y Amann, 1983).



a)



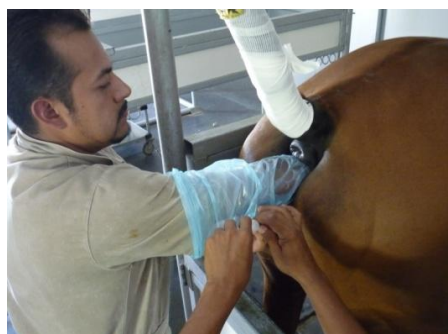
b)



c)



d)



e)

Figura 3. Procedimientos de inseminación. a) colocación de pipeta en la mano para evitar contaminación, b) aplicación de gel no espermicida en nudillo de la mano, c) apertura del labio vulvar para introducir la mano con pipeta, d) introducción de la mano en vagina hasta localizar cérvix e introducir pipeta en útero y e) aplicación de semen y aire.

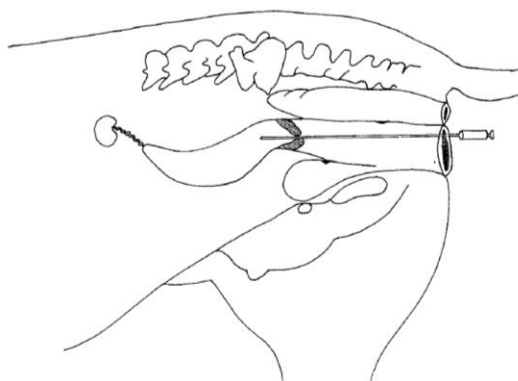


Fig. 4. Colocación correcta de la pipeta de inseminación para depositar el semen.

Factores que afectan el éxito de la IA

Varios factores afectan el éxito de la IA, incluido el método de almacenamiento, dosis de semen, momento de aplicación en el ciclo estral, sincronización y número de inseminaciones por ciclo estral.

Al igual que con la monta natural, la longevidad de los espermatozoides dentro de la yegua y la duración de la viabilidad del óvulo determinarán el momento óptimo de la inseminación. La sincronización de la llegada de los espermatozoides en el lugar de la fertilización y el momento de la ovulación es fundamental, las tasas máximas de fertilización se logran normalmente inseminando con semen fresco cada 48 horas hasta que la yegua ha ovulado o si se tiene análisis mediante palpación rectal por ultrasonido se puede inseminar 48 horas después de la primera inseminación teniendo en cuenta folículos mayores a 30 mm. El trabajo de Woods *et al.* (1990) indicó que una sola inseminación a las 24 horas antes de la ovulación dio las mejores tasas de preñes (80%).

El momento de la inseminación utilizando semen congelado es más crítico, debido a que la longevidad de semen congelado es reducida. Los estudios *in vitro* estiman que el tiempo para la capacitación es 18-29 horas, el tiempo necesario en *in vivo* es aún desconocido. Es probable que con semen congelado deba realizarse la inseminación más cerca del momento de la ovulación que con semen fresco y refrigerado y normalmente se recomienda que la inseminación debe tener lugar no antes de las 24 horas y lo ideal sería en el periodo de 12 horas anterior a la ovulación (Volkman y Van, 1987).

Este seguimiento intensivo y los regímenes de inseminación son potencialmente mucho tiempo hombre y en algunos casos desperdicio de semen ya que no es seguro que la yegua ovule dentro de las 24 horas de depositado el semen, es por ello que el factor más importante que afecta a la IA es contar con el tiempo suficiente y el personal capacitado para llevar a cabo la inseminación en el momento más adecuado posible.

CONCLUSIÓN

La criopreservación de semen en equinos es hoy en día una herramienta disponible que permite aprovechar todas sus ventajas con un uso potencial sin embargo, algunas veces es limitado por las reglamentaciones de algunas asociaciones de criadores que prohíben su uso. Esta tecnología ha permitido aumentar la eficiencia reproductiva en los últimos años permitiendo que se de la unión de una yegua y un semental que en circunstancias normales no podrían ser cubiertos de forma natural por condiciones geográficas, así mismo reduciendo años de cruzamientos para obtener animales con un alto valor genético.

El manual ayudará a tener un panorama más claro sobre la manipulación de semen congelado, reduciendo tiempo y malos manejos en su manipulación; mejorando además la eficiencia en la fertilidad y en el uso de los recursos necesarios para llevar acabo una inseminación en el momento más preciso posible, logrando así una gestación y un aumento en las tasas de concepción por servicio.

LITERATURA CITADA

Froman, D.P. and Amann R.P. 1983. Inhibition of motility of bovine, canine and equine spermatozoa by artificial vagina lubricants. *Theriogenology*, 20:357-361.

Galina, H.C. y Valencia, J. 2008. *Reproducción de los Animales Domésticos*. Editorial Limusa. 3ª Edición. 422 p.

García, E. 1981. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen* 1ª edición. 110 p.

Heffe, G. 1993. Investigations on the storage of fresh stallion semen. Effect of various centrifugation diluents on keeping properties of fresh semen. Thesis, Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany.

Kenney, R.M., Bergman, R.V., Cooper, W.L. and Morse, G.W. 1975. Minimal contamination techniques for breeding mares: techniques and preliminary findings. *Proceedings of 21st Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*. p.327–335.

Loomis, P.R., Amann, R.P., Squires, E.L. and Pickett, B.W. 1983. Fertility of unfrozen and frozen stallion spermatozoa extended in EDTA–lactose–egg yolk and packaged in straws. *Journal of Animal Science*, 56:687–693.

Loy, R.G., Buell, J.R., Stevenson, W. and Hamm, D. 1979. Sources of variation in response intervals after prostaglandin treatment in mares with functional corpus lutea. *Journal of Reproduction and Fertility, Supplement*, 27:229–235.

Moran, D.M., Jasko, D.J., Squires, E.L. and Amann, R.P. 1992. Determination of temperature and cooling rate which induce cold shock in stallion spermatozoa. *Theriogenology*, 38:999–1012.

Martin, J.C., Klug, E. and Gunzel, A.R. 1979. Centrifugation of stallion semen and its storage in large volume straws. *Journal of Reproduction and Fertility*, 27:47–51.

Parlevliet, J.M., Kemp, B. and Colenbrander, E. 1994. Reproductive characteristics and semen quality in Main Dutch Warmblood stallions. *Journal of Reproduction and Fertility*, 10:183–187

Perry, E.J. 1968. *The Artificial Insemination of Farm Animals*. Fourth edition. Rutgers University Press. New Brunswick.

Revell, S.G. and Glossop, C.E. 1985. A long-life ambient temperature diluent for boar semen. *Animal Production*, 8:579–584.

Van, C.H., Coughborough, R.I. and Doms, H.W.H. 1973. Progesterone treatment of mares with abnormal oestrus cycle early in the breeding season. *Journal of the South African Veterinary Association*, 44:37–45.

Varner, D.D., Blanchard, T.L., Love, C.L., Garcia, M.C. and Kenney, R.M. 1987. Effects of sperm fractionation and dilution ratio on equine spermatozoal motility parameters. *Theriogenology*, 28:709–723.

Volkman, D.H. and Van Zyl, D. 1987. Fertility of stallion semen frozen in 0.5ml straws. *Journal of Reproduction and Fertility*, Supplement, 35:143–148.

Voss, J.L., Sullivan, J.J., Pickett, B.W., Parker, W.G., Burwash, L.D. and Larson, L.L. 1975. The effect of hCG on the duration of oestrus, ovulation time and fertility in mares. *Journal of Reproduction and Fertility*, Supplement, 23:297–301.

Woods, J., Berfelt, D.R. and Ginther, O.J. 1990. Effects of time of insemination relative to ovulation on pregnancy rate and embryonic loss rate in mares. *Equine Veterinary Journal*, 22:410–415.