



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO DE LA FRECUENCIA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL
SOBRE LA TASA DE FERTILIDAD DE LAS GALLINAS**

TESIS QUE PRESENTA

PMVZ: LUCIANO VALDÉS GARCÍA

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

ASESOR

DR. AURELIANO JUAREZ CARATACHEA

Tarímbaro, Michoacán, Marzo de 2006.



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EFFECTO DE LA FRECUENCIA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL
SOBRE LA TASA DE FERTILIDAD DE LAS GALLINAS**

TESIS QUE PRESENTA

PMVZ: LUCIANO VALDÉS GARCÍA

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

Tarímbaro, Michoacán, Marzo de 2006.

UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

Documento No.135/2006

Se dictamina APROBAR la impresión
definitiva del documento

Morelia, Mich., a 17 de enero de 2006

C. MVZ. Alberto Arres Rangel
Director de la FMVZ-UMSNH
Presente.

Por este conducto hacemos de su conocimiento que la tesis titulada **EFFECTO DE LA FRECUENCIA DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SOBRE LA TASA DE FERTILIDAD DE LAS GALLINAS**, del P.MVZ. *Luciano Valdés García*, dirigida por el Dr. Aureliano Juárez Caratachea, fue **revisada y aprobada** por esta mesa sinodal, conforme a las normas de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

ATENTAMENTE.


MVZ. Miguel Héctor Soria Lira
Presidente


MVZ. Jorge Antonio Mariño Solis
Vocal


Dr. Aureliano Juárez Caratachea
Vocal

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar deseo mostrar mi gratitud al Dr. Aureliano Juárez Caratachea quien con su humildad, generosidad y bondad, que lo caracterizan, aceptó ser el asesor principal de la presente investigación, además de eso, por darme infinidad de consejos que sirvieron de motivación y para obtener fuerzas durante todas las etapas de la investigación, por mostrarme el panorama real de cualquier situación. De igual manera al Dr. José Herrera Camacho y todo su equipo de colaboradores que están al frente del área de transferencia de embriones, por haberme apoyado en la metodología correspondiente a la evaluación seminal de los gallos utilizados en la investigación. A los compañeros pasantes de medicina veterinaria y zootecnia: Jesús Felipe Sánchez, Rafael González, Iván González, por colaborar y mostrarme su capacidad para ayudarme a la aplicación de la técnica de masaje para estimular los gallos, aplicación de la técnica de inseminación artificial de las gallinas utilizadas, así como también, por ayudarme a la digitalización de las imágenes como fundamento de la investigación, a todos ellos... gracias compañeros.

Y claro, no podía faltar por hacer mención al PMVZ: Jaime Mondragón Anselmo por mostrarme su capacidad intelectual y quien me ayudó a emprender una verdadera investigación que proyecte un intelecto singular y aun más...por mostrarme que el abrir los brazos significa abrir una puerta de confianza...gracias jimmy....

A la familia Valdés, mi querida familia, a toda esta familia hermosa, gracias por esa beca familiar que me brindaron hasta el último momento en esta facultad, además, de que sus consejos sirven y servirán como motivación personal. De igual modo agradezco A JESUS, dios y hombre verdadero, que para mi forma parte de familia; mi ser supremo, “MI AMIGO QUE NUNCA ME FALLA” por darme la vida y la de los demás seres, por mostrarme el camino correcto siempre ante cualesquier situación, por ser mi acompañante en la senda de la superación; a ese ser espiritual... gracias DIOS...

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia dependiente de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por fungir como unos de mis segundos hogares y

poner a disposición todos y cada uno de los medios necesarios, con un solo objetivo, el de obtener una buena y excelente formación profesional, que esté acorde a las necesidades que demanda la sociedad que sufre constantes cambios. Del mismo modo agradezco fielmente a todo el cuerpo docente de esta facultad, mis maestros; que cumpliendo su función me formaron como un recurso humano útil más para la sociedad... a todos ellos, gracias profesores...

DEDICATORIAS

En primera estancia dedico esta investigación de tesis de nivel licenciatura a mi familia, integrada por mis hermanos el Ing. Agrónomo: José Luís, CP. Cecilia, Mirella, María Isabel, María Enriqueta, Silvino, Julio, Tec. Agropecuario: Guillermo, mi pequeña Michelle y mis queridos padres el Sr. Guillermo Valdés Ordóñez y Sra. Alicia Facunda García Rivera.

A todos mis compañeros del albergue estudiantil; PMVZ. Fernando Quintos, Pasantes de arquitectura: Juan Carlos Sánchez, Gerardo Sánchez; Pasantes de Ingeniería Civil: Jorge Tapia, Víctor Manuel Yeo; pasante de Odontología, Pedro Pichardo y de igual modo, al compañero y consejero del albergue estudiantil, el estudiante de la licenciatura en Psicología, Ramiro Rico Albarrán; a todas mis amigas de la casa, y de la facultad de medicina veterinaria.... a todos ellos que en diferente etapa de mi desarrollo ayudaron a clarificar ideas, pensamientos y brindaron apoyo para encontrar verdaderas identidades personales, por compartir momentos agradables y desagradables que tienen mucha significancia para mí...

También dedico esta investigación al Dr. Aureliano Juárez Caratachea que con tanto empeño y dedicación, criterio y sobre todo capacidad para comprender a toda persona... para usted Dr. Cara...

A DIOS y asesores sinodales por quienes gracias a sus observaciones encaminaron mi investigación a una perfección científica, y también, a todas aquellas personas que de alguna u otra manera apoyaron a la realización de esta investigación.

A todos y cada uno de esos personajes... GRACIAS...

ÍNDICE

	Páginas
1. INTRODUCCIÓN.....	01
1.1 Aspectos reproductivos de las aves.....	04
1.1.1 Almacenamiento de espermatozoides.....	05
1.1.2 Fecundación.....	05
1.1.3 Incubación.....	08
1.2 Colección de semen.....	09
1.3 Técnica de inseminación.....	09
1.3.1 Frecuencia de inseminación.....	10
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
2.1 Desarrollo experimental.....	11
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
4. CONCLUSIONES.....	21
5. BIBLIOGRAFÍA.....	22
6. ANEXOS.....	26

EFFECTO DE LA FRECUENCIA DE INSEMINACIÓN SOBRE LA TASA DE FERTILIDAD DE LAS GALLINAS

Luciano Valdés García¹ y Aureliano Juárez Caratachea²

¹Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia e ²Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, km 9.5 carretera Morelia Zinapécuaro, municipio de Tarímbaro, Mich.

RESUMEN

Se determinó el efecto de la frecuencia de inseminación artificial sobre la tasa de fertilidad del huevo de gallina. Para ello se utilizaron 30 gallinas de 36 semanas de edad, divididas en 3 grupos de 10 gallinas cada uno: el grupo A se inseminó cada cuatro días, el grupo B, cada 7 y el grupo C, cada 10 días, previa evaluación espermática de los gallos. Se determinó la tasa de fertilidad para los huevos incubados de cada grupo, con los siguientes resultados: fertilidad observada para los grupos A, B y C fueron 84.2, 83.1 y 74.7 %, respectivamente. Los resultados anteriores sugieren que a menor intervalo de inseminación se obtienen mejores tasas de fertilidad.

Palabras clave: semen, evaluación, inseminación artificial, frecuencia, incubación artificial.

1. INTRODUCCIÓN

El mejoramiento genético, control de enfermedades transmisibles y el racionamiento de machos, después de su evaluación espermática, han hecho de la inseminación artificial en las aves una de las biotecnologías para la obtención de carne y huevos de estas especies (Kasyanenko, 1995; Cossato *et al.*, 1996 y Moya *et al.*, 1999). La inseminación artificial (IA) en aves fue conducida y documentada primeramente por un científico ruso llamado Ivanov; aunque en las primeras investigaciones se utilizaron casi exclusivamente pollos domésticos, su explotación comercial ha sido muy limitada. Esta tecnología ha constituido el desarrollo de un método práctico para la colección de semen en pavos, que es aplicable de igual manera a gallos (Klein, 2003).

La introducción de la (IA) en las gallinas requiere definir conceptos relacionados con la frecuencia de inseminaciones, dosis de inseminación, entre otros; se ha encontrado que la fertilidad de las aves está asociada con múltiples factores endógenos inherentes a ambos reproductores (Kirby *et al.*, 2000), y que de igual manera influyen en la prolongación de la capacidad fecundante de las células espermáticas acumuladas en el oviducto (Kirby *et al.*, 1998).

Se sabe, por ejemplo, que la edad de las aves (Brillard y McDaniel, 1986; Brillard, 1993; Moya y González, 2001; Brillard, 2003), la época del año, la alimentación y peso de la reproductora (Yu *et al.*, 1992; Remena, 2001), frecuencia de apareamientos, tienen cierta influencia sobre la fertilidad; al respecto, existen observaciones en las cuales se ha detectado que la mayor frecuencia de apareamientos ocurren en las tardes, coincidiendo con la ausencia de postura en las hembras, aunque a esa hora no es bueno el volumen de semen (Juárez y Conejo, 2004).

Actualmente, la información acerca del efecto de la frecuencia de las inseminaciones sobre la fertilidad de las gallinas es escasa, el conocimiento sobre este tema es abundante en otras especies, por tal motivo surge la necesidad de llevar a cabo estudios en gallinas para contribuir a la obtención de datos recientes sobre este tema.

En una investigación acerca de la influencia de la frecuencia de inseminación sobre la fertilidad en patas Pekín blanco, se encontró a los 10 días de incubación, porcentajes de fertilidad de 87.1; 83.3 y 79.3% al inseminar las patas cada 4, 7 y 10 días, respectivamente, no se hallaron diferencias significativas, aunque se apreció una tendencia a disminuir la fertilidad a medida que se alargó la frecuencia de inseminación (Moya *et al.*, 1999).

En el año 2003, Moya al inseminar en dos frecuencias (4 y 7 días) en los horarios de la mañana (9:00-11:00) y tarde (14:00-16:00), encontró valores promedios de 98.5 a 97.9% y de 96.9 a 97.7% en la fertilidad, respectivamente, y entre 71.2 y 73.5 y de 70.5 a 74.5% en la incubabilidad, respectivamente, no hubo diferencias significativas. Al respecto, Ramírez (1999), y Mauldin (2000) sustentan este hecho, estableciendo que el huevo se fertiliza con más facilidad por las mañanas, ya que en las tardes los machos llegan a producir solo 0.5 mil millones de espermatozoides en comparación con 1.5 a 8 mil millones por las mañanas.

La tendencia a inseminar las aves en horarios específicos está determinada por el momento de puesta (Tommaso y Birkhead, 2000), por lo que algunos autores recomiendan el horario de la tarde (Dudley, 2005), debido a que en este horario el oviducto no puede tener huevo, no obstante en épocas de calor este sería un factor limitante, ya que el inseminar en la tarde se incrementan las posibilidades de crear estrés a las gallinas (Baskt y Cecil, 1982; Dudley, 2005).

Por otra parte, la frecuencia con que se efectúan las inseminaciones está en función de la retención de la capacidad fecundante de los espermatozoides en el oviducto. Ello indica que la adecuación del horario y la frecuencia de inseminación es posible efectuarla en horarios diferentes y hasta por periodos de 7 días (Moya, 2003).

Juárez y Conejo (2004) estudiaron el índice de fertilidad de los huevos procedentes de gallinas inseminadas artificialmente y la viabilidad fecundante de los espermatozoides almacenados en el oviducto de la gallina, encontrando que la capacidad fertilizadora de los espermatozoides desapareció a los 33 días, y que la mayor fertilidad se presenta durante la primer semana posterior a la inseminación, con descenso hacia el final de la segunda semana. Sugiriendo que una inseminación cada semana es suficiente para obtener índices de fertilidad aceptables.

En un experimento similar Moya y González (2001), encontraron que la capacidad fecundante de los espermatozoides en el oviducto de las gallinas White Leghorn, inseminadas con un intervalo de cuatro días, fue de 28 días en las aves de 60 semanas de edad y de 36 días en las que tenían 32 semanas de edad. Observando que el tiempo que sobreviven los espermatozoides en el oviducto de las gallinas que se inseminan con 60 semanas de edad es significativamente menor respecto a las aves inseminadas con 32 semanas de edad.

Sin embargo, Sauveur y Reviers (1992), establecen que los espermatozoides almacenados en las glándulas del oviducto pueden sobrevivir en ellas, conservando su poder fecundante y ser liberados durante un periodo máximo de 21 días en el caso de la gallina y 60 días en la pava.

Merck (1999), por su parte, menciona que los pollos tienen una concentración espermática menor respecto al semen de pavo, y que la duración de la fertilidad

es más corta, inseminar con 0.05 ml de semen no diluido, a intervalos de 7 días, son necesarios para mantener buena fertilidad.

1.1 Aspectos reproductivos de las aves

La función reproductora de las aves difiere de la de los mamíferos en que las primeras no tienen un ciclo sexual propiamente dicho. No obstante, los sistemas de regulación neuroendocrinos, con las lógicas diferencias que origina el oviparismo, son fundamentalmente los mismos. La producción de huevos (base de la reproducción ovípara) es un proceso cíclico, que se repite muchas veces a lo largo de la vida del ave. Estos huevos contienen todo lo necesario para el desarrollo de un posible embrión (Sauveur y Reviers, 1992; Buxadé, 1999).

En las hembras de las aves, el aparato reproductor consta de un solo ovario y un oviducto, situados al lado izquierdo; el par derecho se atrofia durante el periodo embrionario (McDaniel, 2004). Después del nacimiento, el ovario que presenta una forma ovoide y pequeña, posee ya miles de diminutos folículos primarios en su zona cortical. Apartir de las quince semanas de vida, aproximadamente, el ovario y el oviducto se desarrollan de forma acelerada bajo la creciente influencia de los mecanismos hormonales (Sauveur y Reviers, 1992).

En la gallina ponedora la maduración folicular y la ovocitación se producen en forma continua, excepto cuando existen factores que alteran su estado fisiológico. La hormona que desencadena la ovocitación es la LH (hormona luteinizante) (Sauveur y Reviers, 1992). Desde la ovocitación hasta la salida del huevo al exterior de la gallina (puesta u ovoposición), transcurren unas 25 o 26 horas en condiciones de fotoperíodo clásico (8 horas de oscuridad y 16 de luz) la gallina pone un huevo diario durante varios días seguidos (Sauveur y Reviers, 1992; Buxadé, 1999).

Dado que la formación exige más de 24 horas, cada puesta se irá retrasando entre una y dos horas (McDaniel, 2004). Después de la oviposición se vuelve a producir una ovocitación, reiniciándose el proceso. Las series de puesta son el número de huevos producidos durante un conjunto de días consecutivos, o dicho de otra manera, es el intervalo existente entre dos pausas sucesivas durante un periodo de ovoposición (Buxadé, 1999).

1.1.1 Almacenamiento de espermatozoides

En el caso particular de las aves, los espermatozoides sobreviven en el tracto genital de las hembras, y conservan en él su capacidad fecundante durante un periodo superior a lo que suele ser habitual en los mamíferos. No obstante, este tiempo ofrece una amplia variabilidad entre las distintas especies de aves domésticas (puede oscilar entre 4 y 30 días). Consecuentemente, esta realidad condiciona, en el caso de que se practique, las frecuencias de inseminación artificial (Sauveur y Reviers, 1992).

Así, el punto de almacenamiento de los espermatozoides dentro de la hembra son las glándulas espermáticas en la unión útero-vaginal (Gordon, 1985; Sauveur y Reviers, 1992; Klein, 2003), localizadas a 2 y 3 cm, entre la porción posterior del útero y la región anterior de la vagina (Brillard, 1993) cuando estos se liberan, pasan a través del oviducto hasta llegar a la región infundibular donde se realiza ya de manera apropiada la fertilización.

Es sabido que la unión uterovaginal es el sitio primario de almacenamiento del semen en especies aviares. No obstante, un sitio secundario de almacenamiento del semen es localizado entre la región posterior falopiana del infundibulum y la porción anterior del mágnun (Klein, 2003) y que las aves que tienen altos índices de producción y son inseminadas después de que el huevo se ha formado, presentan altos niveles de fertilidad (Mauldin, 2000).

Se ha detectado que en el pavo, las glándulas espermáticas deben llenarse con objeto de lograr un alto nivel de fertilidad ya que ésta se reduce de una manera significativa cuando el número de glándulas espermáticas llenas es menor (Gordon, 1985).

Por otro lado, el sistema reproductor del gallo es muy simple cuando es comparado al de humano o algún otro mamífero, no tiene una glándula prostática o glándulas accesorias. Igual que todos los demás animales, el espermatozoide del pollo transmite el material genético y es producido dentro de los testículos; tiene dos testículos muy largos dentro de la cavidad abdominal a cada lado de su columna vertebral. Después de que los espermatozoides salen del testículo entran al epidídimo, donde adquieren la habilidad para nadar. Después, el espermatozoide entra a los vasos deferentes donde son almacenados hasta que el gallo realiza la monta (McDaniel, 2004).

El gallo tiene un pequeño *fallus* (falo), que llega a ser llenado de linfa para formar el órgano copulador. Este es rudimentario y en el momento de la monta, prácticamente no existe una penetración. La gallina evierte su vagina durante la copula la cual le ayuda para transferir el semen en el oviducto. Algunas especies de aves, como es el ganso, los patos, tienen órganos copuladores más bien definidos (Mauldin, 2000).

1.1.2 Fecundación

El éxito de la fertilización en aves ocurre después de una acumulación de eventos seriados entre reproductores. Estos eventos en orden son: el acto fisiológico del apareamiento o inseminación artificial, almacenamiento del espermatozoide dentro del oviducto de la gallina, transporte del espermatozoide dentro del oviducto de la gallina, reconocimiento y penetración dentro de la capa perivitelina y el éxito de la unión del gameto del macho y de la hembra. Bajo condiciones de apareamiento natural, el cortejo es llevado a cabo en un tiempo

muy breve. No obstante, el acto de la copulación es el primer paso en el proceso de la fertilización (Bramwell, 2002).

Entonces, en la cloaca de la gallina se deposita una cantidad aproximada entre mil y ocho mil millones ($1-8 \times 10^9$) de espermatozoides por eyaculación (Juárez y Conejo, 2004), el apareamiento debe ocurrir frecuentemente para asegurar bastantes células espermáticas viables y disponibles en el momento de la ovulación de la gallina. El espermatozoide aviario tiene un tiempo de vida larga fertilizable, debido a la presencia de glándulas de almacenamiento de espermatozoide localizadas en el oviducto de la gallina. Estas permiten almacenar el espermatozoide para luego ser expulsados desde estos túbulos de almacenaje hasta el *infundibulum* en un momento apropiado (Bramwell, 2002; Klein, 2003).

Después que el espermatozoide llega al sitio de fertilización, debe reconocer el sitio apropiado sobre la superficie externa del ovulo previo a su paso dentro de esta capa exterior. Después de eso, a través de la acción enzimática (llamada, reacción acrosomal) la célula espermática produce una perforación, o senda, a través de la cual pasa dentro del ovulo (penetración espermática). Si el espermatozoide pasa a través de la capa externa del ovulo en la región del disco germinal, este gana entrada al material genético, o pronúcleo. Después la unión de los gametos puede ocurrir. Entonces, el huevo del ave ha sido fertilizado exitosamente, y si se le proporcionan las condiciones propias, el desarrollo embrionario puede iniciar (Bramwell, 2002).

Mientras el ovocito progresa por el oviducto y forma los diferentes componentes del huevo, se van produciendo las distintas divisiones celulares del embrión, hasta alcanzar una fase en la que se detiene el desarrollo; no se reanuda si no cuando el huevo sea puesto y se coloque a una temperatura superior a 21 grados centígrados (Wilson, 1996; Ramírez, 1999). El huevo fértil que pone la gallina es, pues, un huevo embrionado; de ahí su fragilidad (Buxadé, 1999).

1.1.3 Incubación

En las aves no domésticas, la incubación o cloqués aparece de forma sistemática tras la producción de un cierto número de huevos, conlleva la supresión de la puesta; está íntimamente vinculada con la función de ovulación y debe considerarse como el punto culminante del ciclo reproductivo (Sauveur y Reviers, 1992). Por otra parte, el ovario experimenta una regresión y, en casi todos los casos, la producción de huevos se interrumpe. La abertura de la cloaca se hace más estrecha y se reseca; al mismo tiempo los huesos de la pelvis se acercan y la cresta palidece, reduciéndose de tamaño, así como también se desarrollan las placas incubatrices (Sauveur y Reviers, 1992).

Durante el crecimiento y la diferenciación embrionaria que se producen en el proceso de la incubación (natural o artificial) hay varias etapas críticas; las más importantes se presentan entre los primeros cinco días (Buxadé, 1999) y en los que transcurren entre el decimoséptimo y decimonoveno. Actualmente, en las granjas industriales no se practica la incubación natural, porque resulta económicamente ineficaz: una gallina clueca no pone; además, tiene una capacidad de incubación de huevos muy limitada (Sauveur y Reviers, 1992).

En la incubación artificial el proceso se tecnifica y abarca desde los ponederos hasta el control de la incubación, pasando por la recogida de huevos y su transporte, almacenamiento, selección, pesaje, higiene y desinfección. La incubación normal del huevo de gallina dura unos 21 días y entre seis y doce horas. No todos los pollitos nacen simultáneamente. Incluso cuando todos los huevos proceden de un mismo lote de reproductoras y han permanecido almacenados el mismo tiempo, el momento de la eclosión puede diferir en 24 horas (Buxadé, 1999).

Tres factores influyen en el aumento del tiempo de incubación: los largos periodos de almacenamiento; la baja temperatura de incubación, y el gran tamaño de los

huevos. Los factores que hacen que disminuya son una alta temperatura de incubación y el pequeño tamaño de los huevos procedentes de lotes jóvenes (Wilson, 1996; Buxadé, 1999).

1.2 Técnica de colección de semen

En la colección de semen de pollos y pavos, el órgano copulador se estimula para que sobresalga, masajeando el abdomen y el dorso. Después, rápidamente presionando la cola hacia delante con una mano y, al mismo tiempo, usando el dedo pulgar y dedo índice de alguna mano para obtener la leche (semen) desde los conductos de este órgano. El semen puede ser colectado con un aspirador o un pequeño tubo o algo que contenga una especie de copa. En pavos, el volumen promedio es de 0.35 a 0.5ml, con una concentración de 6 a 8 billones de espermatozoides/ml. En pollos, el volumen es de 2 a 3 veces más que en el pavo, pero la concentración es cerca de la mitad (Gordon, 1985; Merck, 1999).

1.3 Técnica de inseminación artificial

En los pollos, pavos y gallinas de guinea, la inseminación se realiza evertiendo el oviducto hacia el exterior de la abertura de la cloaca, aplicando presión a la parte baja del abdomen e insertando la cánula dentro del oviducto, tan profundo como esto sea posible sin que se presente resistencia (Sauveur y Reviers, 1992). En seguida se libera la presión abdominal y se presiona el émbolo de la jeringa de tal manera que se pueda aplicar la dosis de semen lo más cerca posible del orificio de la unión útero-vaginal (Gordon, 1985).

1.3.1 Frecuencia de inseminación

Todas las especies avícolas presentan una curva de reducción del porcentaje de huevos fecundados con la misma forma general, pero la duración de la meseta (periodo de tiempo considerable en el cual se obtienen las mayores tasas de fecundación después de la inseminación) varía considerablemente de una especie a otra. Es aconsejable que para mantener un nivel óptimo de huevos fecundados es preciso que el intervalo entre inseminaciones consecutivas no supere la duración de las mesetas (Sauveur y Reviers, 1992).

Cuando un programa de inseminación se inicia, las inseminaciones deberán ser llevadas a cabo inicialmente, en dos días consecutivos para asegurar que las glándulas espermáticas se encuentren llenas (Gordon, 1985; Dudley, 2005). La frecuencia de inseminación para los pollos es de cada siete días, para los patos cada cuatro o cinco días, para gansos cada seis días, así como para gallinas de guinea (Gordon, 1985).

Con base a la información anterior se avanzó la siguiente hipótesis: la inseminación artificial de las gallinas, a diferentes intervalos, tiene diferente efecto sobre la tasa de fertilidad. Consecuentemente, el objetivo del presente trabajo consistió en determinar el efecto de la frecuencia de inseminación (4, 7 y 10 días) sobre la tasa de fertilidad del huevo de gallina.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en las instalaciones del sector avícola, ubicado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, dependiente de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, que se localiza en el kilómetro 9.5 de la carretera Morelia-Zinapécuaro, en el municipio de Tarímbaro, Michoacán.

Las coordenadas de la región son 19°48' de latitud norte y 101°10' de longitud oeste, a una altura de 1,860 metros sobre el nivel del mar (msnm). Limita al norte con Copándaro y Cuitzeo, al este con Álvaro Obregón, al sur con Morelia y Charo, y al oeste con Chucándiro. Su distancia a la capital del Estado es de 12 Km. Su clima es templado con lluvias en verano. Tiene una precipitación pluvial anual de 609.0 mm y temperaturas que oscilan de 2.5 a 25.1 °C (Enciclopedia de Michoacán, 2000).

2.1 Desarrollo experimental

La investigación se inició en el mes de Febrero y finalizó en el mes de Junio del año 2005. De los 14 gallos, 8 Rhode Island Red y 6 Plymouth Rock Barred, 6 reproductores respondieron a la técnica de extracción de semen, no obstante, únicamente se utilizaron tres gallos, los cuales fueron clasificados como aptos, después de realizar tres evaluaciones a cada uno, se tomaron como criterios descartar aquellos reproductores con una motilidad masal menor a 80% y una concentración espermática por eyaculado menor a 1500×10^6 .

La evaluación microscópica se realizó con la ayuda de un microscopio de campo claro, en el Laboratorio de Transferencia de Embriones de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, los resultados se muestran en el cuadro N. 1. La edad de los reproductores era de 36 semanas al iniciar la investigación, los cuales se alojaron en jaulas metálicas individuales con dimensiones 40x40x45cm, recibieron

agua a libre acceso mediante bebederos automáticos y alimento comercial en forma de pellets también a libre acceso, con los siguientes aportes nutritivos:, según la etiqueta del fabricante: Humedad 12.0% máx. Ceniza 16% máx. Fibra 5.0% máx. Proteína 16% mín. Grasa 3.0% mín. E.L.N (Extracto Libre de Nitrógeno) 48% mín.

Durante dos semanas los gallos se sacaron diariamente de las jaulas para acostumbrarlos al manejo y al operador, en ese periodo se procedió a retirar las plumas de la región cloacal para facilitar la recolección del semen y evitar la contaminación del mismo, efectuado este procedimiento, se continuó con el entrenamiento tres veces por semana, mediante la técnica de masaje dorso-abdominal durante otras dos semanas, con la finalidad de tener buen entrenamiento al momento de recolectar el semen y aplicar la técnica de inseminación de las gallinas.

La técnica de inseminación artificial que se implementó fue la propuesta por Gordon (1985); Sauveur y Reviers (1992). El semen se depositó a 2.5 cm de profundidad del oviducto de la gallina y con una concentración espermática estimada en 120 millones de espermatozoides por dosis (120×10^6), contenidos en un promedio de 0.025 ml de semen fresco sin diluir. Esta dosis se determinó multiplicando el volumen de semen a aplicar (0.025) por la concentración espermática/ml ($4,951.6 \times 10^6$), por lo que se estima que cada gallina recibió en promedio 123,775,000.6 espermatozoides en cada inseminación.

Como en la presente investigación no interesó estudiar el efecto paterno, el semen de todos los gallos se recolectó en el mismo tubo de ensaye, para obtener así un *pool* de semen. Previo a la recolección de semen, los gallos se sometieron a un ayuno (sin alimento y solo agua) de aproximadamente 24 horas. Para la inseminación se utilizó una jeringa graduada (insulina o tuberculina de 1ml), la cual se introdujo de 1.5 a 2cm en el oviducto de las gallinas para depositar el semen.

Para esta etapa del trabajo se utilizaron gallinas RIR (Rhode Island Red) con 36 semanas de edad las cuales se dividieron en tres grupos (A, B y C) el tipo de alimentación, agua y alojamiento, tuvieron las mismas características mencionadas anteriormente para gallos. Las gallinas de los diferentes grupos recibieron tres inseminaciones durante la etapa experimental. Al grupo A se le inseminó a intervalos de cuatro días; al grupo B, a intervalos de siete días, y al grupo C, a intervalos de diez días.

Al tercer día post-inseminación se inició la recolección de huevo fértil de cada tratamiento (grupos A, B y C). Los huevos una vez recolectados, se sumergieron durante 20 segundos en una solución de yodo diluida con agua (al 3%) para realizar la desinfección, además fueron marcados con lápiz de carbón según el tratamiento (4, 7 y 10 días) y la fecha de incubación para un mejor control y finalmente, se colocaron en una incubadora eléctrica con capacidad de mil huevos, con temperatura de 37.7°C , humedad de 55% y volteo automático cada 2 horas.

Al día 22 del proceso de incubación, se retiraron de la incubadora los pollos nacidos, los cascarones y los huevos no eclosionados; estos últimos se colocaron en un recipiente para contabilizar huevos eclosionados, picados no nacidos y no picados. A los huevos no picados se les practicó el embriodiagnóstico para determinar fertilidad o infertilidad.

Finalmente, la tasa de fertilidad se calculó adicionando los pollos nacidos, los huevos picados no nacidos y los embriones muertos y dividiéndolos entre el número de huevos cargados a la incubadora, luego este resultado se multiplicó por 100. Similarmente se aplicó una regla de tres simple a cada variable de fertilidad (número de huevos eclosionados, picados no nacidos y embriones muertos), y a la variable infertilidad de cada tratamiento. Los resultados obtenidos se procesaron en la hoja de cálculo (Microsoft Excel, 2003) para condensarlos en cuadros y proceder a su posterior discusión.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados que arrojó el estudio evidencian que a diferentes intervalos de inseminación, corresponden diferentes índices de fertilidad, como se muestra en los cuadros 2 y 3 del presente estudio.

Cuadro 1. Valores promedio de la evaluación seminal.

Características	Valores
pH	7.16
Volumen (ml)	0.5
Motilidad progresiva (%)	88.3
Espermatozoides/ml (Espermatozoidesx10 ⁶)	4951.6
Espermatozoides/eyaculado (Espermatozoidesx10 ⁶)	2467.8
Concentración espermática viable (CEV). (Espermatozoidesx10 ⁶)	1807.36

En el Cuadro 1, se presentan los valores producto de la evaluación seminal de los tres gallos evaluados, los resultados obtenidos se encuentran dentro del rango establecido por Sauveur y Reviers (1992), Ramírez (1999), Mauldin (2000), Bramwell (2002), Juárez y Conejo (2004) y Das *et al.*, (2004). Los indicadores espermáticos aquí determinados, principalmente espermatozoides por eyaculado y concentración espermática viable, son de utilidad para garantizar que en el volumen seminal de 0.025 ml aplicados a cada gallina estas reciben los 120 a 150 millones de espermatozoides por dosis, recomendada por Brillard (1993), Lake *et al.* (2003) y Juárez y Conejo (2004).

Cuadro 2. Efecto de la frecuencia de inseminación sobre la tasa de fertilidad de las gallinas.

GRUPOS	No. (Huevos)	FRECUENCIA	P O R C I E N T O	
			Fertilidad	Infertilidad
A	70	C/4 días	84.2	15.7
B	137	C/7 días	83.1	16.8
C	119	C/10 días	74.7	25.2

Donde: No. = número; C/4, C/7 y C/10 = cada cuatro, cada siete y cada diez, respectivamente.

Los resultados obtenidos respecto a la frecuencia de inseminación sobre la tasa de fertilidad de las gallinas se muestran en el cuadro 2; se determinaron tasas de fertilidad de 84.2, 83.1 y 74.7%, para frecuencia de cada cuatro, siete y diez días, respectivamente; observándose que la tasa de fertilidad más alta se presentó en las inseminadas cada 4 y 7 días, en comparación con el 74.7% de fertilidad encontrado en las gallinas inseminadas cada diez días.

Al respecto, Moya *et al.* (1999), obtuvieron observaciones similares, mientras que por otro lado, los resultados del presente trabajo difieren de los mencionados por Moya (2003); ya que determinó tasas de fertilidad superiores respecto a las obtenidas en el presente trabajo, sin embargo ambas investigaciones concluyen que la fertilidad tiende a descender cuando la frecuencia de inseminación se prolonga; es decir, cuando el intervalo es largo.

Cabe aclarar que en los trabajos de Moya (2003) se utilizaron patas de Pekín y pavas, aunque ya con anterioridad, Moya *et al.* (1999) habían mencionado que el ambiente uterino en el aparato reproductor de patas y gallinas es similar, por lo que no deben existir diferencias en la fertilidad si la inseminación se realiza distante de la puesta. Aunque lo rescatable en la presente comparación es que a mayor distancia entre inseminaciones corresponde menor fertilidad y viceversa.

Quizá, parte de la explicación del efecto de la frecuencia de inseminación sobre la tasa de fertilidad, resida en lo señalado por Sauveur y Reviers (1992) y Klein (2003), estos autores mencionan que los espermatozoides almacenados en los túbulos de almacenamiento de espermatozoides (SST) ubicados en la unión útero-vaginal (UVJ), mantienen su poder fecundante durante 3 ó 4 semanas, estos se van liberando de los SST por periodos adecuados hasta la región del *infundibulum* por mecanismos que hasta la fecha son pobremente entendidos.

Según Brillard (1993) y Lake *et al.* (2003) el máximo llenado de los SST de gallinas ponedoras requiere de un día; la presente investigación sugiere que al inseminar frecuentemente, se garantiza la existencia de espermatozoides jóvenes (frescos y viables) en cantidades considerables en dicho lugar, asegurando así tasas de fertilidad aceptables, puesto que, al inseminar constantemente con dosis de (125×10^6) se garantiza el llenado de este sitio de almacenamiento; ya que no existen mejoras en el porcentaje de fertilidad al inseminar con dosis de 100×10^6 o más de 125×10^6 (Sauveur y Reviers, 1992; Moya *et al.*, 1999 y Moya, 2003).

McDaniel *et al.* (1997) encontraron que cuando inseminaban con 25, 50 y 100×10^6 espermatozoides, resultaba un incremento lineal en el número de espermatozoides localizados en la unión útero-vaginal (UVJ). Sin embargo, las inseminaciones con 328×10^6 no produjeron incremento de espermatozoides en la UVJ. Lo que podría ayudar a entender al menos en parte, el porque no hay diferencias en las tasas de fertilidad cuando se insemina con 125×10^6 o con 328×10^6 espermatozoides.

Las observaciones de Bramwell *et al.*, (1995), Gumulka y Kapkowska (2005), concluyen con la existencia de una correlación positiva ($r = 90$) entre penetración del espermatozoide (SP) del disco germinal de la capa perivitelina (GD PL) y fertilidad; así mismo, se ha determinado que al inseminar con dosis de 100, 50 o 25 millones de esperm/50 microL, se obtienen valores de (SP) de 402, 19.5 y 14.1, con índices de fertilidad de 95.8, 92.4 y 83.3%, respectivamente (Bramwell *et al.*,

1995). Aunque en el presente estudio se utilizó una dosis única en los tres tratamientos o grupos.

Estudios similares hechos por Staines *et al.* (1998) demuestran que la frecuencia media de perforaciones de espermatozoides en la capa perivitelina interna y la capa vitelina externa está altamente correlacionada con la fertilidad. Sugiriendo que el conteo de las perforaciones en la capa perivitelina interna de los huevos puestos es un método conveniente para fijar la eficiencia y predecir la fertilidad de la parvada.

Por otro lado, la eficiente liberación de los espermatozoides de los SST está relacionada con factores como la edad, etapa del ciclo ovulatorio, tiempo de inseminación; lo que contribuye a limitar la fertilidad de las reproductoras. Es posible que factores como el horario, la dosis de inseminación (Moya *et al.*, 1999, Moya, 2003), la temperatura ambiente, la edad (Brillard y McDaniel, 1986; Brillard, 1993; Moya y González, 2001; Brillard, 2003; Juárez y Conejo, 2004) las condiciones de la alimentación (Yu *et al.*, 1992; Remena, 2001), ejerzan algún efecto sobre la fertilidad; lo cual puede explicar, al menos en parte, las diferencias observadas en la presente investigación.

Cuadro 3. Variables de fertilidad en los diferentes tratamientos o grupos.

VARIABLE	GRUPOS	POR CIENTO	
		No. (Huevos)	
Huevos eclosionados	A	37	52.8
	B	78	56.9
	C	45	37.8
Huevos picados no nacidos	A	0	0.0
	B	1	0.7
	C	1	0.8
Embriones muertos	A	22	31.4
	B	35	25.5
	C	43	36.1

En el Cuadro 3 se muestran los datos relativos a las tasas de eclosión para los tratamientos A, B y C obteniendo 52.8, 56.9 y 37.8%, respectivamente; siendo el tratamiento B en el que se obtuvo el porcentaje ligeramente más alto, seguido del tratamiento A y por último con la tasa más baja que corresponde al tratamiento C. Considerando el porcentaje mayor de la presente investigación (56.9%) es ligeramente inferior al reportado por Juárez y Ortiz (2001) quienes encontraron 60.7% de huevos eclosionados al realizar un estudio de incubabilidad y crianza en las aves criollas de traspatio; aunque es similar al hallazgo de Juárez (1996) quien obtuvo 58.0% de huevos eclosionados.

Es posible que las actuales tasas de eclosión, en parte, se deban a que en la presente investigación no se aplicó un protocolo de selección de huevo para incubar, es decir, se incubaron todos los huevos puestos durante el periodo de prueba. Sin embargo, Wilson (1996) menciona que la incubabilidad se mejora cuando se seleccionan los huevos con buena calidad de cáscara y adecuada uniformidad y porosidad de la misma. De igual modo, Sardá y Vidal (2003) reportan que la incubabilidad se ve afectada cuando los huevos se incuban

contaminados, con rupturas y defectos de cáscara y defectos internos de estos. Bramwell (2002) menciona que la incubabilidad de los huevos fértiles está determinada y sujeta a diversas condiciones una vez que los huevos son puestos durante el almacenamiento, transporte y pruebas de incubabilidad.

Respecto a las tasas de mortalidad embrionaria se encontró que la mayor fue de 36.1%, que corresponde al tratamiento C, le sigue 31.4 y 25.5% para los tratamientos A y B, respectivamente. En relación a lo anterior, Bramwell (2002) concluye que cuando hay pocos espermatozoides disponibles para fertilizar hay una reducción asociada a la fertilidad, que también incrementa la mortalidad embrionaria temprana, como se observó en el presente estudio.

El mismo autor, Bramwell (2002), menciona que como el espermatozoide reside dentro de los SST por un periodo extenso, así el tiempo ocasiona un decremento en el número de espermatozoides disponibles para fertilizar y un incremento ocasional de la muerte del embrión; lo cual explicaría la tasa encontrada en el tratamiento C. No obstante, en el tratamiento A pudieron influir otros factores, como los relacionados con limpieza y calidad del cascarón y no propiamente la edad del espermatozoide, puesto que se entiende que hubo siempre espermatozoides jóvenes listos para fertilizar.

Las tasas encontradas en el presente estudio son significativamente mayores a las reportadas por Juárez (1996), Juárez y Ortiz (2001) quienes encontraron 15.9% y 16.0% de mortalidad embrionaria respectivamente. De acuerdo con Quintana (1991), Sardá y Vidal (2003) las principales causas de mortalidad embrionaria temprana, de 0-5 días del periodo de incubación, se atribuyen a deficiencias en la ración de reproductores, así como también a la presencia de reproductores enfermos o viejos. Así mismo, Ricaurte (2005) menciona que la mortalidad embrionaria en los primeros días se debe a mal manejo del huevo, almacenamiento inapropiado y una temperatura de incubación inadecuada.

En relación a esta última causa, en la presente investigación la incubación fue diaria, lo que implicó abrir la incubadora diariamente con la consecuente descompensación de temperatura y humedad, lo que pudo repercutir en la mortalidad embrionaria.

Por otra parte, la mortalidad embrionaria tardía, según Hevia (1996), Sardá y Vidal (2003), Ricaurte (2005) es aquella que ocurre durante los tres últimos días del periodo de incubación, ocurre por exceso de CO₂, fallas en el volteo, alteraciones en la temperatura, humedad de incubación, y mal nutrición de reproductoras, aunque la única medición controlada fue la temperatura.

En consecuencia los resultados actuales posiblemente se deben al régimen de incubación artificial definido por Sardá (2002), en el sentido de que el régimen de incubación es el conjunto de factores físicos presentes en el medio ambiente que rodea al huevo. Los factores que lo integran son la temperatura, humedad, ventilación y volteo de los huevos. De todos ellos la temperatura oficia como el factor de mayor importancia, ya que inclusive, pequeñas variaciones sus valores pueden resultar letales para muchos embriones.

Cabe aclarar que ninguno de estos factores mencionados se investigaron a fondo, por ello, sería riesgoso establecer diversos juicios para explicar este fenómeno. Lo que si resultó evidente fueron los cambios de temperatura y humedad al abrir la incubadora frecuentemente durante el periodo experimental.

4. CONCLUSIONES

1. Con base en la concentración de espermatozoides por mililitro de eyaculado ($4,951.6 \times 10^6$) y a la dosis aplicada por inseminación (0.025 ml) cada gallina recibió en promedio 123, 775,000.05 espermatozoides.
2. Los índices de fertilidad por efecto de la frecuencia de inseminación observados fueron: cada 4 días, 84.2%; cada 7 días, 83.1% y cada 10 días 74.7%.
3. La capacidad fecundante del espermatozoide disminuye conforme se prolonga el tiempo post-inseminación, por ejemplo; a los 10 días, la infertilidad fue superior a 25%.

Sugerencias: es necesario realizar estudios posteriores en los cuales se consideren a fondo los factores propios del proceso de incubación como determinantes en los resultados de incubabilidad.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Bakst, M. R. and Cecil, H. C. 1982. Gross Appearance of turkey cloacae before and after single or multiple manual semen collection. Poultry Science. 13.08-82.
- Bramwell, R. K., Marks, H. L and Howarth, B. 1995. Quantitative determination of spermatozoa penetration of the perivitelline layer of the hen's ovum as assessed on oviposited eggs. Poultry Science. 74(11):1875-83.
- Bramwell, R. K. 2002. Fertility and embryonic mortality in breeders. Avian Advice. 4(2):1-3.
- Brillard, J. P. and McDaniel G. R. 1986. Influence of spermatozoa numbers and insemination frequency fertility in dwarf broiler breeder hens. [En Línea]. Poultry Science. 65 (12):23-34. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?> [Consulta: 07 de Febrero, 2005].
- Brillard, J. P. 1993. Sperm storage and transport following natural mating and artificial insemination. [En línea]. Poultry Science. 72(5): 8-923. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?> [Consulta: 07 de Febrero, 2005].
- Brillard, J. P. 2003. Factors affecting oviductal sperm storage in domestic fowl following artificial insemination. [En línea]. <http://www.Sciencedirect.com/science?> [Consulta: 05 de Febrero, 2005].
- Buxadé, C. C. 1999. Enciclopedia de la agricultura y ganadería. Ed. Océano/Centrum. Barcelona, España. p. 892-913.
- Cossato, M. M. F., Bagliacca M., Paci G. and Avanzi C. F. 1996. Fertiliting ability of semen of the muscovy duck. Rivista di Avicoltura. 65 (12):34-40.
- Das, S. K., Adhikary G. N., Islam M. N., Paul B. K and Das G. G. 2004. Artificial insemination (AI) by raw semen: its advantages and disadvantages in deshi chicken (*Gallus domesticus*). International Journal of Poultry Science. 3 (10): 662-663.
- Dudley, R. M. 2005. Maintaining fertility with late lay flocks. [En línea]. <http://www.butinfo.com/pdf-files/articles/fertility.pdf>. [Consulta: 05 de Mayo, 2005].

El manual Merck de Veterinaria & Co. inc. 1999. Inseminación artificial en aves de corral. 5ª ed. Ed. Océano-centrum. Barcelona, España. p.1851-1852.

Enciclopedia de los Municipios de Michoacán. 2000. Centro Estatal de Desarrollo Municipal, Gobierno del Estado de Michoacán. [En línea]. http://www.michoacan.gob.mx/municipios/89medio_fisico.htm. [Consulta: 21 de Febrero, 2005].

Gordon, F. T. 1985. Enfermedades de las aves domésticas. 2ª ed, Ed. Manual Moderno. México. D.F. p. 350-356.

Gumulka, M and Kapkowska, E. 2005. Age effect of broiler breeders on fertility and sperm penetration of the perivitelline layer of the ovum. Poultry Breeding. 30:10-59.

Hevia, F. 1996. Desarrollo embrionario del pollito. Nuestro Acontecer- Avícola. 3:34-39.

Juárez, C. A. 1996. Incubación de huevo de gallina criolla en condiciones ambientales del trópico seco. Rev. Cubana. Ciencia Avícola. 20:59-64.

Juárez, C. A y Ortiz, A. M. 2001. Estudio de la incubabilidad y crianza de las aves criollas de traspatio. F.M.V.Z. U.M.S.N.H. [En línea]. http://www.ejournal.unam.mx/vet_mex/vol32-01/RVM32105PDF. [Consulta: 30 de Septiembre, 2005].

Juárez, C. A y Conejo, N. J. 2004. Capacidad reproductiva de la parvada. Los Avicultores y su Entorno. 7(39):40-44.

Kasyanenko, S. V. 1995. Use of frozen semen of drahes. Vestsi Akademii Agranykh Navuk Belarvsi. 1:91-94.

Kirby, J. D., Tressler C. J. and Kirby Y. K. 1998. Evaluation of the duration of sperm fertilizing ability in five lines of commercial breeder and delaware cross males. Poultry Science. 77:1688-1694.

Kirby, J. D., Rhoads D. D. and Froman D. P. 2000. Heritable sperm degeneration in the domestic fowl. In the testis: from stem cell to sperm function. W. Goldberg. Springer Verlag Ny (In press).

Klein, H. H. 2003. Scientific Management of Turkey Breeder hens. Poultry Digest Online. 3 (5).

- Lake, P.E., Ravie O and Waddington D. 2003. Some effects of the composition of semen inseminated and the site of its deposition on fertility in *Gallus domesticus*.
- Mauldin, J. M. 2000. Fertilization of the avian embryo. [En línea]. <http://www.departament.caes.uga.edu/poultry/tips/tipsjuly00.htm>. [Consulta: 28 de Enero, 2005].
- McDaniel, C. D., Bramwell R. K and Howarth Jr. 1997. Development of a novel fluorescence technique for quantifying the total number of spermatozoa stored in the uterovaginal junction of hens. *Journal of Reproduction and Fertility*. 109: 173-179.
- McDaniel, C. 2004. The only good broiler breeder egg is a fertilized egg. [En línea]. <http://www.thepoultrysite.com/featuredarticle/FATopic.asp?AREA=Breeding&Display=203>. [Consulta: 05 de Mayo, 2005].
- Moya, A., Milanés C. y Pérez A. 1999. Influencia del horario, concentración espermática y frecuencia de inseminación sobre la fertilidad de patas Pekín Blanco. *Revista Cubana de Ciencia Avícola*. 23: 141-146.
- Moya, A y González, E. 2001. Influencia de la edad de las gallinas White Leghorn en la retención de la capacidad fertilizante del semen en el oviducto. *Revista Cubana de Ciencia Avícola*. 25: 159-163.
- Moya, A. 2003. Introducción de la inseminación artificial en el desarrollo de la cría de pavos. *Revista Cubana de Ciencia Avícola*. 26: 129-133.
- Quintana, J. A. 1991. *Avitecnia*. Manejo de las aves domésticas más comunes. 3^{ra} ed. Trillas. México, D.F. p. 68-94.
- Ramírez, V. A. 1999. Ovodiagnosis. Diagnóstico en el huevo fértil. *Los Avicultores y su Entorno*. (10):29-35.
- Remena, R. A. 2001. Improvement of incubation egg quality by nutrition. Segundo Simposio Internacional sobre Aves. Corcordia-SC-Brasil. 29-41.
- Ricaurte, G. S. 2005. Embriodiagnosis y ovoscopía. Análisis y control de calidad de los huevos incubables. [En línea]. <http://www.redveterinaria.org/revistas/reduct/n030305.html>. [Consulta: 29 de Septiembre, 2005].
- Sardá, R. J. 2002. Régimen de incubación artificial. [En línea]. <http://www.iaa.cu/>. [Consulta: 17 de Octubre, 2005].

- Sardá, R. J. y Vidal, A. P. 2003. Perdidas durante el proceso de incubación de los huevos. [En línea]. <http://www.ija.cu/>. [Consulta: 27 de Septiembre, 2005].
- Sauveur, B. y Reviers, M. 1992. Reproducción de las aves. 2ª ed. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. p. 35-125, 269-290.
- Staines, H. J., Middleton R. C., Laughlin K. F and Wishart G. J. 1998. Quantification of a sperm-egg interaction for estimating the mating efficiency of broiler breeder flocks. [En línea]. Poultry Science. 39 (2):273-277. <http://www.ingentaconnect.com/content/tandf/cbps/1998/00000039/...> [Consulta: 02 de Mayo, 2005].
- Tommaso, P. and Birkhead, T. R. 2000. For whom does the hen cackle? The function of postoviposition cackling. [En línea]. 33 (5): 1021-1029. <http://www.Sciencedirect.com/science?> [Consulta: 28 de Enero, 2005].
- Wilson, H. R. 1996. Incubation and hatching of ratites. Poultry Science. 3(26):11-15.
- Yu, M. W., Robinson F. E., Charles R. G. and Weingardt R. 1992. Effect of feed allowance during rearing and breeding on females broiler breeders. [En línea]. Poultry Science. 71: 1750-1761. http://www.engormix.com/s_searcher.asp [Consulta: 29 de Enero, 2005].

6. ANEXOS



Imágenes 1 y 2. Técnica de extracción del semen.



Imágenes 3 y 4. Técnica de inseminación artificial.



Imagen 5. Técnica de eversión del oviducto.