

FUNDACIÓN UNIVERSITARIA AGRARÍA DE COLOMBIA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN ASNALES

Vanesa Mora Hernández

Rafael Andrés Sierra Moreno

Universidad Agraria de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Docente: Germán Francisco Ramírez Forero

Bogotá, Colombia

2024 – 1

Introducción

En la cultura colombiana los asnos se utilizan para apoyar a los campesinos. Actualmente su impacto es significativo tanto en el gremio equino como en la agricultura del país, donde sirven como herramienta de trabajo en tracción, carga y resistencia en condiciones ambientales adversas. La I.A (Inseminación artificial) ha tenido éxito con otros animales como caballos y vacas, también podría ser una alternativa valiosa para preservar la población de esta especie, aumentar la eficiencia reproductiva y la diversidad genética. (Khadilkar, 2023)

La inseminación artificial en Colombia tiene bastante auge por ser una técnica de reproducción asistida. En el país, los asnales son una especie con poca investigación en el uso de esta biotecnología ya que se realiza de manera empírica y tradicional donde se presentan cruces del mismo parentesco o híbridos perdiendo la genética de esta especie colocándola en un nivel bajo de importancia para la realización de estudios. (González, 2023)

Según la Federación Colombiana de Asociaciones Equinas (Fedequinas), el número de ejemplares ha crecido un 30% en los últimos cinco años, con aproximadamente 1.000.000 de ejemplares y 170 criaderos. (Pareja, 2016) Aunque la inseminación artificial no es tan común en asnales como en equinos, el manejo reproductivo y fisiológico es vital para los veterinarios de campo que se encuentran con esta especie y su implementación permite una reproducción asistida más eficiente y controlada. (González, 2023)

Objetivo general

Realizar una investigación actualizada acerca de la fisiología reproductiva, ciclo estral, comportamientos de los asnos y la consecuente implementación de la inseminación artificial en esta especie animal.

Objetivos específicos

1. Comparar las diferencias anatómicas de los asnales con relación a los equinos.
2. Identificar las diferentes técnicas de inseminación artificial empleadas en asnales y cómo influye en la conservación de la especie.
3. Conocer los avances del mejoramiento genético con el uso de esta biotecnología.

Resumen

Los asnales son animales rústicos utilizados en el trabajo agrícola y transporte, para comenzar el burro criollo colombiano llega a Colombia en la época de la colonización, distinguidos por sus orígenes en Europa, África y Norte América y desde ese momento esta especie se ha encontrado en el país tiene diferentes cruces con equinos para sacar mulas o burdéganos y/o burros o burras; la inseminación artificial (IA) se define como la biotecnología para aplicar semen en el tracto genital de una hembra en el momento exacto para la fecundación, se puede realizar con semen fresco, refrigerado y congelado, siendo el más común en esta especie con semen fresco debido a sus menores costos y teniendo un mayor índice de fertilidad. Este tipo de inseminación depende de la calidad y respuesta seminal de cada asno que depende de su comportamiento sexual al momento de la colecta por otro lado, el uso de semen congelado es una herramienta para el mejoramiento genético y preservar razas en peligro de extinción teniendo una menor tasa de fertilidad se alteran algunos factores como cambios de temperatura y formación de hielo intracelular afectando la funcionalidad y viabilidad del espermatozoide en el tracto reproductivo de la hembra. La colecta de semen requiere de una vagina artificial que debe de tener una temperatura específica para evitar alteraciones al momento de la evaluación del semen donde se encuentran aspectos macroscópicos hasta microscópicos como la motilidad, concentración y morfología espermática; los diluyentes tienen diferentes combinaciones para la conservación del semen y se detallan los diluyentes específicos para la congelación y el transporte del semen. La técnica de inseminación implica la evaluación por ultrasonido de los ovarios y el útero, seguido por la preparación del semen y la inseminación propiamente dicha, finalizando con el seguimiento ecográfico para la confirmación de preñez.

Palabras clave: Asnales, Inseminación artificial, semen, diluyente, fisiología reproductiva

Abstract

Donkeys are rustic animals used in agricultural work and transportation, to begin with the Colombian Creole donkey arrived in Colombia at the time of colonization, distinguished by its origins in Europe, Africa and North America and since that time this species has been found in the country has different crosses with equines to get mules or hinnies and / or donkeys or donkeys; Artificial insemination (AI) is defined as the biotechnology to apply semen in the genital tract of a female at the exact moment for fertilization, it can be performed with fresh, refrigerated and frozen semen, being the most common in this species with fresh semen due to its lower costs and having a higher fertility rate. This type of insemination depends on the quality and seminal response of each donkey, which depends on its sexual behavior at the time of collection. On the other hand, the use of frozen semen is a tool for genetic improvement and preservation of breeds in danger of extinction, having a lower fertility rate because some factors are altered, such as temperature changes and intracellular ice formation, affecting the functionality and viability of spermatozoa in the reproductive tract of the female. Semen collection requires an artificial vagina that must have a specific temperature to avoid alterations at the moment of semen evaluation where macroscopic to microscopic aspects such as sperm motility, concentration and morphology are found; diluents have different combinations for semen conservation and specific diluents for semen freezing and transport are detailed. The insemination technique involves ultrasound evaluation of the ovaries and uterus, followed by semen preparation and insemination itself, ending with ultrasound follow-up for pregnancy confirmation.

Key words: donkeys, artificial insemination, semen, extender, reproductive physiology.

Marco de referencia

Los asnales son animales rústicos debido al papel que cumplen en el trabajo agrícola y del transporte rural. El burro o asno (*Equus africanus asinus*) es una familia de los équidos, la cual ha sido empleada hace miles de años (5000 a.C.) (Khadilkar, 2023). El burro criollo colombiano llega a Colombia en la época de la colonización, donde se pueden distinguir razas de asnos según su origen europeo, Africano, Norte Americano y la criolla siendo producto de cruces sin control de los animales traídos por los españoles en la época de la conquista. Se puede definir los cruces formados a partir de las razas Andaluz-Cordobés, el catalán, Pega Brasileiro y el Zamorano-leonés. El asno criollo colombiano es de una talla más pequeña que las razas africanas, el pelaje, longitud de las orejas y desarrollo de la cabeza presentan cambios notorios respecto a los equinos. (Medina, 2019) La inseminación artificial es la aplicación de semen en el tracto genital femenino para la fecundación. (Foote, 2002)

Las primeras investigaciones sobre la IA se da a comienzos de 1899 por Doctor Ivanov en Rusia, donde la necesidad principal era los caballos militares y las primeras colectas de semen se obtuvieron colocando una bolsa plástica en la vagina de la yegua para que al momento de la monta del caballo se pudiera recolectar. (Foote, 2002)

La aplicación práctica de la IA (Inseminación artificial) a los burros comenzó a principios de la década de 1950 en China. Fue estimulado por la demanda de aparear burras de tamaño pequeño con sementales de caballos más grandes para obtener burdéganos de uso general, principalmente para tiro y transporte. La detección del estro en burras y la producción de burdéganos atrajeron la atención científica entre 1950 y 1970 donde estudiaron el comportamiento estral y la reproducción. (Liang et al., 2014)

Actualmente esta biotecnología tiene información limitada en asnales, esto radica en su fin zootécnico y el interés de la reproducción en esta especie. Es importante tener en cuenta la anatomía para poder realizar una buena práctica de biotecnologías y tener resultados satisfactorios.

Anatomía de la hembra

El aparato reproductivo de las burras es similar al de las yeguas, sus partes internas suelen ser más grandes y la vascularización del tracto genital también es parecido. Las arterias de ovario se originan de la arteria ovárica. Esta arteria llega al ovario e irriga también las trompas de Falopio y la parte craneal del cuerno uterino (Rama uterina). El principal suministro de sangre para el útero lo proporciona la arteria uterina donde se ramifica de la arteria iliaca externa. Las arterias de la vagina son ramificaciones de la arteria pudenda interna. (Van den Branden, 2021).

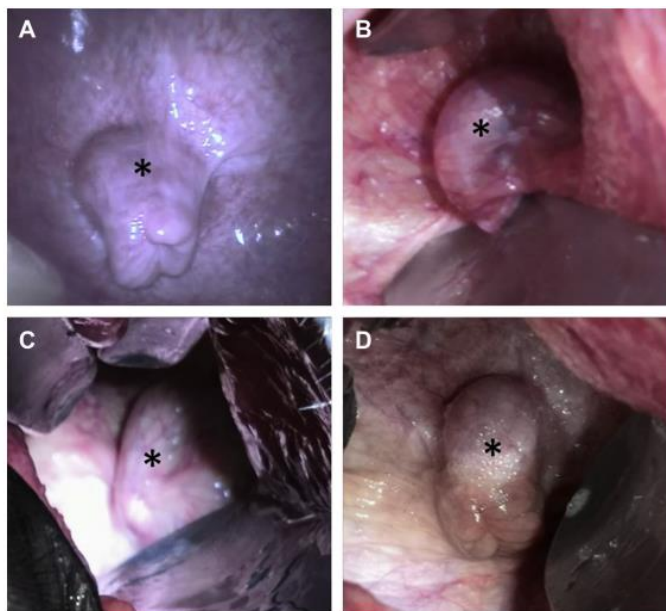
El útero desde una vista dorsoventral es más grande. Los cuernos uterinos se encuentran a nivel de la quinta vertebra lumbar y llegan casi a la parte caudal de los ovarios donde se encuentra el infundíbulo del oviducto. Los ovarios se encuentran a nivel de la cuarta y quinta vertebra lumbar donde es más craneal que en las yeguas, pero sus medidas no difieren; estos tienen forma de frijol y su fosa de la ovulación se encuentra en el borde de estos. (Renner et al., 2009) El útero presenta tono durante el diestro y en el estro se encuentra sin tono y relajado.

El cérvix tiene un menor diámetro y se ubica más hacia dorsal, esto en algunas ocasiones puede impedir la eyaculación intrauterina y un desafío para procedimientos como las biotecnologías. El canal cervical cuenta con una mucosa que se caracteriza por pliegues longitudinales irregulares de diferente altura, son continuos con los pliegues endometriales del cuerpo uterino. Se ha descrito que estos pliegues se encuentran en la región vaginal en su parte dorsal y ventral generando una obstrucción del paso. (Canisso et al., 2019)

En algunas ocasiones el cérvix puede ser de forma recta o con diferentes formas que se asemejan a las letras como, C, L, o V. (Figura 1) (Canisso et al., 2019)

Figura 1

Diferentes formas anatómicas del cérvix.



Nota. Adaptado de *Key Aspects of Donkey and Mule Reproduction*. (2019)

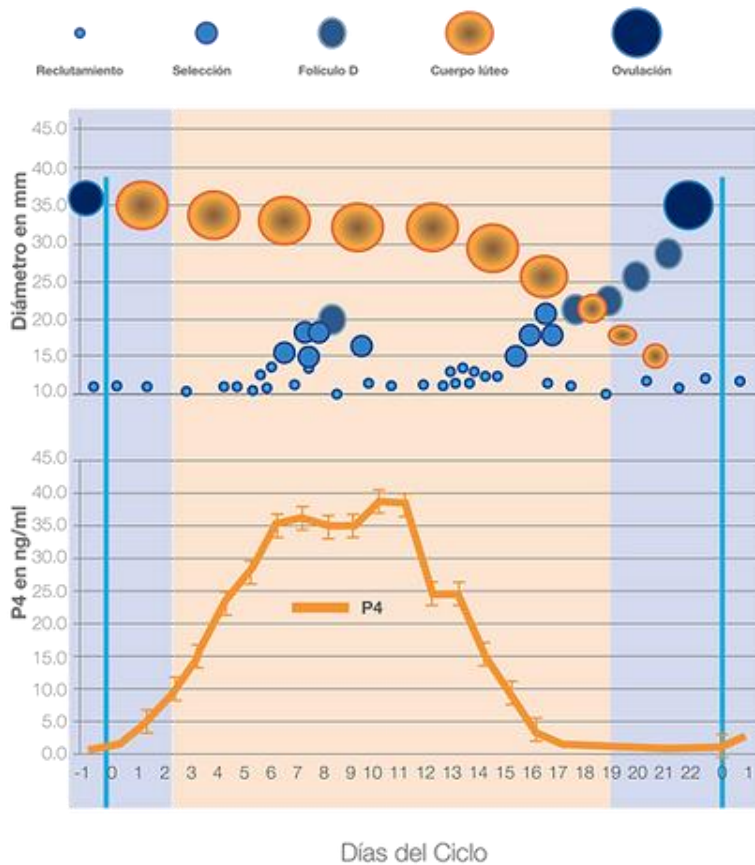
La vagina se puede dividir en dos, lado izquierdo y derecho; en el lado izquierdo se encuentra el orificio uretral externo y en el lado derecho un conducto estrecho el cual lleva hasta la parte inicial del canal del cérvix. El pliegue transversal donde se encuentra el orificio uretral externo es el que delimita la vagina del vestíbulo vaginal. La vulva está inclinada hacia ventral y debajo del borde pélvico, por lo que la contaminación del tracto reproductivo es menos probable. Los labios menores de la vulva son más grandes. (Van den Branden, 2021)

Pubertad

La pubertad en de la hembra suele ocurrir entre los 12 y 24 meses (Figura 2) Estudios describen a los burros como una especie poliestrica estacional de días largos en zonas templadas; otros también las describieron como poliestricas no estacionales en zonas templadas de diferentes partes del mundo. (Canisso et al., 2019)

Figura 2

Representación gráfica del ciclo estral de la burra.



Nota. Adaptado de *¿Qué sabemos del ciclo estral en burras?* (2023).

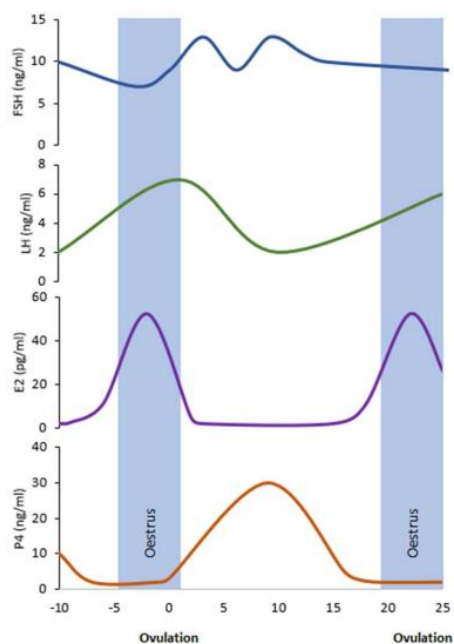
Endocrinología del ciclo estral

La duración del ciclo estral es más larga respecto a las yeguas, con un rango de 24 a 26 días donde el diestro varía de 15 a 19 días, estro entre 4 a 10 días; la ovulación ocurre 24h antes de finalizar el estro. Las hormonas juegan un papel importante en esta etapa, ya que se encargan de la dinámica folicular y la presentación de celo; la progesterona (P4) permanece baja hasta el día después de la ovulación y aumenta lentamente de 4 a 6 días tras la ovulación, donde finalmente se estabiliza entre los días 14 a 16 tras ovulado y disminuye hasta tener concentraciones normales. El 17 β -estradiol (E2) aumenta durante el inicio del estro hasta el momento de la ovulación, la hormona folículo estimulante (FSH) permanece baja durante todo el ciclo estral y alcanza su punto máximo 3 y 9 días después de la ovulación y finalmente la hormona luteinizante (LH) aumenta antes de la ovulación alcanzando su punto máximo 2 días después de la ovulación y empieza a disminuir durante el resto del ciclo estral. (Contri et al., 2014)

El estradiol, la progesterona, la hormona folículo estimulante y la hormona luteinizante son fundamentales durante el ciclo estral. (Figura 3) Las concentraciones de FSH alcanzan su máximo el día 3 y 9 tras la ovulación para estimular el crecimiento de los folículos y las concentraciones de LH aumentan 8 días antes de la ovulación para iniciarla y mantener ese pico 2 días después de la ovulación para disminuir paulatinamente. (Van den Branden, 2021)

Figura 3

Concentraciones hormonales en circulación periférica durante el ciclo estral.



Nota. Adaptado de *Reproduction in equidae: comparative study of donkeys and horses*. (2021)

Estro

En esta fase del ciclo estral es donde se da la regresión del cuerpo lúteo hasta la ovulación presentando signos de receptividad sexual. Según estudios reportan hasta 2 ondas foliculares, pero solo la primaria es donde ocurre la ovulación en las últimas 24 horas antes de que terminen los signos. (Díaz, 2023)

Se estima que el folículo va creciendo de 2-4mm por día donde puede variar según la raza: 44mm en Catalán, 30 a 33mm para Poitou, 35 a 40 mm en Pega y Mammoth, y 32mm para las burras del norte de África. (Montoya, 2022) El folículo dominante se establece cuando llega a los 30-48mm de diámetro. La desviación folicular ocurre 5 días después del reclutamiento, donde se

establece el folículo dominante, que aumenta de manera significativa 7 días antes de la ovulación, alcanzando un diámetro máximo el día antes de la ovulación. (Díaz, 2015)

Diestro o fase lútea

En esta etapa va desde la ovulación hasta la regresión del cuerpo lúteo. Durante esta fase las burras no muestran signos de receptividad hacia el macho ni los característicos. El desarrollo de los folículos preovulatorios sin presencia de signos es muy común, se pueden encontrar folículos entre 25 y 30mm antes del inicio de la luteólisis. (Díaz, 2023)

El cuerpo lúteo se conoce como una glándula que aumenta de tamaño durante la ovulación alrededor de $1.19 - 0.07\text{mm/día}$, alcanzando un diámetro máximo de 27mm en el día 13, disminuye 1.75mm/día hasta culminar su regresión en el día 17. (Díaz, 2023)

Esta glándula produce progesterona (P4) y de acuerdo en el momento en que se forma y su estado de desarrollo se nombra de diferentes maneras.

- A. Cuerpo hemorrágico: Se define como la reorganización de las células dentro del mismo que se forma al ovular el folículo.
- B. Cuerpo lúteo primario: Este aparece de la ovulación durante el estro.
- C. Cuerpo lúteo secundario: Surge de las ovulaciones posteriores a la ovulación primaria.
- D. Cuerpo albicans: Son los residuos del cuerpo lúteo al final del estro. (Lorenzo et al., 2023)

La luteólisis tiene dos procesos: uno funcional y otro estructural. El funcional es donde hay una disminución muy marcada y rápida de la progesterona y en la luteólisis estructural, es la desaparición total del cuerpo lúteo donde finalmente aparece como un área pequeña, esponjosa y firme en el estroma ovárico. (Díaz, 2015)

Comportamiento sexual de la hembra

En las burras se caracteriza por una serie de comportamientos específicos para la hembra. Los signos característicos se dan después del estímulo visual y contacto con el semental. Se observa eversión del clítoris, micción fuerte, posición de la cabeza abajo y las orejas pegadas y dirigidas hacia atrás, extienden el cuello hacia adelante, levantan la cola, muestran la zona perineal para permitir la monta, vocalización llamando la atención del macho y finalmente el más característico siendo rechinar los dientes con la boca conocido como “boqueo”. (Díaz, 2023)

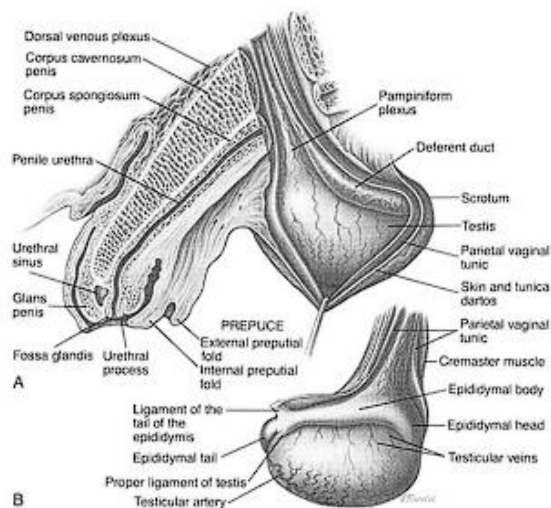
Anatomía del macho

Los burros tienen testículos más grandes y globulares en comparación con los sementales con testículos más pequeños, constreñidos lateralmente y de forma ovoide. (Figura 4) El testículo de los burros es casi horizontal, con su eje mayor ligeramente oblicuo en dirección ventro caudal sin diferencia entre la gónada derecha e izquierda (Aissanou et al., 2022)

Los testículos descienden completamente al momento del nacimiento, donde se encuentra cubiertos por una gruesa túnica albugínea que constaba de capas fibrosas exterior e interior además de la vascular media. (Aissanou et al., 2022)

Figura 4

Anatomía del tracto reproductivo del macho con sus partes.



Nota. Adaptado de *Some reproductive characteristics in common donkey male (Equus asinus) – A mini review* (2022).

El epidídimo mide de 12 a 13 cm de largo en el burro y el conducto puede alcanzar de 70 a 85 cm. Su cabeza recibe de 12 a 23 conductos eferentes, la cola del epidídimo es abultada, desviada medialmente y más prominente en burros con un diámetro promedio de $2,45 \pm 0,08$ cm. (Aissanou et al., 2022). El parénquima testicular está formado por los túbulos seminíferos donde tiene lugar la espermatogénesis y en el intersticio principalmente por células de Leydig responsable de la producción de andrógenos.

El pene y el prepucio del burro son muy similares a los de los equinos en conformación, pero tiene un diámetro de 2,5-5 cm. El cuerpo del pene se va a encontrar sobresaliente de toda la longitud del órgano copulador, al momento de la dilatación del glande es más importante en los burros y su longitud aumenta claramente en erección, su tamaño podría oscilar entre 35,5 y 45,5 cm de diámetro para un burro pequeño de 100 kg de peso (Aissanou et al., 2022).

Comportamiento sexual en el macho

La conducta recopiladora donde nos muestra que la hembra está en celo el macho va a identificar diferentes signos como son, el contacto nasal; flehmen; mordisquear y/o olfatear la cabeza, el cuello, el perineo y la cola; y examen olfativo de orina o excrementos sin erección o cópula inmediata. La actividad en que el macho comienza a oler la hembra oscila entre 5 y 10 min y tener una cópula exitosa (Aissanou et al., 2022).

Inseminación artificial

La inseminación artificial (IA) es una técnica viable para utilizar en asnos. El equipo estándar para equinos puede utilizarse para recolección, evaluación, transporte e inseminación en esta especie. El uso de I.A(Inseminación artificial) con semen fresco, refrigerado o congelado es importante en la reproducción equina. El semen fresco y refrigerado se usa más que el congelado por sus menores costos de producción y sus mayores índices de fertilidad. (Oliveira et.,al 2016).

Colecta de semen

La colecta de semen se realiza con vagina artificial siendo la más utilizada para la colecta. Existen varios modelos de vaginas artificiales como: Nishikawa, Missouri, Hannover o Colorado; todas están creadas bajo el mismo principio y constan de una doble camisa donde se introduce agua caliente con el fin de tener una temperatura optima y presión adecuada para estimular la eyaculación por medio de la presencia de una burra en estro. (Yang et al., 2020) La vagina artificial debe tener una temperatura interna entre 44-50°C, procurando que el eyaculado pase directamente al tubo colector el cual debe estar a una temperatura de 38°C para evitar el daño en los espermatozoides por las altas temperaturas. (Yang et al., 2020)

Análisis seminal

La evaluación seminal en veterinaria es un proceso crucial para determinar la calidad del semen y, por ende, se puede calificar para analizar si el semen es fértil o no por lo que se requiere implementar y usar tecnologías de análisis seminal, además de considerar los factores extrínsecos e intrínsecos a los que se somete el espermatozoide. (Castro, Murillo 2019). A continuación, se describen los aspectos clave de esta evaluación.

Evaluación Macroscópica

Es el estudio de la muestra de semen, comprendida desde lo que es observable con el ojo humano, a partir del volumen de la eyaculación, su aspecto, el color, o en ocasiones también se mide su viscosidad y el PH de la muestra seminal, también busca identificar aspectos que permitirán evidenciar la condición de la muestra seminal a evaluar. (Castro, Murillo 2019). El parámetro adecuado según Dorado et al (2013) el pH debe ser neutro de 7.2-7.3 (Dorado et al, 2013) El aspecto del semen es evaluado, teniendo en cuenta la coloración y consistencia. La coloración del semen varía de gris ceniza a blanco y la consistencia de acuoso a lechoso, entre más blanco lechoso es mayor su concentración. (Barriga, 2018)

Evaluación Microscópica

La evaluación microscópica es determinante para evaluación de semen, comprendida desde la valoración de la motilidad, en la cual se discrimina el movimiento individual y el movimiento en masa de los espermatozoides, determinados por colorantes como la eosina nigrosina que evalúan la viabilidad del esperma, además, mediante la cámara de Neubauer, se busca determinar morfo anomalías y la concentración de espermatozoides en la muestra valorada. (Castro, Murillo 2019).

La motilidad espermática se realiza mediante microscopía óptica o con un sistema de análisis computarizado de semen (CASA), este se basa en la captura sucesiva de imágenes a través de un microscopio de fase digitalizada. La motilidad espermática progresiva es un buen indicador de la viabilidad espermática en équidos. Aunque no necesariamente predice la capacidad fecundante, la motilidad espermática debe estar presente para que los espermatozoides puedan fecundar con éxito. (Calvache, 2015) El parámetro ideal para esta prueba se mide en porcentaje (%) siendo un rango ideal de 89.5 – 93.9 % al momento de evaluar. (Dorado et al, 2013)

La concentración espermática es una medida del número total de espermatozoides presentes en un eyaculado, lo que determina la cantidad de dosis que se pueden obtener. Se utilizan diversos métodos para determinar esta concentración, como la cámara de Neubauer, el espectrofotómetro, la citometría de flujo, la colorimetría y programas informáticos especializados. Cada método tiene sus ventajas y limitaciones, pero todos permiten una evaluación precisa del número de espermatozoides en una muestra de eyaculado. (Calvache, 2015) Según un estudio hecho por Dorado evaluando los parámetros seminales en un eyaculado fresco el intervalo adecuado de la concentración espermática medido en ml ($\times 10^6$ por mL) es de 300.1 a 375.4 $\times 10^6$ ml. (Dorado et al, 2013)

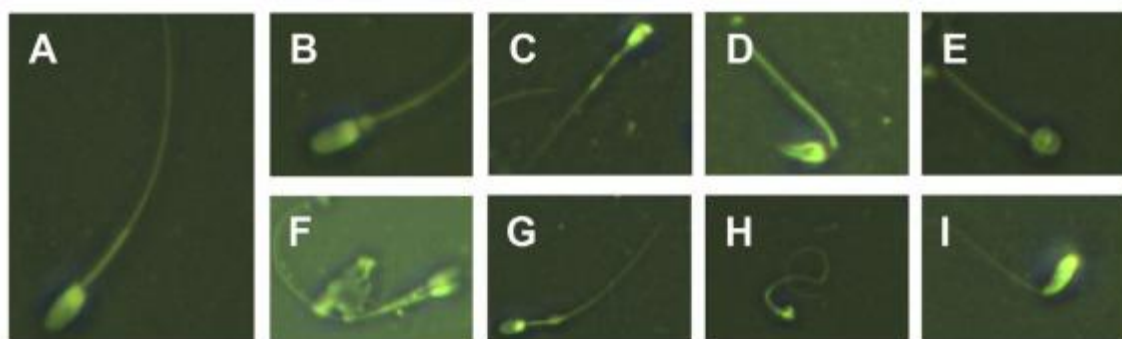
La morfología espermática se evalúa mediante la tinción de eosina-nigrosina y verde de malaquita para detectar anomalías en los espermatozoides siendo evaluados por lo menos 100 espermatozoides para evidenciar estos defectos morfológicos. (Figura 5) Esta evaluación es fundamental para determinar el potencial reproductivo de un semental, entrándose en el número de espermatozoides clasificados como morfológicamente normales. (Calvache, 2015) Las anomalías que se pueden encontrar son:

- Defectos de la cabeza: piriformes, microcefalia, cabezas múltiples, cabeza crónica.

- Defectos acrosoma: acrosoma nudoso y vacuolas.
- Defectos de pieza intermedia: curva simple, enrollada con citoplasma retenido, aplasia, desarrollo anormal.
- Defectos de la cola: aplasia, hinchazón, gota citoplasmática, colas múltiples.

Figura 5.

Morfología espermática del burro.



Nota: Adaptado de Key Aspects of Donkey and Mule Reproduction (2019)

La correcta clasificación y cuantificación de estos defectos proporciona información crucial sobre la fertilidad potencial del semental y ayuda en el diagnóstico y pronóstico de problemas reproductivos. (Calvache, 2015)

Inseminación artificial con semen fresco

Consiste en recolectar y evaluar el eyaculado, dividirlo en dosis que contengan como mínimo 500 millones de espermatozoides con motilidad progresiva e inseminar a las burras 30 a 90 minutos post-recolección. (Ochoa et.,al 2017).

Inseminación artificial con semen refrigerado

Dependiente de la calidad y respuesta seminal de cada asno a los cambios térmicos, pero ofrece más variantes de manejo. El semen puede refrigerarse a 4°-5°C por 24 a 48 horas, utilizando diluyentes especiales, respetando una curva de descenso térmico y mantenimiento de la temperatura. (Gibb, 2016) La organización es importante en la implementación de este sistema dado que requiere de una buena sincronización entre el manejo de la/s burras/s a inseminar, la recolección y envío del semen. Los resultados son muy variables entre asnos, pero respetando los protocolos e inseminando con semen refrigerado durante 24 horas y como máximo 24 horas previas a la ovulación y 6 horas post ovulación los índices de preñez son similares a una monta natural. (Ochoa et al., 2017).

Inseminación artificial con semen congelado

El uso de semen congelado es una de las principales herramientas para la mejora genética de la mayoría de los animales domésticos. Una de las ventajas que incluye el semen congelado es la disponibilidad continua de semen, disminución del riesgo de transmisión de enfermedades venéreas y aumento en la genética siendo una alternativa para la preservación de razas de burros en peligro de extinción. (Oliveira et al., 2016)

La tasa de fertilidad del semen congelado es menor que la del semen fresco o refrigerado debido a factores como cambios de temperatura, estrés osmótico y formación de hielo intracelular, afectando la funcionalidad y viabilidad de los espermatozoides en el tracto genital femenino de la burra. También se produce una reacción inflamatoria en el útero en comparación con el semen fresco. (Oliveira et al., 2016)

Diluyentes

Solución acuosa que aumenta volumen del eyaculado para inseminación artificial manteniendo características funcionales de espermatozoides y nivel de fertilidad adecuado, mejorando distribución en reproducción asistida. (Abril, 2023)

Los diluyentes de semen contienen componentes protectores que permiten la sobrevivencia espermática fuera de tracto reproductivo y ayuda también a aumentar la dosis inseminante. Estos están compuestos a base de yema de huevo, se usan para conservar semen por su acción protectora, atribuida a la fracción lipoproteína de baja densidad, los fosfolípidos ligados a la membrana plasmática. Después de la conservación a 5°C durante 24h hasta 72h respectivamente. (Machado et al.,2020; Montoya, 2017)

Los diluyentes tienen diferentes combinaciones que van a funcionar como crioprotectores como leche descremada en polvo como Kenney®, E-Z-Mixin® y EquiPlus® que usados comúnmente para la dilución de semen para la Inseminación Artificial tanto con semen fresco como refrigerado por mantener bien la motilidad espermática y la fertilidad. (Machado et al., 2020)

Diluyentes de congelación

La congelación del semen puede generar daños en la membrana plasmática, las mitocondrias y otras organelas de los espermatozoides ya que, reduce la movilidad, la viabilidad y la capacidad fecundante de dichas células. Los diluyentes para la congelación de semen requieren de sustancias crioprotectoras, entre las cuales se encuentra el glicerol (GLY), dimetilformamida (DMF) y la yema de huevo (YH). Entre las principales alternativas también está (DMF) donde se evidencia menor toxicidad y mayor capacidad de difusión a través la membrana de los

espermatozoides ya que cuenta con un menor peso molecular. Finalmente, la adición de YM a los diluyentes se debe a su aporte de lipoproteínas de baja densidad. (Montoya, 2022)

Diluyentes de transporte

Durante el transporte del semen refrigerado existen diferentes diluyentes como son el glicerol, dimetilsulfóxido, el etilenglicol y la dimetilformamida. También se han descrito sustancias de origen animal como la yema de huevo la cual contiene colesterol, fosfolípidos y lipoproteínas de baja densidad que ayuda a prevenir la formación de cristales de hielo protegiendo al espermatozoide de las alteraciones térmicas durante su proceso de descongelación. (Montoya, 2022)

Según un estudio realizado por Canisso en esta tabla (Tabla 1) se comparan los diferentes tipos de semen utilizados en la I.A teniendo en cuenta los distintos diluyentes y volumen de dosis inseminante para así poder determinar la tasa de preñez de cada uno concluyéndose que la tasa de preñes es mejor utilizando semen fresco respecto al congelado.

Tabla 1. Tasa de preñez con diferentes tipos de semen

| Pregnancy rates in jennies after insemination with fresh or cooled donkey semen | | | | |
|---|-------------------------------|--------------|----------------------|--------------------|
| Type | Breeding Dose (Million Sperm) | Volume (mL) | Extender | Pregnancy Rate (%) |
| Fresh ⁵⁵ | 400 | 10 | Skimmed milk | 6/7 (86%) |
| Cooled ⁵⁵ | 200 | 10 | | 9/20 (45%) |
| | 460 | 4 | | 7/9 (78%) |
| | 460 | 4 | INRA82 + 2% egg yolk | 5/8 (64%) |
| Fresh ⁹⁵ | 500 ^a | Extended 1:2 | INRA96 | 30/60 (50%) |
| Fresh ⁶¹ | 500 | 15 | Botusemen | 6/15 (40%) |
| | 1 billion | 15 | Botusemen | 11/15 (73%) |
| Fresh ⁶⁰ | 800 ^a | 15 | INRA96 | 25/31 (81%) |

Nota: Adaptado de *Key Aspects of Donkey and Mule Reproduction* (2019)

Técnica de inseminación

La evaluación por ultrasonido de los ovarios, el útero y los cambios asociados con el estro y la ovulación. El folículo crece 2 a 3 mm/día, alcanzando un diámetro máximo de 30 a 48 mm un día antes de la ovulación, que se evalúa con ultrasonido transrectal mediante un transductor lineal de 5 MHz. Se utiliza una vagina artificial llenándola con agua caliente a temperatura de 44-55°C, una vez el burro monta a la burra se procede a desviar el pene hacia la vagina artificial logrando introducirlo a la misma proporcionándole una buena posición para lograr una máxima estimulación. Posteriormente se realiza el análisis del semen macro y microscópicamente para realizar una dilución en porción 1:1 en un diluyente a base de leche semidescremada, caseinatos y azúcares a 37°C (Ochoa et al., 2017).

Finalmente se procede a limpiar región perineal vendaje de la cola, colocación de la pipeta de inseminación lubricada con gel no espermicida, introduciendo la mano debidamente desinfectada, se coloca una manga de palpación y se introduce en la vagina hasta localizar el cérvix, posteriormente se introduce la pipeta de inseminación con funda protectora en el útero y realizar el depósito de semen en el cuerpo del útero aproximadamente 15ml teniendo una dosis inseminante de 500 millones de espermatozoides. (Oliveira et al., 2016) Se realiza un chequeo ecográficamente post inseminación a los 15 días para confirmación de preñez por palpación transrectal y se confirma la preñez a través de la vesícula embrionaria. (Ochoa et al., 2017).

MÉTODOS Y TÉCNICAS DE TRABAJO

Esta investigación va orientada a la inseminación artificial en asnales, para realizarla se implementó una metodología descriptiva de forma documental para tener un enfoque, se revisaron

documentos disponibles de la red. Se realiza la investigación del tema con la problemática de falta de información y conocimiento de la técnica que se realiza en Colombia, recopilando estudios, investigaciones y conceptos cuyo contenido sea actual y relevante lo más ajustado al propósito del tema.

Recopilación de artículos científicos

Para la obtención y compilación de artículos se incluyeron parámetros de inclusión y exclusión:

Tipo de estudio: Se realizó un estudio descriptivo.

Línea de investigación: Inseminación artificial en asnales

FASES METODOLÓGICAS

FASE I. Recopilación de información

Revisión integral de literatura científica sobre la técnica de inseminación artificial en asnales. Seleccionar estudios previos relacionados con anatomía reproductiva, ciclo estral, colecta de semen, diluyentes y procedimiento de inseminación. Se obtiene la información de artículos científicos de revistas indexadas, estudios e investigaciones referente al tema de estudio.

Identificación y selección de fuentes.

- Búsqueda exhaustiva en bases de datos académicas y portales especializados.
- Utilización de palabras clave relevantes.
- Selección de fuentes de mayor relevancia y calidad científica.

FASE II. Clasificación de la información

A partir de la revisión exhaustiva de la literatura disponible se recopilaron estudios relacionados con esta técnica y como la calidad del semen interfiere en la práctica. Se obtiene de la información

de artículos científicos de revistas indexadas, estudios e investigaciones y estadísticas referente al tema de estudio.

CRITERIOS METODOLÓGICOS

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Estudios e investigaciones autores de 1er nivel sobre inseminación artificial en asnales.
- Artículos publicados los años del 2013 a 2023
- Estudios que abarquen inseminación con semen fresco, refrigerado o congelado

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Información incompleta en boletines, folletos sin sustentación de referencia bibliográfica.
- Fuentes de carácter no científico de primer nivel como blogs.
- Artículos que requieran pago por acceso.

LECTURA Y ANÁLISIS DE LOS ARTÍCULOS

- Se evaluará la calidad, validez y relevancia de los estudios incluidos en la revisión.
- Se discutirá la consistencia y las discrepancias entre los hallazgos de los diferentes estudios.

RECURSOS Y MATERIALES

| Recursos Humanos | Recursos virtuales | Materiales | Escritorio |
|-----------------------------|------------------------|------------|---|
| Director de proyecto | Libros virtuales | Computador | Búsqueda de artículos relacionados de inseminación artificial en asnales. |
| Evaluador | Conexión Internet | | Se encuentran 31 artículos relevantes y referentes al tema. |
| Estudiantes desarrolladores | Plataformas académicas | | Se excluyen 7 por temas repetitivos. |

| | | | |
|--|-------------------------|--|---|
| | Portales especializados | | Finalmente se opta por trabajar con 24 artículos. |
|--|-------------------------|--|---|

REVISIÓN SISTEMÁTICA Y ANALÍTICA

En el siguiente cuadro se verá reflejado el resultado de la síntesis de información de los artículos recopilados que mencionan la inseminación artificial en asnales como biotecnología de la reproducción.

Cuadro de clasificación de revistas indexadas

| AUTOR | TITULO | AÑO | REVISTA INDEXADA | CUARTIL |
|---------------------------------------|--|------|---|---------|
| Abril, K | Importancia de los diluyentes para la conservación y preservación en semen equino. | 2023 | No repositorio: Universidad Antonio Nariño | |
| Aissanou, S., Besseboua, O., Ayad, A. | Some reproductive characteristics in common donkey male (<i>Equus asinus</i>) – A mini review. | 2022 | Turkish Journal of Veterinary Research | Q3 |
| Barriga, X | Evaluación de Crioprotectores no penetrantes: Proteínas de Baja Densidad (LDL) y Yema de Huevo de Gallina, en Calidad de Semen | 2018 | No repositorio: Universidad Católica de Santa María | |

| | | | | |
|---|--|------|---|----|
| | Refrigerado y Congelado de Caballos Peruanos de Paso. | | | |
| Calvache, D | Determinación de viabilidad de la célula espermática de asnos (<i>Equus Asinus</i>) criollos colombianos utilizando medio diluyente INRA 82 modificado con dimetilformamida y glicerol para la criopreservación. | 2015 | No repositorio: Universidad de la Salle | |
| Canisso, F | Key Aspects of Donkey and Mule Reproduction | 2019 | Veterinary Clinics: Equine Practice | Q2 |
| Contri, A., Robbe, D., Gloria, A., De Amicis, I., Veronesi, M., Carluccio, A. | Effect of the season on some aspects of the estrous cycle in Martina Franca donkey. | 2014 | Theriogenology, | Q1 |
| Diaz, M | Descripción del patrón hormonal | 2015 | No repositorio: Universidad Nacional Autónoma de México | |

| | | | | |
|---|--|------|---|----|
| | progesterona, testosterona y estradiol relacionado con la dinámica folicular en el ciclo estral de la burra. | | | |
| Diaz, M | ¿Qué sabemos del ciclo estral en burras? | 2023 | vanguardia veterinaria.com.mx | |
| Dorado, J., Acha, D., Galvez, M., Ortiz, I., Carrasco, J., Diaz, B., Gómez, V., Calero, R., Hidalgo, M. | Sperm motility patterns in Andalusian donkey (<i>Equus asinus</i>) semen: Effects of body weight, age, and semen quality | 2013 | Theriogenology, | Q1 |
| Foote, R | The history of artificial insemination: Selected notes and notables. | 2002 | <i>Journal of Animal Science.</i> | Q1 |
| Gibb, Z & Aitken RJ. | Recent developments in stallion semen preservation | 2016 | Journal of Equine Veterinary Science | Q2 |
| González, R | El negocio de los asnales y mulares, | 2023 | https://www.agronegocios.co/finca/el-negocio-de-los-asnales-y- | |

| | | | | |
|--|--|------|---|----|
| | un sector en el que creció 30% el número de ejemplares. | | mulares-un-sector-en-el-que-crecio-30-el-numero-de-ejemplares-3556268 | |
| Khadilkar, D | Como los burros cambiaron el curso de la historia de la humanidad | 2023 | https://www.bbc.com/mundo/noticias-64367883 | |
| Liang, D., Hongyun, D., Xiang, D., Shenming, Z., Changxin, W., Guocai, H. | Advances in the Research and Application of Artificial Insemination to Equids in China: 1935–2012. | 2014 | Journal of Equine Veterinary Science | Q2 |
| Lorenzo, G., Gilbert, R., Ambrosia, R., Bergfelt, D., Samper, J., Peterson, E., French, H. | Structural and funcional dynamics of the ovary and uterus during the estrous cycle in Donkeys in the Eastern Caribbean | 2022 | Animals | Q1 |

| | | | | |
|--|---|------|---|----|
| Machado, J., Flores, A., Alonso, C., Losinno, L. | Inseminación artificial con semen congelado en burros | 2020 | No repositorio: Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental | |
| Medina, A | Caracterización molecular del asno criollo colombiano Equus asinus en el departamento de Sucre usando marcadores moleculares de tipo RAMs. | 2019 | No repositorio: Universidad de Sucre | |
| Montoya, J | Efecto de la suplementación del diluyente sobre la calidad del semen de asno a la descongelación | 2017 | Archivos de zootecnia | Q4 |
| Montoya, J | Evaluación de factores asociados con la criotolerancia, el estado redox y la capacidad fecundante del semen asnal, orientados a la | 2022 | No repositorio: Universidad Nacional de Colombia | |

| | | | | |
|--|--|------|--|----|
| | conservación de los burros (<i>Equus asinus</i>) Criollos colombianos | | | |
| Ochoa, H., Benítez, E., Jiménez, L., Castillo, F., y Vidal, P. | Inseminación artificial a tiempo fijo en asnas utilizando semen equino fresco y refrigerado | 2017 | REJET. Revista Electrónica de Veterinaria | Q4 |
| Oliveira, J., Oliveira, P., Melo, C., Nascimento, P., Monteiro, G., Robaina, Y., Papa, P., Alvarenga, M., Dell'Aqua, J. y Ozanam, F. | Strategies to improve the fertility of fresh and frozen donkey semen | 2016 | Theriogenology | Q1 |
| Pareja, A | Criotolerancia espermática y efecto de los antioxidantes y el sistema de empaque sobre las características | 2016 | No repositorio: Universidad Nacional de Colombia | |

| | | | | |
|---|---|------|--|----|
| | espermáticas de semen asnal criopreservado | | | |
| Van den Branden, E. | Reproduction in equidae: comparative study of donkeys and horses | 2021 | No repositorio: Ghent University Library | |
| Yang, F., Li,N., Liu,B., Yu,J., Wu,S., Zhang, R., Yang, W., Ji,C., Sun, Q., Ma,J., Li,M., Zhou, J., Zhou, X., Pietrani, M., Losinno, L., Zeng, S | Practical protocols for timed artificial insemination of jennies using cooled or frozen donkey semen. | 2020 | Equine Veterinary Journal | Q1 |

CONCLUSIONES

- Las investigaciones sobre la inseminación artificial (I.A) en asnales son muy limitadas, motivo por el cual se hace necesario continuar con el análisis de las tasas de preñez en pro de preservar las características deseables de los reproductores mediante la implementación de esta técnica.
- Las características anatómicas de la burra y la yegua tienen diferencias, encontrándose que el tracto reproductivo de la burra es más pequeño que la yegua, la dinámica folicular y hormonas del ciclo estral sería la similitud de que tienen entre especies.
- La calidad del semen es el éxito de una correcta inseminación artificial, se debe tener en cuenta la evaluación espermática, así como tener el conocimiento necesario en la implementación los diferentes tipos de diluyentes.
- Los diluyentes son la ayuda para la conservación del semen tanto para el transporte como para congelación, estos nos ayudan a mantener la vitalidad de la célula espermática.
- Se evidencia la necesidad de implementar biotecnologías de reproducción no solo para la inseminación artificial, sino también para otras técnicas que puedan contribuir a la conservación y mejora genética de la especie asnal.

RECOMENDACIONES

Los hallazgos encontrados en este trabajo abren las puertas para realizar nuevas investigaciones en la aplicación de la inseminación artificial en asnales, teniendo en cuenta los cambios anatómicos en esta especie.

Por otra parte, los resultados encontrados en esta investigación responden a la necesidad de implementar esta biotecnología con semen de alta calidad para incrementar la población de asnos en Colombia. Siendo este el primer paso para la aplicación de otras técnicas de biotecnología de la reproducción para la conservación de la especie asnal.

Teniendo en cuenta que en Colombia los asnales son utilizados usualmente en el agro para trabajos de carga, transporte, arado de tierras agrícolas, se evidencia la necesidad del mejoramiento genético evitando la consanguinidad minimizando así el riesgo de problemas reproductivos, morfológicos y fisiológicos

BIBLIOGRAFÍA

- Abril, K. (2023). Importancia de los diluyentes para la conservación y preservación en semen equino. [Tesis de pregrado]. Universidad Antonio Nariño, Bogotá.
- Aissanou, S., Besseboua, O., Ayad, A. (2022). Some reproductive characteristics in common donkey male (*Equus asinus*) – A mini review. *Turkish Journal of Veterinary Research*, 6(2), 77-84.
- Barriga, X. (2018). Evaluación de Crioprotectores no penetrantes: Proteínas de Baja Densidad (LDL) y Yema de Huevo de Gallina, en Calidad de Semen Refrigerado y Congelado de Caballos Peruanos de Paso. [Tesis de pregrado]. Universidad Católica de Santa María, Perú.
- Calvache, D. (2015). Determinación de viabilidad de la célula espermática de asnos (*Equus Asinus*) criollos colombianos utilizando medio diluyente INRA 82 modificado con dimetilformamida y glicerol para la criopreservación. [Tesis de posgrado]. Universidad de la Salle, Bogotá.
- Canisso, F., Panzani, D., Miró, J., Ellerbrock, R. (2019). Key Aspects of Donkey and Mule Reproduction. *Veterinary Clinics: Equine Practice*, 35(3), 607-642.
- Contri, A., Robbe, D., Gloria, A., De Amicis, I., Veronesi, M., Carluccio, A. (2014). Effect of the season on some aspects of the estrous cycle in Martina Franca donkey. *Theriogenology*, 81(5), 657- 661.

- Díaz, M. (2015). Descripción del patrón hormonal progesterona, testosterona y estradiol relacionado con la dinámica folicular en el ciclo estral de la burra. [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Díaz, M. (2023). *¿Qué sabemos del ciclo estral en burras?* [archivo PDF]. [d5d8b6_48f9ed5c22544580a0d1ce5c689f8906.pdf \(vanguardiaveterinaria.com.mx\)](https://vanguardiaveterinaria.com.mx/d5d8b6_48f9ed5c22544580a0d1ce5c689f8906.pdf)
- Dorado, J., Acha, D., Galvez, M., Ortiz, I., Carrasco, J., Diaz, B., Gómez, V., Calero, R., Hidalgo, M. (2013) Sperm motility patterns in Andalusian donkey (*Equus asinus*) semen: Effects of body weight, age, and semen quality. *Theriogenology*, 79(7), 1100-1109
- Foote, R. (2002). The history of artificial insemination: Selected notes and notables. *Journal of Animal Science*.
- Gibb, Z & Aitken RJ. (2016). Recent developments in stallion semen preservation. *Journal of Equine Veterinary Science* , 43, 29-36.
- González, R. (2023) *El negocio de los asnales y mulares, un sector en el que creció 30% el número de ejemplares*. AGRONEGOCIOS. <https://www.agronegocios.co/finca/el-negocio-de-los-asnales-y-mulares-un-sector-en-el-que-crecio-30-el-numero-de-ejemplares-3556268>
- Khadilkar,D (2023). *Cómo los burros cambiaron el curso de la historia de la humanidad*. BBC NEWS MUNDO. <https://www.bbc.com/mundo/noticias-64367883>
- Liang, D., Hongyun, D., Xiang, D., Shenming, Z., Changxin, W., Guocai, H. (2014). Advances in the Research and Application of Artificial Insemination to Equids in China: 1935–2012. *Journal of Equine Veterinary Science*, 34(3), 351-359.

- Lorenzo, G., Gilbert, R., Ambrosia, R., Bergfelt, D., Samper, J., Peterson, E., French, H. (2022) Structural and functional dynamics of the ovary and uterus during the estrous cycle in Donkeys in the Eastern Caribbean. *Animals*, 13(1), 74.
- Machado, J., Flores, A., Alonso, C., Losinno, L. (2020). Inseminación artificial con semen congelado en burros. *Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental* ,7, 157-166.
- Medina, A. (2019). Caracterización molecular del asno criollo colombiano *Equus asinus* en el departamento de Sucre usando marcadores moleculares de tipo RAMs. [Tesis de pregrado]. Universidad de Sucre, Sincelejo – Sucre.
- Montoya, J. (2017). Efecto de la suplementación del diluyente sobre la calidad del semen de asno a la descongelación. *Archivos de zootecnia* 66(255), 333- 340.
- Montoya, J. (2022). Evaluación de factores asociados con la criotolerancia, el estado redox y la capacidad fecundante del semen asnal, orientados a la conservación de los burros (*Equus asinus*) Criollos colombianos. [Tesis de doctorado]. Universidad Nacional de Colombia, Medellín.
- Ochoa, H., Benítez, E., Jiménez, L., Castillo, F., y Vidal, P. (2017). Inseminación artificial a tiempo fijo en asnas utilizando semen equino fresco y refrigerado. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18 (10), 1-10.
- Oliveira, J., Oliveira, P., Melo, C., Nascimento, P., Monteiro, G., Robaina, Y., Papa, P. Alvarenga, M., Dell’Aqua, J. y Ozanam, F. (2016). Strategies to improve the fertility of fresh and frozen donkey semen. *Theriogenology*, 85(7), 1267-1273.

- Pareja, A. (2016). Criotolerancia espermática y efecto de los antioxidantes y el sistema de empaque sobre las características espermáticas de semen asnal criopreservado. [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional de Colombia – Medellín.
- Van den Branden, E. (2021). Reproduction in equidae: comparative study of donkeys and horses. [Tesis de maestria]. Ghent University Library – Bélgica
- Yang, F., Li, N., Liu, B., Yu, J., Wu, S., Zhang, R., Yang, W., Ji, C., Sun, Q., Ma, J., Li, M., Zhou, J., Zhou, X., Pietrani, M., Losinno, L., Zeng, S. (2020). Practical protocols for timed artificial insemination of jennies using cooled or frozen donkey semen. *Equine Veterinary Journal* . 53(6), 1-9.