

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



TESIS DE GRADO

**EVALUACIÓN DE DOS PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE
CELO EN LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN OVINOS (*Ovis
aries*), CON SEMEN FRESCO Y CONGELADO EN LA ESTACIÓN
EXPERIMENTAL DE PATACAMAYA**

LOZA PATTY JULIO IGNACIO

LA PAZ – BOLIVIA

2020

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE AGRONOMÍA
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

**EVALUACION DE DOS PROTOCOLOS DE SINCRONIZACIÓN DE CELO EN
LA INSEMINACION ARTIFICIAL EN OVINOS (*Ovis aries*), CON SEMEN
FRESCO Y CONGELADO EN LA ESTACION EXPERIMENTAL DE
PATACAMAYA**

Tesis De Grado Presentado como
Requisito parcial para optar el Título
De Ingeniero Agrónomo

LOZA PATTY JULIO IGNACIO

Asesores:

Ing. M.Sc. Rubén Tallacagua Terrazas

M.V.Z. M.Sc. René Juan Condori Equice

Tribunal Examinador:

M.V.Z. Ph. D. Celso Ayala Vargas

Ing. M.Sc. Zenón Martínez Flores

Ing. Eloy Hernán Huacani Rivera

Aprobado

Presidente Tribunal Examinador.....

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado a la memoria de mi hermano Marco Denis Loza Patty, quien confió en mi capacidad, me animo constantemente en cada paso que di en mi vida y estar allí cuando más lo necesité. Los consejos y la voluntad de Marco en su último año de vida me motivaron a no rendirme en las peores circunstancias para poder llegar a ser la persona que hoy cumplió con su deber como hijo y hermano.

“siempre se comete errores, pero para mejorar hay que aprender de ellos para saber que no hacer”.

Romanos 8:31 “Ante esto, ¿Qué diremos? Si Dios está por nosotros, ¿Quién contra nosotros?”

AGRADECIMIENTOS

Por llevar a cabo el presente trabajo de principio a fin, quiero expresar mis más sinceros agradecimientos hacia aquellas personas que me apoyaron a lo largo de mi carrera hasta concretar el presente trabajo:

A Dios por ser un pilar fundamental que con su palabra ayudo a corregir mi camino y saber que tengo un gran respaldo del cielo para ser el mejor.

A mis queridos padres Julio Loza Ajata y Lidia Patty Condori, por el apoyo sentimental, moral y económico que me ayudaron a forjar mi futuro.

A mis hermanos(as) Estefanía Loza, Marco Loza (†), Cosme Loza, por estar a mi lado en momentos difíciles apoyándome en cada situación para salir adelante.

A mi asesor y amigo Ing. Rubén Tallacagua, quien me acompañó en el proceso de esta investigación guiándome y apoyándome en cada situación que afronte.

Al Tec. Sup. Eulogio Kantuta, por ser mi maestro que estuvo orientándome en cada ensayo de laboratorio hasta la inseminación artificial.

A mi asesor M.V.Z. René Condori Equice, por los consejos en la etapa más dura de la investigación.

Al Ing. M.Sc. Zenón Martínez por apoyarme en la investigación su experiencia y consejos.

Al director de la Estación Experimental Patacamaya – UMSA Ing. M.Sc. Marco Patiño, por el gran apoyo que me brindo durante el tiempo que permanecí en la institución.

A mis revisores Ing. M. Sc. Zenon Martinez, Ing. Eloy H. Huacani y M.V.Z. Ph D. Celso Ayala Vargas por aportar su experiencia en la redacción del presente documento.

A mis compañeros Mike Jaimes, Ever Vargas, Juvenal Choque, Ximena Condori, Lesly Laura, Miguel Poma, Rubén Calani, Emma Ticona, Nico Mamani y Mishel Mamani por la ayuda incondicional que me brindaron en el trabajo de campo.

A los Técnicos de la Estación Patacamaya, por brindar la ayuda en el manejo del rebaño y en especial al Técnico Superior Gumercindo Ramos que ha sido un gran amigo de confianza que me ayudo en el proceso de la investigación.

A mis ovejas y carnero 013 por haberme enseñado durante el tiempo que las cuide.

INDICE GENERAL

Contenido	i
Índice de Figuras	vi
Índice de Tablas	viii
Resumen	ix
Abstrac	xi

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes	2
1.2. Justificación	2
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. REVISION BIBLIOGRAFICA	4
3.1. La producción de ovinos en Bolivia	4
3.2. Principales razas de ovinos.....	4
3.3. Aparato reproductor del macho	5
3.3.1. Testículo, escroto y epidídimo	5
3.3.2. Ductos excretores.....	6
3.3.3. Glándulas anexas	7
3.3.4. Pene y uretra	7
3.4. Espermatogénesis	8
3.5. Aparato reproductor de la hembra.....	9
3.5.1. Ovario.....	9
3.5.2. Oviductos	9
3.5.3. Útero	10
3.5.4. Cérvix	10
3.5.5. Vagina	11
3.5.6. Vulva	12
3.6. Fisiología reproductiva de la hembra	12
3.7. Endocrinología de la reproducción	12
3.8. Hormonas reproductivas	13
3.8.1. Hormonas hipotalámicas liberadoras	13
3.8.1.1. Hormonas liberadoras de gonadotropina	13
3.8.2. Oxitocina	13
3.8.3. Hormonas hipofisarias	13
3.8.4. Hormonas Gonadales ováricas.....	15

3.8.4.1.	Estrógenos.....	15
3.8.4.2.	Progesterona	15
3.8.4.3.	Inhibinas.....	15
3.8.5.	Hormonas Placentarias	16
3.8.5.1.	Hormona gonadotropina coriónica	16
3.8.5.2.	Hormona gonadotropina coriónica equina	16
3.8.6.	Hormonas uterinas	16
3.8.6.1.	Prostaglandina	16
3.9.	Ciclo estral de la borrega	16
3.9.1.	Duración del ciclo estral y estro	17
3.9.2.	Ovulación	17
3.9.3.	Cuerpo lúteo.....	17
3.10.	Momento de la ovulación del ciclo estral.....	18
3.11.	Fases del ciclo estral	18
3.11.1.	Fase folicular o de regresión lútea (Proestro)	18
3.11.2.	Fase Estro o Celos	18
3.11.3.	Fase Metaestro.....	19
3.11.4.	Fase Diestro	19
3.12.	Estacionalidad reproductiva de la borrega	19
3.12.5.	Factores externos e internos que regulan la estacionalidad reproductiva de la oveja	20
3.13.	Métodos de sincronización de celo	21
3.13.1.	Método CIDR.....	21
3.13.2.	Método prostaglandina	21
3.14.	Inseminación artificial.....	22
3.14.1.	Importancia de la inseminación artificial.....	22
3.14.2.	Inseminación artificial con semen congelado	22
3.14.2.1.	Colecta.....	23
3.14.2.2.	Evaluaciones macroscópicas	23
3.14.2.2.1.	Color	24
3.14.2.2.2.	Volumen	24
3.14.2.2.3.	Ph.....	24

3.14.2.3. Evaluaciones microscópicas	24
3.14.2.3.1. Motilidad masal	25
3.14.2.3.2. Motilidad individual.....	25
3.14.2.3.3. Concentración espermática	25
3.14.2.3.4. Viabilidad	25
3.14.2.3.5. Morfología	26
3.14.2.4. Dilutores empleados para crioconservación	26
3.14.2.5. Dilución de semen de carnero.....	28
3.14.2.6. Descenso de temperatura - Tiempo de estabilización	28
3.14.2.7. Congelamiento Horizontal y definitivo de las pajuelas	28
3.14.2.8. Manipulación y almacenamiento de semen congelado	28
3.14.2.9. Descongelamiento de pajuelas	29
3.14.2.10. Examen post – descongelamiento	29
3.14.3. Inseminación artificial con semen fresco.....	29
3.14.4. Inseminación artificial a tiempo fijo	29
3.14.5. Tipos de inseminación artificial	29
3.14.6. Ventajas y desventajas de la inseminación artificial.....	30
3.15. Efectos de las hormonas sobre el control del estro	32
3.15.1. Mecanismo de acción del dispositivo CIDR	32
3.15.2. Mecanismo de acción de la Cicladase	32
3.15.3. Gonadotropina equina coriónica	33
3.16. Diagnóstico de preñez	33
3.16.1. Métodos de la detección de preñez	33
3.16.1.1. Método de Ultrasonografía	34
3.16.1.2. Método del refractómetro	34
3.16.1.3. Método de palpación abdominal.....	35
3.17. Factores que afectan las pérdidas de preñez.....	35
4. LOCALIZACION	37
4.1. Ubicación	37
4.2. Características de La zona.....	38
4.2.1. Clima	38
4.2.2. Precipitación Pluvial.....	38

4.2.3.	Temperatura	38
4.2.4.	Vegetación	39
5.	MATERIALES Y MÉTODOS	40
5.1.	Materiales	40
5.1.1.	Material Biológico	40
5.1.2.	Materiales de campo	40
5.1.3.	Materiales de laboratorio	40
5.1.4.	Insumos químicos.....	41
5.1.5.	Insumos veterinarios.....	41
5.1.6.	Equipos	41
5.2.	Metodología	42
5.2.1.	Entrenamiento del carnero.....	42
5.2.2.	Colecta de semen.....	42
5.2.3.	Elaboración de dilutor	43
5.2.4.	Evaluaciones macroscópicas del semen de carnero.....	45
5.2.5.	Evaluaciones microscópicas del semen de carnero.....	45
5.2.6.	Proceso de congelación de semen	45
5.2.7.	Selección de hembras destinadas para la investigación	47
5.2.8.	Marcaje de hembras seleccionadas.....	48
5.2.9.	Aplicación de Vitaminas, mineral y desparasitantes	48
5.2.10.	Proceso de sincronización de celo.....	49
5.2.11.	Detección de celo	52
5.2.12.	Proceso de inseminación Artificial con semen congelado	52
5.2.13.	Proceso de inseminación artificial con semen fresco	55
5.2.14.	Detección de preñez.....	56
5.2.15.	Procedimiento experimental	58
5.2.15.1.	Diseño Experimental	58
5.2.16.	Tratamientos.....	58
5.2.17.	Variables de respuesta	59
5.2.17.1.	Color	59
5.2.17.2.	Volumen eyaculado.....	59

5.2.17.3. pH de semen.....	59
5.2.17.4. Motilidad masal	59
5.2.17.5. Motilidad individual	60
5.2.17.6. Concentración espermática.....	61
5.2.17.7. Viabilidad	62
5.2.17.8. Morfología	63
5.2.17.9. Porcentaje de hembras en celo.....	63
5.2.17.10. Porcentaje de preñez	64
5.2.17.11. Costo de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF).	64
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	65
6.1. Variables Macroscópicas	65
6.1.1. Color.....	65
6.1.2. Volumen	65
6.1.3. pH.....	67
6.2. Variables Microscópicas.....	68
6.2.1. Motilidad masal.....	68
6.2.2. Motilidad Individual	68
6.2.3. Concentración espermática	70
6.2.4. Vitalidad.....	70
6.2.5. Morfología	71
6.3. Comparación de variables microscópicas de semen fresco y congelado	71
6.4. Porcentaje de borregas en celo.....	73
6.5. Porcentaje de preñez	76
6.6. Análisis económico por protocolo.....	79
6.6.1. Costos operativos de ambos protocolos para la IATF	79
7. CONCLUSIONES.....	82
8. RECOMENDACIONES.....	83
9. BIBLIOGRAFIA	84

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Raza Corriedale	5
Figura 2. Raza Targhee	5
Figura 3. Esquema anatómico del testículo	6
Figura 4. Extracción del pene y observación del proceso uretral	7
Figura 5. Diagrama de la espermatogénesis del carnero. Duran del campo	8
Figura 6. Corte longitudinal del cérvix. Fuente propia	10
Figura 7. Tipos de orificios cervicales	11
Figura 8. Técnica de Inseminación artificial	22
Figura 9. Vagina Artificial	23
Figura 10. Anormalidades de los espermatozoides	26
Figura 11. Esquema de la inseminación artificial intracervical	30
Figura 12. Esquema de la inseminación artificial intrauterina	30
Figura 13. Esquema de información de pantalla de un ecógrafo (ALOKA SSD-500)	34
Figura 14. Evaluación de palpación abdominal	35
Figura 15. Mapa de Bolivia	37
Figura 16. Mapa del Departamento de La Paz	37
Figura 17. Municipios de la Prov. Aroma	37
Figura 18. Estación Experimental Patacamaya	37
Figura 19. Entrenamiento del carnero Targhee en Choquenaira	42
Figura 20. Colecta de semen	43
Figura 21. Secado la clara de la yema	44
Figura 22. Rompiendo la membrana para extraer la yema	44
Figura 23. Rotulado de pajuelas para identificación	46
Figura 24. Congelación horizontal con vapor de nitrógeno	47
Figura 25. Grupo de hembras destinadas para la inseminación artificial a tiempo fijo	48
Figura 26. Protocolo de sincronización de celo empleando CIDR	49
Figura 27. Limpieza y desinfección de la vulva	50
Figura 28. Protocolo de sincronización de celo con eCG y prostaglandina f2 α	51
Figura 29. Aplicando eCG vía intramuscular	51

<i>Figura 30.</i> Extracción de la pajuela del termo	53
<i>Figura 31.</i> Desinfección del especulo	53
<i>Figura 32.</i> Sujeción de la hembra y limpieza de la vulva	54
<i>Figura 33.</i> Ubicación de la entrada al cérvix	54
<i>Figura 34.</i> Inseminación Artificial con semen congelado.	55
<i>Figura 35.</i> Armado de pistola de inseminación para semen fresco	56
<i>Figura 36.</i> Lectura del Ecógrafo	57
<i>Figura 37.</i> Detección de preñez observada en la pantalla del ecógrafo	57
<i>Figura 38.</i> Colocando el semen en la cámara de Newbahuer	61
<i>Figura 39.</i> Color de semen obtenido	65
<i>Figura 40.</i> Progreso del volumen eyaculado durante el entrenamiento	66
<i>Figura 41.</i> Ondas de la motilidad masal vistas en microscopio	68
<i>Figura 42.</i> Grafica circular, espermatozoides con y sin movimiento (%)	69
<i>Figura 43.</i> Grafica circular, espermatozoides vivos y muertos (%)	70
<i>Figura 44.</i> Grafica circular, malformaciones de los espermatozoides (%)	71
<i>Figura 45.</i> Grafica de comparación entre semen fresco y el descongelado (%)	72
<i>Figura 46.</i> Porcentajes de hembras en celo obtenidos por cada protocolo	74
<i>Figura 47.</i> Porcentajes de hembras en celo obtenidos por cada Tratamiento	75
<i>Figura 48.</i> Porcentajes de preñez respecto a cada protocolo empleado	77
<i>Figura 49.</i> Porcentajes de preñez respecto al tipo de semen empleado	77
<i>Figura 50.</i> Porcentajes de preñez respecto a la formulación de tratamientos	78
<i>Figura 51.</i> Comparación de Porcentajes de preñez respecto a los costos por protocolo	81

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Estación de cría de las diferentes razas</i>	20
Tabla 2. <i>Componentes de un diluyente para carnero</i>	27
Tabla 3. Principales especies nativas en el municipio de Patacamaya	39
Tabla 4. <i>Composición de 50 ml de dilutor</i>	43
Tabla 5. <i>Tratamientos planteados</i>	58
Tabla 6. <i>Concentración espermática en base al color de eyaculado</i>	59
Tabla 7. <i>Escala de valoración de la motilidad en base al movimiento</i>	60
Tabla 8. <i>Numero de colectas acorde a la fecha</i>	66
Tabla 9. <i>Valoración de la C.E. en carnerillos mayor a 14 meses de edad</i>	67
Tabla 10. <i>Valoración de espermatozoides móviles</i>	69
Tabla 11. <i>Análisis de varianza de la Variable % borregas en celo</i>	73
Tabla 12. <i>Prueba de medias por Duncan de % de hembras en celo</i>	74
Tabla 13. <i>Análisis de varianza de la Variable Porcentaje de preñez</i>	76
Tabla 14. <i>Análisis de costo por protocolo de sincronización 1</i>	79
Tabla 15. <i>Análisis de costo por protocolo de sincronización 2</i>	91

RESUMEN

La investigación se realizó en la Estación Experimental Patacamaya – UMSA, ubicado en el municipio de Patacamaya, provincia Aroma del departamento de La Paz, situado a 102 Km de la sede de gobierno, la misma ubicada geográficamente a 17°15'41,15" de latitud Sud y 67°56'38,20" de longitud Oeste a una altura de 3789 m.s.n.m. El Objetivo general del trabajo de investigación fue “Evaluación de dos protocolos de sincronización de celo en la inseminación artificial en ovinos (*Ovis aries*), con semen fresco y congelado en la Estación Experimental de Patacamaya”.

El diseño estadístico que se empleo fue de completamente al azar con arreglo bifactorial en cuatro tratamientos y ocho repeticiones, los factores de estudio fueron: Factor A Protocolo de sincronización de estro, empleando el protocolo 1 y protocolo 2, y el Factor B el tipo de semen empleando semen fresco y semen congelado del carnero 013 (Papi) perteneciente a la Estación Experimental de Patacamaya – UMSA, la sincronización e inseminación artificial se realizó en 32 hembras multíparas de 6 y 8 dientes de condición corporal 3, agrupadas en cuatro tratamientos, cada uno conformado por 8 hembras en la cual se emplearon los siguientes factores el T1 protocolo 1 – semen congelado, T2 protocolo 1 – semen fresco, T3 protocolo 2 – semen congelado y T4 protocolo2 – semen fresco.

Las variables de respuesta que se evaluaron fueron: variables macroscópicas del semen como color, pH y volumen, variables microscópicas de semen motilidad masal, motilidad individual, concentración espermática, vitalidad y morfología, porcentaje de hembras en celo, porcentaje de preñez y costos por protocolo empleado.

Los resultados obtenidos llegaron a mostrar una buena calidad de semen del carnero 013 (Papi) con un volumen de 2 ml, color blanco – cremoso, pH de 6,8, motilidad masal categoría 5 (excelente), motilidad individual de 82 %, concentración espermática de 4250×10^6 esp./ml., vitalidad de 83%, morfología de 89,6%. En cuanto a la aplicación de los protocolos si hubo diferencias significativas tanto el T1 y T2 que se empleó el protocolo 1 se obtuvo 100% de hembras en celo en cambio al aplicar el protocolo2 el T3 obtuvo un 50% y T4 un 62,5%, en cuanto a los resultados

posteriores a la inseminación sobre el porcentaje de preñez estadísticamente no hubo diferencias significativas, pero los porcentajes de preñez por tratamiento fueron los siguientes: T1 75%, T2 y T4 50% y el T3 un 37,5 %.

En cuanto a los costos para la IATF para cada protocolo se obtuvo los siguientes datos, empleando el protocolo 1 se tiene un costo de 111,01 Bs obteniendo un 62,5 % de preñez y empleando el protocolo 2 se tiene un costo de 76,01 Bs obteniendo un 50% de preñez y se puede deducir que aumentando el precio para emplear el protocolo 1 se tiene una mayor probabilidad de preñez que utilizando el protocolo 2.

ABSTRACT

The research was carried out at the Patacamaya Experimental Station - UMSA, located in the municipality of Patacamaya, Aroma province of the department of La Paz, located 102 km from the government headquarters, the same geographically located at 17 ° 15'41.15 " South latitude and 67 ° 56'38.20 "West longitude at a height of 3789 meters above sea level The general objective of the research work was "Evaluation of two heat synchronization protocols in artificial insemination in sheep (*Ovis aries*), with fresh and frozen semen at the Experimental Station of Patacamaya".

The statistical design that was used was completely randomized with a bifactorial arrangement in four treatments and eight repetitions, the study factors were: Factor A, protocol of estrus synchronization, using protocol 1 and protocol 2, and Factor B the type of semen using fresh semen and frozen semen of ram 013 (Papi) belonging to the Experimental Station of Patacamaya - UMSA, the synchronization and artificial insemination were carried out in 32 multiparous females of 6 and 8 teeth of body condition 3, grouped in four treatments, each one made up of 8 females in which the following factors were used: protocol T1 - frozen semen, T2 protocol 1 - fresh semen, T3 protocol 2 - frozen semen and T4 protocol 2 - fresh semen.

The response variables that were evaluated were: macroscopic variables of semen such as color, pH and volume, microscopic variables of semen mass motility, individual motility, sperm concentration, vitality and morphology, percentage of females in heat, percentage of pregnancy and costs per protocol employee.

The results obtained showed a good quality of semen from sheep 013 (Papi) with a volume of 2 ml, white - creamy color, pH of 6.8, mass motility category 5 (excellent), individual motility of 82%, concentration 4250×10^6 sp./ml. sperm, 83% vitality, 89.6% morphology. Regarding the application of the protocols, if there were significant differences in both T1 and T2, that protocol 1 was used, 100% of females were in heat, whereas when applying protocol2, T3 obtained 50% and T4 62.5% Regarding the results after insemination on the percentage of pregnancy, there were no statistically significant differences, but the pregnancy percentages by treatment were the following: T1 75%, T2 and T4 50% and T3 37.5%.

Regarding the costs for the IATF for each protocol, the following data was obtained, using protocol 1 it has a cost of 111,01 Bs obtaining a 62.5% pregnancy and using protocol 2 it has a cost of 76,01 Bs obtaining a 50% pregnancy and it can be deduced that increasing the price to use protocol 1 has a higher probability of pregnancy than using protocol 2.

1. INTRODUCCIÓN

La ganadería ovina ha ido cobrando mayor importancia en estos últimos años, llegando a establecerse en el altiplano como una fuente laboral y de ingresos para las familias que se dedican a esta actividad. Por ello es muy importante que la producción de ovinos tenga un enfoque en el mejoramiento genético y manejo tecnificado, que ayuden al bolsillo de los criadores de ovinos.

Uno de los pilares para cualquier especie en producción es la garantía que se brinda en la reproducción, porque es la base para poder generar reposición de animales nuevos con características deseables, siendo el punto de partida para realizar un programa de mejoramiento genético.

Actualmente los productores de ovinos se enfocan en garantizar la reproducción de su rebaño en base a la monta natural, contando con una cantidad menor de machos reproductores que llegan a cubrir a un número alto de hembras en estación reproductiva, sin embargo, el detalle del problema consta en adquirir machos de buenas características y a su vez la alimentación que se requiere para mantener un macho destinado solo para la reproducción.

Una técnica que empieza a despertar curiosidad en los productores de ovinos y resulta ser de mucha utilidad es la inseminación artificial a tiempo fijo, que permite al productor contar con ventajas para poder realizar la mejora de su rebaño. Dentro la técnica de inseminación artificial existe diferentes tipos entre las más conocidas; inseminación artificial cervical y la inseminación artificial intrauterina (IAIU), y se la puede realizar utilizando semen congelado o semen fresco, evitando así la presencia de carneros dentro de un rebaño, proporcionando al productor ventajas como el costo, en cuanto a la parte reproductiva se refiere.

Sin embargo, resulta necesario tener agrupados los partos a fin de obtener lotes homogéneos de corderos, así como también prever con cierta exactitud las fechas de parto para organizar su atención, por lo cual deben aplicarse métodos para la sincronización de celos (Raso 2004).

1.1. Antecedentes

Oviedo (2009), señala que la inseminación artificial es una excelente técnica que nos ayuda a mejorar la calidad del rebaño ovino y también caprino.

Por otra parte, Gibbons y Cueto (2007), indican que la inseminación artificial permite incrementar el aprovechamiento de un reproductor, al poder obtener un gran número de crías del mismo padre. Esto es posible debido a que mediante un adecuado fraccionamiento del semen colectado es posible obtener un número de crías identificadas en su paternidad.

Estudios realizados por Naim et al. (2009) en la inseminación artificial en ovinos concluyen que existe un alto porcentaje de preñez, independientemente de la concentración espermática, cuando se utilizó el menor tiempo de preservación seminal, evidenciando el efecto negativo de un prolongado periodo de conservación.

Christie (2008), señala que la inseminación intrauterina con semen fresco es un método relativamente fácil de aplicar donde la deposición de semen es mucho más profunda que el método de inseminación vaginal, lo que aumenta el índice de fertilidad.

1.2. Justificación

Ante la falta de información en algunos sectores productivos, en cuanto a la inseminación artificial en ovinos se refiere, existe una problemática de conocimientos de costos, manipulación de animales y de beneficios que se logra obtener con esta biotecnología reproductiva, por lo tanto muchos productores siguen optando por una monta natural, debido a que no existen instituciones que muestren la realidad de la aplicación de esta técnica y cuenten con personal calificado que pueda brindar el servicio de inseminación artificial.

Por lo tanto, en la Estación Experimental Patacamaya – UMSA, se pretende mostrar el empleo de la técnica de inseminación artificial a tiempo fijo en ovinos, utilizando dos tipos de protocolos en diferentes hormonas y tiempo a aplicarse. De este modo se presenciaría los resultados obtenidos, se hablaría de porcentaje de logro de cada

protocolo, para posterior ofrecer a los productores de ovinos la técnica de inseminación artificial, mostrando el protocolo ideal de sincronización de celo con un alto porcentaje de preñez, que sin lugar mejorara la calidad genética de sus animales con la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

- Evaluar dos protocolos de sincronización de celo en la inseminación artificial en ovinos (*Ovisaries*) con semen fresco y congelado en la Estación Experimental de Patacamaya.

2.2. Objetivos específicos

- Evaluar las características macroscópicas del semen fresco.
- Evaluar las características microscópicas del semen fresco y semen congelado.
- Determinar el efecto de los sincronizadores en el celo y el porcentaje de preñez en ovinos.
- Determinar los costos de producción de dos protocolos de sincronización de celo para inseminación artificial con semen fresco y congelado en ovinos (*Ovis aries*).

3. REVISION BIBLIOGRAFICA

3.1. La producción de ovinos en Bolivia

Menacho (2014), cita que la producción de carne ovina crece poco a poco en el país y, a decir de los criadores, tiene un amplio futuro gracias a su sabor y a su textura. Según estimaciones de la Institución Pública Descentralizada (IPD), con su programa de rumiantes menores, en 2014 se alcanzó una producción de 12.735 toneladas de carne, un poco más a comparación de 2013, cuando la oferta fue de 12.615 toneladas. La Paz ocupa el primer lugar, con 5.238 toneladas de carne; seguido por Potosí, con 2.157 toneladas; Oruro; Cochabamba y Chuquisaca. Los datos de la IPD también dan cuenta de que hasta el 2011 Bolivia tenía registrado un hato ovino de 8.877.510 y en 2013 el consumo de esta carne, aunque está en aumento, solo alcanzó el 2%, muy por debajo de la porcina con un 6%, la vacuna con un 8% y la de pescado con un 31%. Por otra parte, destaca que la producción de ovinos se encuentra concentrada a nivel de pequeños productores, en sistemas extensivos en las zonas del altiplano y valles. Son alimentados con pastos naturales en las zonas altas andinas y con residuos de cosechas y malezas en los valles interandinos. En la crianza familiar predomina el ovino criollo, con buena rusticidad, pero con bajos niveles productivos de lana y carne, Menacho (2014).

3.2. Principales razas de ovinos

Menacho, (2014) da a conocer que el coordinador del programa de rumiantes menores Jhonny Rojas en comunicación verbal aseguró que gran parte del hato ovino está compuesto por ganado criollo introducido hace más de 500 años en el país; sin embargo, existen algunos avances importantes y focalizados en Oruro, en los municipios de El Choro, Toledo y Caracollo, donde se han introducido importantes razas tanto de producción cárnica como lechera y de lana. Estas razas son Corriedale, principalmente productoras de lana que ha alcanzado buenos parámetros en la producción de carne; la Hampshire Down, especializada para la producción de carne; la Suffolk; animales de doble propósito (carne y leche) y Assblack, exclusivos para producción de leche.



Figura 1. Raza Corriedale. Fuente propia, (2019).



Figura 2. Raza Targhee. Fuente propia, (2019).

3.3. Aparato reproductor del macho

Según Duran del campo (1980), los órganos genitales del carnero están constituidos por los testículos, ductos excretores, glándulas anexas, pene y uretra; los primeros encargados de la producción de los espermatozoides y de la hormona de la masculinidad; los segundos de conducir los gametos, los terceros de diluir, dar volumen y agregar ciertas características al producto elaborado por los testículos y los cuartos, de conducir dicha secreción hacia los genitales femeninos.

3.3.1. Testículo, escroto y epidídimo

Los testículos son órganos globulosos, que tienen una doble función, la de producir células germinales (los espermatozoides), y la de secretar la hormona masculina (testosterona) Duran del campo (1980). Están suspendidos por el cordón testicular dentro de una derivación de la piel denominada escroto, cuya función fundamental es proporcionar a aquellos un ambiente con una temperatura 2 a 3 grados inferior a la del interior del abdomen.

Los espermatozoides pasan al epidídimo por los vasos deferentes. El epidídimo es un conducto considerablemente largo, contorneado, que conecta los vasos eferentes y los conductos deferentes. La cabeza del epidídimo está aplicada al mismo polo del testículo por donde penetran nervios y vasos. El cuerpo del epidídimo se prolonga paralelamente al eje mayor del testículo, en tanto que la cola del epidídimo se

continúa con el conducto deferente, el cual regresa por el cuerpo del epidídimo hasta la región de la cabeza, donde entra en el cordón espermático (Frandsen, 1996).

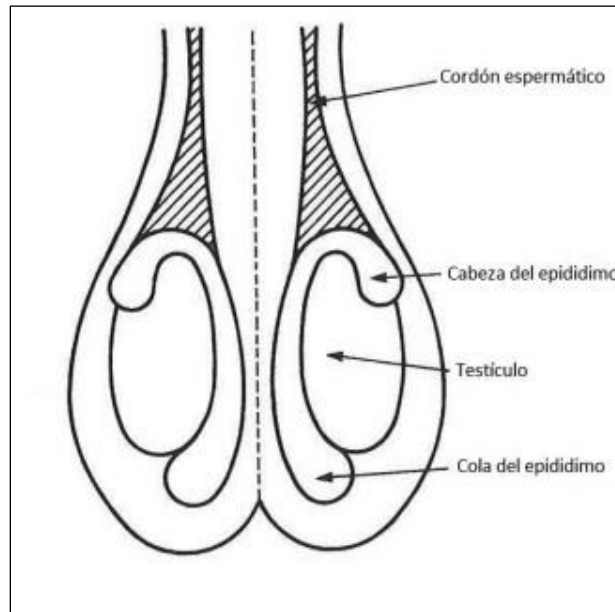


Figura 3. Esquema anatómico del testículo. Canto *et al*, (2012)

3.3.2. Ductos excretores

La cola del epidídimo se continúa con el conducto o canal deferente que, ascendiendo pegado al borde del testículo, se introduce dentro del cordón testicular o Binza junto a un paquete de elementos integrado por venas, arterias, nervios y fibras musculares del cremáster. Dentro ya de cavidad abdominal se ensancha formando las ampollas de Henle ubicadas sobre el cuello de la vejiga. Desde allí, dos breves canales denominados conductos eyaculadores, parten hacia la uretra incluida en el espesor del pene, comunicando así los tubos seminíferos con el medio exterior. Estos ductos son los que se intervienen quirúrgicamente antes de penetrar en la cavidad abdominal a efectos de esterilizar los carneros y prepararlos para “retarjo” (Duran del Campo, 1980)

3.3.3. Glándulas anexas

Duran del campo, (1980) describe los órganos sexuales internos, como un conjunto de glándulas denominadas anexas. Además, las vesículas seminales, están situadas sobre el cuello de la vejiga; la próstata, detrás del cuello de la misma; las glándulas Cowper, sobre la uretra y las glándulas de Littre, en el espesor de la uretra. Todas ellas dan fluidez, volumen y movilidad al eyaculado que, sin sus excreciones, estaría casi exclusivamente por espermatozoides.

3.3.4. Pene y uretra

La uretra finalmente, atravesando el pene, termina en un filamento denominado prolongamiento uretral o apéndice vermiforme, de importante función en el momento del servicio natural. La ausencia de este filamento (extirpación quirúrgica en casos de extracción de cálculos), no determina, sin embargo, la esterilidad del animal (Duran del campo, 1980).

El órgano masculino de la cópula, el pene, puede dividirse en tres grandes áreas: glande, o extremo libre; cuerpo, o parte principal, y dos arcos o raíces, que se unen al arco isquiático de los pelvis cubiertos por musculo isquiocavernoso (Frandsen, 1996).



Figura 4. Extracción del pene y observación del proceso uretral. Canto *et al*, (2012)

3.4. Espermatogénesis

Como su nombre lo indica, este proceso significa la génesis de los espermatozoides. La célula inicial, denominada por algunos, arquigonias, y más modernamente gonocitos, llegada la pubertad, comienza a dividirse dando lugar a un tipo de células diferenciadas, denominadas espermatogonias, situadas contra la membrana basal de los tubos seminíferos. Existen en realidad distintos tipos de espermatogonias, diferenciadas solamente por el aspecto de su núcleo. La espermatogonia tipo A de núcleo liso, luego de varias divisiones da lugar a células de núcleo costroso, denominadas espermatogonias tipo B. La última mitosis de estas espermatogonias da lugar a los espermatocitos primarios, siendo éstos las células que sufren la división meiótica, es decir, la mitosis en cada una de las células madre. Esa reducción cromosómica permite la sobrevivencia de la especie, dado que, al fusionarse el espermatozoide con el óvulo, que también ha sufrido reducción similar, permiten nuevamente restablecer la cantidad cromosómica inicial.

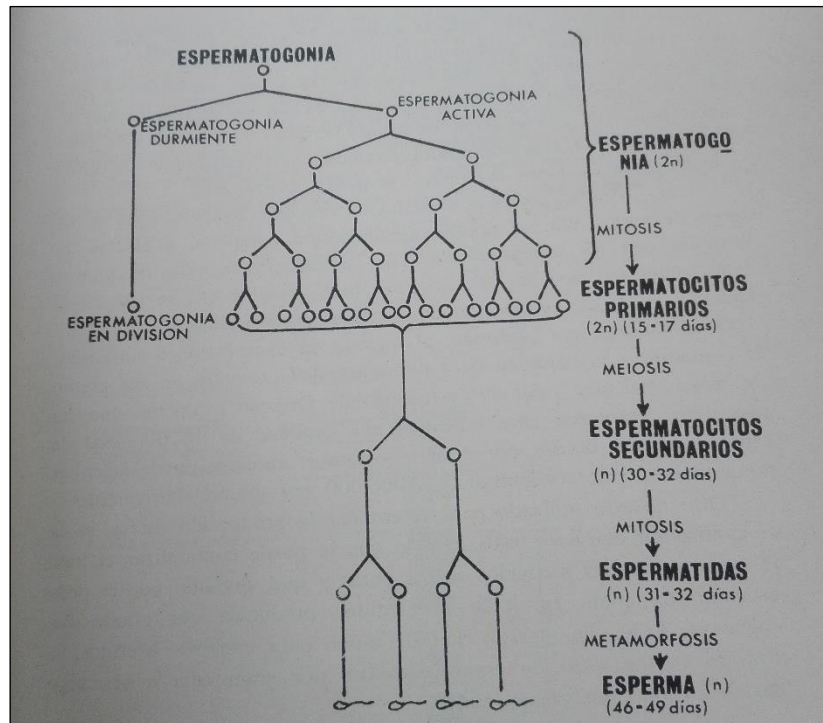


Figura 5. Diagrama de la espermatogénesis del carnero. Duran del campo, (1980).

Lograda la primera división mitótica, las dos células hijas toman el nombre de espermátocitos de segundo orden o secundarios, cuya vida es muy efímera, dura apenas unas horas, dividiéndose dos veces y dando lugar en la última de ellas a las espermátidas. Estas células finalmente, sin división alguna, pero sí a través de modificaciones y transformaciones morfológicas, dan lugar a los espermatozoides. Este paso se conoce con el nombre de espermiogénesis. Los espermatozoides una vez formados, ingresan a la luz o lumen del tubo seminífero (Duran del Campo, 1980).

3.5. Aparato reproductor de la hembra

Sisson & Grossman, (2002) mencionan que los genitales de la hembra no están solamente destinados a la producción de los gametos femeninos; sino también a la recepción y conducción de aquellos del macho. Aparato reproductor de la hembra está conformado por los ovarios, oviductos, útero, cérvix, vagina y vulva.

3.5.1. Ovario

Frandsen, (1996) menciona que los ovarios, son dos glándulas ovoides que cumplen en la hembra idéntica función que los testículos en el macho, es decir, producen las células germinales denominadas óvulos. Producen además las dos hormonas propias del sexo: estrógeno y progesterona. Están situados en la cavidad pelviana, sostenidos por el ligamento ancho, pudiendo desplazarse durante la gestación hacia la cavidad abdominal. La continua formación y desaparición de folículos y cuerpos lúteos, hace que la forma y peso del ovario cambie constantemente durante la estación sexual, pudiendo variar el tamaño de 1 a 2 centímetros, y el peso de 1 a 2 gramos.

3.5.2. Oviductos

Los oviductos también denominados trompas o tubos de Falopio; son dos conductos flexuosos que terminan en el útero, largos de 15 a 18 centímetros por 1 a 2 milímetros de ancho. A efectos de recibir al óvulo en el momento de la ruptura del folículo, la trompa se ensancha considerablemente en su porción anterior formando un verdadero embudo que, según algunos autores, se desplegaría influenciado por alguna hormona, en el momento de la ovulación. La trompa se continua con la

ampolla o ámpula, situada en el tercio superior del tubo, sumamente importante por llevarse a cabo en ese lugar la fecundación. A esta porción continua el istmo, cuya desembocadura en el útero se denomina unión tubo-uterina, constituyendo la misma, un verdadero esfínter que puede en determinados casos hasta dificultar el acceso de los espermatozoides al oviducto (Duran del campo, 1980).

3.5.3. Útero

Frandsen, (1996) indica que el útero está formado por los cuernos, el cuerpo y el cuello o cérvix. Los cuernos tienen alrededor de 12 centímetros de largo, ensanchándose a partir de la unión con el oviducto, para confluir ambos posteriormente y formar el cuerpo; éste tiene 2 ó 3 centímetros de largo y es seguido por el cérvix. En el interior de los cuernos se encuentran unas formaciones mucosas redondeadas y cóncavas, denominadas carúnculas dispuestas en cantidad de 50 a 60 por cuerno. Están destinadas a engranar con formaciones semejantes del feto, los cotiledones, para constituir la placenta.

3.5.4. Cérvix

Duran del campo, (1980) menciona que, en efecto, este órgano tiene en la oveja 5 a 6 centímetros de largo por 1 centímetro de ancho, presentando dos aspectos sumamente importantes: su estructura y su apertura exterior en la vagina, en su interior el cérvix tiene seis anillos en forma de engranaje, lo que dificulta la inseminación intracervical.



Figura 6. Corte longitudinal del cérvix. Fuente propia, (2019)

Al respecto Fornazari, *et al* (2018) muestra en la siguiente figura los orificios externos que se presentan:



Figura 7. Tipos de orificios cervicales: a) pico de pato; b) hendidura; c) rosa; d) papila y e) aleta. Fornazari *et al*, (2018).

3.5.5. Vagina

El cérvix desemboca en el fondo de la vagina, órgano éste, en forma de bolsa o saco que se continúa si tener una demarcación muy precisa con la vulva. Tiene un largo de 8 a 9 centímetros por 3 de ancho cuando se la mide cerrada; abierta longitudinalmente, su anchura alcanza a 1,5 cm en su parte más angosta (fondo) y 7 a 8 cm en su parte más ancha, teniendo una capacidad volumétrica de 45 a 50 cc. Durante el estro, sin embargo, a favor de una ligera relajación muscular, la vagina se dilata algo más; durante el anestro, por el contrario, el volumen vaginal alcanza su mínima expresión. En su porción posterior, justo por delante del meato urinario, los músculos constrictores anteriores o vaginales, la rodean exteriormente, formado un verdadero anillo que ofrece a veces considerable resistencia al pasaje del Vaginoscopio; este estrangulamiento vaginal tiene, sin embargo, la importante misión de abrazar y presionar al pene en el acto del servicio natural para provocar la eyaculación (Sisson & Grossman, 2002).

3.5.6. Vulva

Frandsen, (1996), define a la vulva como la porción externa de los genitales de la hembra, que se extiende desde la vagina hasta el exterior. La unión de vagina vulva se marca por la presencia del orificio uretral externo, así como pliegue, inmediatamente craneal al orificio uretral externo, un vestigio del himen. En ocasiones el himen puede completarse hasta el punto de obstaculizar la cópula. Por detrás del meato urinario ubicado a 5 cm del extremo de la vulva, está se continúa, teniendo un largo de 4 cm. A 12 o 15 mm de su extremo inferior, se encuentra el clítoris, órgano eminentemente sensitivo. Las glándulas de Bartholin ubicadas en la mucosa de las paredes vulvares segregan un mucus que lubrica el estrecho y permite el pasaje suave del pene y del Vaginoscopio.

3.6. Fisiología reproductiva de la hembra

Oviedo, (2009) señala que la actividad reproductiva de la especie ovina es poliéstrica estacional, caracterizada por una época del año en que la gran mayoría de las hembras presenta cíclicamente estros o celos (estación sexual), y otra época del año en que un porcentaje variable de las mismas – según la raza- presenta inactividad sexual (Anestro).

Henao *et al.*, (2004), citado por Levi del Águila (2007), afirman que durante el ciclo estral se suscitan cambios funcionales y estructurales en el ovario y en el folículo; cerca del momento del estro, el folículo ovulatorio alcanza un gran tamaño y produce cantidades importantes de estrógenos hasta inducir el pico preovulatorio de la Hormona Luteinizante (LH).

Atuesta, J. & Gonella, A. (2011), señala que la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) en la hembra es controlada por dos áreas separadas en el hipotálamo. El centro tónico es el responsable de la secreción basal de GnRH. El centro de ondas o centro preovulatorio es el responsable de la liberación de LH.

3.7. Endocrinología de la reproducción

Hafez (1989), asegura que la endocrinología es la rama de las ciencias biológicas que estudia las hormonas y sus receptores. Al mismo tiempo sostiene que la hormona es una sustancia fisiológica orgánica producida por ciertas células

especializadas que pasa por el torrente sanguíneo para su transporte con el objeto de estimular o inhibir la actividad funcional del órgano o tejido blanco.

Así mismo Galina (2006), citado por Medina (2011), indica que la endocrinología es la ciencia que se encarga del estudio de las hormonas y sus efectos.

3.8. Hormonas reproductivas

3.8.1. Hormonas hipotalámicas liberadoras

Las hormonas liberadoras hipotalámicas son un conjunto de péptidos y proteínas generados por el hipotálamo que actúan estimulando (y en algunos casos) inhibiendo la liberación de hormonas por parte de la adenohipófisis (Brandan, 2011).

3.8.1.1. Hormonas liberadoras de gonadotropina

Es una hormona liberada por el hipotálamo cuyo centro de acción es la hipófisis. Es un decapeptido que estimula la liberación de gonadotropina (hormona luteinizante o LH y folículo estimulante o FSH) por parte de la adenohipófisis. Por otro lado, la gonadotropina posee su centro de acción en las gónadas masculina y femenina. Induce la síntesis y liberación de FSH Y LH por adenohipófisis. La secreción está regulada por un oscilador neutral, liberándose episódicamente a las venas portales hipofisarias imponiéndole un patrón de liberación pulsátil a la secreción hipofisaria de gonadotropinas que está más marcado en LH que en FSH. Se utiliza para inducir y sincronizar ovulaciones, para tratar quistes ováricos (Ayala 2016).

3.8.2. Oxitocina

Gutiérrez (2008) citado por Pari (2016) detalla que la acción principal de la oxitocina es la secreción de leche mediante contracción de las células mioepiteliales que rodean los alvéolos mamarios. Además, se atribuye un papel importante en la estimulación de las contracciones uterinas, que facilitan el transporte del espermatozoide en las vías genitales de la vaca. También se secreta durante el parto produciendo las contracciones uterinas necesarias para la expulsión del feto.

3.8.3. Hormonas hipofisarias

Delgado & Illán (2017) señalan que las hormonas hipofisarias son producidas por la hipófisis que está constituida por dos lóbulos, el lóbulo anterior o adenohipófisis y el

lóbulo posterior o neurohipófisis, entre ambos esta la zona intermedia que las separa. La adenohipófisis secreta hormonas de gran importancia que regulan los procesos más importantes del organismo. Su secreción está influenciada por varias hormonas de origen glandular periférico y por factores estimuladores e inhibidores procedentes del hipotálamo.

La hipófisis posterior constituye una excepción a la disposición general de las glándulas endocrinas, ya que su secreción es producida por centros nerviosos secretores en el hipotálamo, y son conducidos a través de fibras nerviosas hasta la hipófisis posterior, donde se almacenan y se liberan cuando son requeridos.

3.8.3.1. Hormona folículo estimulante (FSH)

La hormona folículo estimulante es producida por la glándula pituitaria, una glándula del tamaño de un guisante ubicada cerca del cerebro, que desempeña un papel de importancia en el desarrollo del sexual (Delgado & Illán 2017).

Ayala (2016), señala que la FSH es una glicoproteína compuesta por dos subunidades, α común a la FSH, LH y TSH, y la β específica en su actividad biológica. El periodo de vida media es de +/- 2,5 horas. La FSH estimula el crecimiento y la maduración de los folículos de graaf en el ovario, por lo tanto, es el factor principal para inducir el crecimiento en el ovario.

3.8.3.2. Hormona Luteinizante (LH)

Franco & Uribe (2012) mencionan que el patrón de secreción de la LH tiene tres características que se evidencian durante el ciclo estral. Dichas características son concentración, amplitud y frecuencia, las cuales varían durante el ciclo, ya que son altamente dependientes de las concentraciones circulantes de P4 (progesterona) y E2 (Estradiol). Altas concentraciones de P4 producidas por un cuerpo lúteo funcional suprimen la frecuencia de los pulsos de LH, mientras que la presencia de altas concentraciones de E2 induce la liberación de Hormona Liberadora de Gonadotropinas (GnRH) desde el hipotálamo, lo que resulta en un pico de LH, de amplitud y frecuencia suficiente para estimular la maduración final del folículo

dominante y la posterior ovulación. El fenómeno de la ovulación es altamente variable entre razas y se presenta, aproximadamente, después del pico de LH a las 14 horas en ovejas; 26 a 28 horas en vacas y 20 a 26 horas en cabras.

Por otro lado, Ramírez (2006) citado por Parí (2016), menciona que la LH en las hembras, estimula la formación de cuerpo lúteo y la secreción de la hormona que favorece la gestación (progesterona).

3.8.4. Hormonas Gonadales ováricas

3.8.4.1. Estrógenos

Los estrógenos son producidos por los ovarios y en menores cantidades por las glándulas adrenales. Inducen fenómenos de proliferación celular sobre los órganos principalmente endometrio, mama y el mismo ovario, y poseen las acciones: induce a nivel del sistema nervioso central el comportamiento del celo y la libido, durante el celo se observa edema genital e hinchazón de la vulva, relajación del cérvix, tiene un efecto de regresión positiva estimulando la secreción de GnRH aumentando los niveles de FSH y LH (Ayala 2016).

3.8.4.2. Progesterona

Lozano *et al* (2012) destacan que la progesterona es una hormona esteroidal que se produce en los ovarios, glándulas adrenales, placenta y luego de la ovulación en el cuerpo lúteo.

Gibbons & Cueto (1995) citado por lozano *et al* (2012) indican que como funciones reproductivas de la progesterona se pueden citar: estimular el instinto materno; la implantación embrionaria y el mantenimiento de la preñez. Antes de la ovulación, junto a los estrógenos participa en la manifestación externa del estro

3.8.4.3. Inhibinas

La inhibina es producida por las células del folículo ovárico, glándula pituitaria, placenta y en otros órganos en la hembra; y por las células de Sertoli en el macho, que desarrolla un efecto de retroalimentación negativa sobre la secreción de FSH y actúa regulando el desarrollo folicular, es decir hace feedback con la FSH. También inhibe la liberación de GnRH del hipotálamo (Delgado & Illánés 2017).

3.8.5. Hormonas Placentarias

3.8.5.1. Hormona gonadotropina coriónica

Sintex (2005), señala que la gonadotropina coriónica humana posee la acción biológica de la gonadotropina hipofisaria luteinizante (LH) en los animales, su principal efecto de las gonadotropinas es promover la gametogénesis o, en su defecto, la producción de esteroides sexuales.

3.8.5.2. Hormona gonadotropina coriónica equina

Lozano *et al* (2012), mencionan que la gonadotropina coriónica equina (eCG) se utiliza en varios de los tratamientos de sincronización e inducción del estro y la ovulación. Se administra una inyección de eCG al momento de la retirada de los dispositivos liberadores de progestágenos. La eCG estimula la producción FSH y en menor proporción de LH, lo que aumenta el crecimiento folicular y el reclutamiento de folículos pequeños, aumentando la tasa de ovulación, permitiendo que el inicio del estro y de la ovulación se manifiesten de manera más rápida y uniforme.

3.8.6. Hormonas uterinas

3.8.6.1. Prostaglandina

Delgado & Illán (2017) indican que la prostaglandina (PGF₂α), es una hormona producida por las glándulas uterinas con una potente acción luteolítica y responsable de la regresión del cuerpo lúteo. La PGF₂α es una alternativa para la sincronización del estro y de la ovulación, provocando que permanezcan folículos dominantes durante la temporada reproductiva.

3.9. Ciclo estral de la borrega

Oviedo (2009) menciona que el ciclo estral de la especie ovina es poliéstrica estacional, caracterizada por una época del año en que la gran mayoría de las hembras presenta cíclicamente estros o celos, y otra época del año en que un porcentaje variable de las mismas, según la raza presenta inactividad sexual (anestro).

3.9.1. Duración del ciclo estral y estro

Cruz (2010), señala que el ciclo estral de las hembras dura 16 a 21 días y el celo 30 a 40 horas, produciéndose la ovulación en el último tercio del mismo. Las manifestaciones de celo son poco marcadas en la oveja, los signos externos incluyen enrojecimiento de la vulva y vagina con descarga de moco, inquietud, elevación constante de la cola y frotamiento continuo con el macho.

3.9.2. Ovulación

Al respecto Balcázar (2008) citado por Parí (2016), manifiesta que la ovulación representa el proceso de la maduración de la ruptura del folículo de Graf, durante el cual se libera el ovulo en estado de maduración. Para poder realizar la ovulación deben transcurrir tres cambios preparatorios importantes en el folículo, que son:

- La maduración del ovocito.
- La perturbación de la cohesión entre las células de los cúmulos y las de la membrana granulosa.
- La preparación del lugar de la ovulación en forma de alteración de la pared externa del ovulo.

Cuando se sincroniza el estro ya no es necesario detectarlo, la inseminación artificial (IA) o la monta directa se deben realizar en un tiempo prefijado en relación con el tratamiento hormonal implementado. El tiempo varía poco entre hembras, aunque el estro en la mayoría de las hembras se presentará entre las 36 y 48 horas y la ovulación 60 Horas después de retirar el dispositivo con progesterona Lozano *et al* (2012).

3.9.3. Cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo (LC) es una glándula transitoria productora de progesterona, en la vaca se forma a partir de las células formadoras del folículo ovulatorio. Regula la duración del ciclo estral y suprime la ovulación (Arechiga, *et al* 2019).

3.10. Momento de la ovulación del ciclo estral

En los ovinos la ovulación es espontánea, ósea que ocurre de igual forma tenga o no contacto con el macho, el tiempo de ovulación está relacionado con la aparición del estro, y se presenta hacia el final del estro; en ovejas merino normalmente ocurre 25 a 30 horas después de la aparición del estro (Urquiza 2017).

3.11. Fases del ciclo estral

El ciclo consta de 4 fases: proestro, estro, metaestro y diestro. Fuera de la estación reproductiva se dice que están en anestro (Arregui, 2020).

3.11.1. Fase folicular o de regresión lútea (Proestro)

Arregui, (2020) define como al proestro como el periodo de preparación para el estro, el cuerpo lúteo regresa y se inicia el crecimiento terminal del o de los folículos y tiene una duración de 2 días.

En esta etapa se produce el crecimiento folicular regulado por dos hormonas, las gonadotropinas, que, liberadas en el torrente sanguíneo por la glándula hipofisiaria, ejercen su acción en el ovario. Estas hormonas son, el folículo estimulante (FSH) y la luteinizante (LH). La FSH estimula el crecimiento temprano de los folículos mientras que la LH es necesaria para completar la etapa final de su crecimiento. Asimismo, las gonadotropinas estimulan a los folículos en la secreción de estrógenos. Cuando el nivel de estrógenos en la sangre es suficientemente alto, se produce la liberación del máximo de LH., provocándose cambios en las paredes del folículo, determinando su ruptura y consiguiente liberación del óvulo, 18 – 24 horas más tarde (Gibbon & Cueto, 2007).

3.11.2. Fase Estro o Celos

Es el período en el cual la hembra es receptiva al macho, las manifestaciones clínicas son menos pronunciadas que en la vaca o en la yegua, la oveja en celo puede buscar al carnero, pero hace muy poco esfuerzo por demostrar su deseo sexual, más allá de permitir que el retarjo o el carnero la acosen y la monte. La duración es de unas 24 a 36 horas, pero en borregas es más corto, la presencia del macho o el coito disminuyen la duración del mismo. Los estrógenos producidos por

los folículos que crecieron rápidamente en el proestro son los responsables de las manifestaciones clínicas del estro, producen también la estimulación del mucus vaginal, enrojecimiento de la vulva y vagina, y engrosamiento del epitelio vaginal (Arregui, 2020).

3.11.3. Fase Metaestro

En el curso del metaestro, las células de la granulosa en la pared rota del folículo de Graaf proliferan y se transforman en células luteínicas que llenan el antro del folículo (Gibbons & Cueto, 2007). Y al cabo de 4 a 5 días, se habrá formado un cuerpo sólido y amarillo, denominado cuerpo lúteo, responsable de la secreción de progesterona. Esta hormona prepara al útero para la anidación del embrión

Arregui, (2020) indica que el metaestro es el periodo post ovulación caracterizado por la formación de o los cuerpos lúteos que por su secreción impedirán la ovulación. Tiene una duración de 2 días.

3.11.4. Fase Diestro

Un cuerpo lúteo bien desarrollado influye notablemente en el útero. Su revestimiento se hace más grueso, sus glándulas aumentan de tamaño y la musculatura se hipertrofia; todas las reacciones tienen la finalidad de proporcionar el acomodo más conveniente al embrión. Si se logra la preñez, estos fenómenos se prolongan durante su curso, con el cuerpo amarillo prácticamente intacto hasta el fin (Ojeda, 2009)

Por otra parte, Arregui, (2020) menciona que, si existe uno o varios cuerpos lúteos totalmente desarrollados, a partir de los folículos que han ovulado. Si se ha producido fecundación el cuerpo lúteo continua a lo largo de los 145 días de gestación, de lo contrario el cuerpo lúteo permanece útil solo 11 a 12 días y luego regresa.

3.12. Estacionalidad reproductiva de la borrega

Una de las características más destacadas de la reproducción en el ganado ovino es su estacionalidad, que ocurre durante la época de días cortos y se caracteriza por la presencia de ciclos estrales regulares, conducta de estro y ovulación (Hernández, 2015).

La mayoría de las razas ovinas dice Ojeda (2009) son poliestrónica estacionales; comienzan a reproducirse cuando las horas luz disminuyen; por lo que se llaman reproductores de días corto. Pero cuando los días comienzan a acortarse luego del solsticio de diciembre el fotoperiodo actúa estimulando el eje epífisis – hipotálamo-hipófisis-ovarios. Por su parte la melatonina de la glándula pineal hace de mediador en la respuesta a los cambios de las horas luz, es decir actúa como una señal para el eje neuroendocrino. Las razas británicas de propósito cárnico, presentan un fotoperiodo más restringido y las razas de origen australiano presentan una estacionalidad más débil y tienen prolongadas estaciones reproductivas, a veces pueden durar todo el año.

Tabla 1.

Estación de cría de las diferentes razas

Razas de Ovinos	Meses de Estacionalidad Reproductiva
Merino australiano	Octubre – Julio
Suffolk	Febrero – Mayo
Corriedale	Diciembre – Julio
Hampshire Down y Texel	Diciembre – Julio
Targhee	Diciembre – Julio

Nota: Tomado de R. Vet. – Arregui (2020)

3.11.5. Factores externos e internos que regulan la estacionalidad reproductiva de la oveja

Porrás *et al* (2003) señala que existen variables extrínsecas (asociadas con los cambios estacionales en clima y disponibilidad de alimentos) e intrínsecas (asociadas con el tamaño corporal final, la duración de diferentes eventos reproductivos y la longevidad del individuo) que determinan que los animales desarrollen “estrategias” estacionales o no para su reproducción. Dichas estrategias están a su vez reguladas por una compleja interacción de factores físicos

(fotoperiodo, temperatura, precipitación pluvial), nutricionales (disponibilidad de alimentos) y sociales (presencia del macho, prácticas de manejo o crianza).

3.13. Métodos de sincronización de celo

Gibbons & Cueto (2004), indican que la sincronización de estros constituyen una herramienta de gran utilidad en los programas de IA, ya que facilitan el manejo de los animales al evitarse el encierre diario para la detección de celos naturales. Se pueden dividir en métodos farmacológicos y naturales.

3.13.1. Método CIDR

El CIDR, es un método farmacológico que está incluido en el grupo de los progestágenos CIDR, son las siglas en inglés de “*Controlled internal drug release*” o “liberación controlada interna de fármacos”. Estos dispositivos han sido ampliamente utilizados en Estados Unidos o en Australia. La diferencia con la esponja es que es una estructura que se basa en un elastómero de silicona que contiene 0.32 – 0.5 mg., de progesterona. Los protocolos son similares que los de las esponjas. También se deja durante 12 o 14 días, se retira y se ponen una dosis de eCG (Gonzales de Bulnes, 2019).

3.13.2. Método prostaglandina

Gibbons & Cueto (2004), señalan que el método de prostaglandina simula la acción de la prostaglandina F2 alfa, agente luteolítico liberado por el útero, acortando la vida del cuerpo lúteo. Por este motivo, sólo pueden utilizarse durante la estación reproductiva. Dado que los celos se presentan más dispersos que en el tratamiento con esponjas, la IA se realiza con previa detección de celos.

Prieto et al (2010), señalan que las prostaglandinas actúan sobre el cuerpo lúteo que es la estructura ovárica que libera progesterona al torrente sanguíneo, evitando la manifestación de celo. En el mismo, producen la destrucción del mismo o lisis junto con la caída de los niveles en sangre de la hormona antes nombrada. De este modo se genera un aumento de los niveles de estrógenos que son los causantes de los signos de celo y la posterior ovulación.

3.14. Inseminación artificial

INTA, (2004) define a la inseminación artificial como una técnica de reproducción por la cual, el semen colectado y fraccionado, es depositado en el tracto reproductivo de la hembra en estro.

Se emplea para difundir características productivas deseables de reproductores de alto valor genético. Mediante el fraccionamiento del semen se obtiene un gran número de dosis de inseminación por eyaculado.



Figura 8. Técnica de Inseminación artificial. Gibbons & Cueto, (2004).

3.14.1. Importancia de la inseminación artificial

De la fuente (2016), indica que la inseminación artificial es una herramienta esencial para el desarrollo de los programas de selección, de hecho, en estos programas han permitido la valoración de machos por descendencia con gran precisión. También la IA incrementa el número de descendientes por macho y permite una distribución del uso del semen en el espacio y en el tiempo.

3.14.2. Inseminación artificial con semen congelado

Las técnicas de congelamiento del semen posibilitan el mejor aprovechamiento y difusión de genes, al tiempo que permiten su conservación en nitrógeno líquido (-196 °C) por un periodo ilimitado de tiempo. El empleo del semen congelado ovino puede producir un gran impacto en el mejoramiento genético, al aumentar

considerablemente el flujo de material genético facilitando la comercialización internacional (Gibbons & Cueto, 2009).

3.14.2.1. Colecta

Gibbons & Cueto (2008) señalan que el método más recomendado para la recolección de semen es la vagina artificial, ya que permite obtener eyaculados con alta motilidad y concentración espermática. Cuando el semen es colectado por electro eyaculador suele presentar contaminación con orina, obteniéndose volúmenes mayores, pero con menor concentración espermática. Por lo tanto, sólo se recomienda su empleo cuando los machos no puedan ser entrenados para la recolección con vagina artificial, y para su utilización en IA con semen fresco.

Al respecto Godoy & Meneses (2011) describen que la vagina artificial consiste en un tubo metálico forrado en su interior con una manga de goma con un extremo doblado sobre el tubo y fijada con un elástico, cumpliendo dos principios de termodinámica (Temperatura) y mecánica (presión) para llevar a cabo la colecta.



Figura 9. Vagina Artificial. Gibbons & Cueto, (2004).

3.14.2.2. Evaluaciones macroscópicas

Luego de su recolección, es importante que, en todo momento, el semen se mantenga protegido de los cambios bruscos de temperatura, contacto con el agua y metales, radiación solar directa, e impurezas. Por lo tanto, todo el material que entre en contacto con el eyaculado deberá ser de vidrio o plástico, estará esterilizado y seco, y a la misma temperatura que el semen.

La observación del color, así como la apreciación de su motilidad masal, son importantes para decidir si se procederá a la utilización del eyaculado (Gibbons & Cueto, 2008).

3.14.2.2.1. Color

El color de semen se observa en primer término, debiendo el mismo ser Blanco – lechoso o cremoso Pálido. El color rojizo indica presencia de sangre, así como los colores grises o marrones indican contaminación o infección, debiéndose en estos casos desechar el eyaculado y proceder a la revisión del macho (Ayala, 2016)

3.14.2.2.2. Volumen

El volumen del semen se mide utilizando un tubo de recolección graduado. Cuando la recolección se realiza con vagina artificial, normalmente se obtienen eyaculados de aproximadamente 1 ml, que varían según edad, tamaño y condición corporal del animal, frecuencia de colección, y destreza del operador. En carneros adultos es habitual obtener 4 – 5 eyaculados diarios, obteniéndose volúmenes de 0.8 a 1.5 cc y consistencia cremosa (Gibbons & Cueto, 2008).

3.14.2.2.3. Ph

El valor del pH es el resultante de la neutralización entre las reacciones glandulares de acción tampón y la concentración iónica del material de las ampollas de Henle y del epidídimo. En ovinos, el pH tiende a la acidosis, fenómeno importante ya que en el radica su capacidad fecundante. La reacción alcalina es características de una escasa fertilidad y muchas veces va acompañada de necrospermia y de una disminución en la concentración espermática y motilidad (Evans & Maxwell, 2010 citado por Ortega 2017).

Pérez y Pérez, (1985) citado por Delgado, (2013) señala que, en el carnero, los valores de pH oscilan entre 6.2 – 7.3, llegando incluso a citarse como normal un pH de 7.5.

3.14.2.3. Evaluaciones microscópicas

Ariagno & Mormandi, (2016) indican que el análisis microscópico del semen permite la evaluación de la movilidad, la vitalidad, la concentración y la morfología de los

espermatozoides, a la vez que se investiga la presencia de células y/o elementos acompañantes diferentes de espermatozoides.

3.14.2.3.1. Motilidad masal

Gibbons & Cueto, (2008) indican que se podrá tener una idea de la calidad seminal por la velocidad con que se hacen y deshacen las ondas (motilidad masal). La motilidad se estima por el vigor del movimiento de las ondas en una escala subjetiva entre 0 y 5 (0, mínimo; 5 máximo). Para proceder al congelamiento de un eyaculado, se recomienda que su motilidad sea de 3 o mayor.

3.14.2.3.2. Motilidad individual

Ayala, (2016) indica que la motilidad individual en una muestra de semen se expresa como el porcentaje (%) de células móviles bajo un campo microscópico. Esta valoración es cuanti – cualitativa, ya que se evalúa la tasa de espermatozoides en movimiento de 0 a 100 % y la calidad, según el tipo de movimiento (progresión lineal, progresión no lineal, no progresivo e inmóviles).

3.14.2.3.3. Concentración espermática

Ayala, (2016) indica que existen distintos métodos que permiten la determinación de la concentración espermática, entre ellos recuento en cámara de Neubauer o por fotocolorímetro. La concentración de espermatozoides se expresa como el número de espermatozoides por ml.

Al respecto Gibbons & Cueto (2008) señalan que la cámara de recuento consta de tres piezas: a) una pieza de vidrio en la que se encuentra labrado bajo relieve el cuadrículado en que se depositará el material a examinar; b) un cubreobjetos específico que montado sobre la pieza anterior formará la cámara propiamente dicha y c) una pipeta de recuento de glóbulos rojos, con la que se tomará la muestra y en la que se realizará la dilución.

3.14.2.3.4. Viabilidad

Fernández *et al.* (1998) citado por Delgado (2013) menciona que la membrana celular de los espermatozoides representa una barrera al paso de tinciones al medio intracelular. Los espermatozoides vivos no dejan pasar ningún tipo de colorante a su

medio intracelular, mientras que los muertos, los absorben. Este fenómeno biofísico permitió el desarrollo de técnicas orientadas a la diferenciación de espermatozoides vivos de muertos.

3.14.2.3.5. Morfología

La morfología espermática se refiere al estudio de la forma del espermatozoide y permite determinar las posibilidades que tiene una célula espermática para fertilizar. El objetivo de esta evaluación es eliminar aquellos espermatozoides no ideales para la reproducción. La presencia de altos porcentajes de formas anormales parece estar asociada con inmadurez sexual, procesos degenerativos y patologías (Ascue, 1985 citado por Delgado, 2013)

Al respecto Ayala, (2016) menciona que se ha demostrado la correlación entre defectos morfológicos del espermatozoide e infertilidad y se ha establecido 30% como un porcentaje aceptable o máximo permitido de atipias, es decir, se acepta 70% de espermatozoides normales, por otro lado, se estableció también un límite de defectos de cabeza de un 15 a 20%, mientras que defectos del acrosoma y defectos de la cola se toleran en 25%.

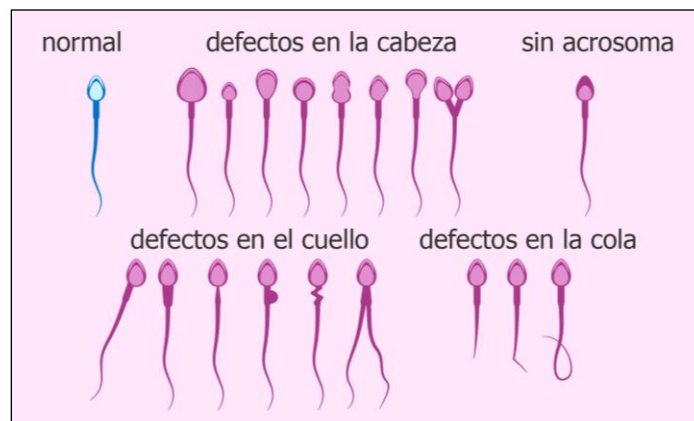


Figura 10. Anormalidades de los espermatozoides. Mestre et al, (2018).

3.14.2.4. Dilutores empleados para crioconservación

La dilución del semen para su posterior congelamiento se podrá realizar mediante diluyentes preparados en el laboratorio o diluyentes comerciales. Los diluyentes

contienen TRIS (Hidroximetil Aminometano) o citrato como buffers y glucosa como fuente de energía. Además, deben contener agentes protectores para las membranas celulares durante el enfriamiento a 5 °C (generalmente yema de huevo) y el congelamiento (generalmente glicerol) (Cueto & Gibbons 2016).

Tabla 2
Componentes de un diluyente para carnero

COMPONENTE	CANTIDAD
TRIS	3.63 g
Glucosa	0.50 g
Ácido cítrico	1.95 g
Yema de huevo	15 ml
Glicerol	5 ml
Estreptomina	0.1 g
Penicilina	100.000 U.I.
Agua destilada	Hasta completar a 100 ml

Nota: Tomado del manual de obtención, procesamiento y conservación del semen de ovino. Cueto & Gibbons, (2016)

Por otra parte, Quispe, (2019) indica que existen productos comerciales como AndroMed que es un dilutor concentrado y estéril para la preparación de un diluyente libre de yema de huevo para eyaculados de bovinos y ovinos. Es apropiado para la congelación del semen y para la conservación de semen fresco. AndroMed contiene fosfolípidos, TRIS, ácido cítrico, azúcares, antioxidantes, tampones, glicerina, agua de altísima pureza y antibióticos, de acuerdo a la directiva de CE 88/407 (Tilosina, Gentamicina, Espectomicina, Lincomicina). Sus beneficios son, no contiene ingredientes de origen animal, sin riesgo de contaminación microbiológica, fácil preparación.

3.14.2.5. Dilución de semen de carnero

Quispe, (2019) afirma que los espermatozoides sobreviven fuera del organismo solo un tiempo breve. Los diluyentes son sustancias que se agregan al eyaculado para conservar su metabolismo, viabilidad y fertilidad.

Por otra parte, Godoy & Meneses, (2011) mencionan que para una inseminación artificial utilizando semen fresco, debe ser diluido para aumentar el volumen y así incrementar el número de hembras a ser inseminadas y el rendimiento reproductivo del semental.

3.14.2.6. Descenso de temperatura - Tiempo de estabilización

El descenso de temperatura inicia a partir de sus 36 °C sacándolo de baño maría y a exposición de temperatura ambiente, el descenso está a razón de 2°C cada 3 min aproximadamente hasta llegar a 5 °C, luego de la fase de descenso de temperatura, se inicia la etapa de equilibrio. En esta etapa, el semen debe permanecer en heladera a 5°C durante 45 – 60 minutos (Cueto & Gibbons, 2016)

3.14.2.7. Congelamiento Horizontal y definitivo de las pajuelas

Ayala, (2016) indica que el congelamiento horizontal consiste en realizar la congelación de las pajuelas de semen colocadas en la rampa de congelación en los vapores de nitrógeno líquido, por un tiempo de 10 minutos a una temperatura de -110 °C, transcurrido el tiempo se sumergen en el nitrógeno líquido y se realiza la primera evaluación de motilidad individual.

Las pajuelas permanecen en nitrógeno líquido a una temperatura de -196 °C, hasta realizar el examen microscópico a las 24 horas y a los 15 días post congelación para verificar la motilidad individual. Finalmente, las pajuelas permanecen en a -196 °C si reúnen las características deseables. (Ayala, 2016).

3.14.2.8. Manipulación y almacenamiento de semen congelado

Las pajuelas se guardarán en porta pajuelas identificados en la parte superior, dentro de los canastillos del termo de nitrógeno líquido. Durante su almacenamiento, es importante controlar el nivel de nitrógeno líquido de los termos periódicamente, teniendo en cuenta que el mismo no debe descender por debajo de los 10 cm,

cuando se manipula el semen dentro del termo, es importante no elevar los canastillos por encima de la boca del termo (Cueto & Gibbons, 2016)

3.14.2.9. Descongelamiento de pajuelas

Gibbons & Cueto, (2008) indican que las pajuelas a ser descongeladas deben someterse a un baño maría calibrado a 36 °C, sumergidas y moviéndolas con una pinza para garantizar un descongelamiento homogéneo durante 15 segundos.

3.14.2.10. Examen post – descongelamiento

En esta etapa de post congelamiento es importante estimar el porcentaje de motilidad individual progresiva, se estima como la velocidad de desplazamiento hacia delante de los espermatozoides vivos en una escala subjetiva entre 0 y 5, tomando como valor aceptable una motilidad progresiva igual o superior a 2.5 (Cueto & Gibbons, 2016)

3.14.3. Inseminación artificial con semen fresco

Gibbons & Cueto (2007) definen a la inseminación artificial con semen fresco como la técnica en la que el semen colectado en la vagina artificial o mediante el empleo del electro eyaculador, es conservado en baño maría de agua a una temperatura de 28 – 30 °C durante su evaluación y posterior utilización.

3.14.4. Inseminación artificial a tiempo fijo

IICA (2015), define que la IATF es la inducción de celos de una majada al mismo tiempo, a través del uso de dispositivos intravaginales con progesterona o esponjas con progestágenos y una combinación de hormonas que permiten el servicio simultáneo por inseminación artificial.

3.14.5. Tipos de inseminación artificial

De acuerdo con Latorre (2000), citado por Christie (2008), señala que los tipos de inseminación se pueden clasificar de acuerdo de donde es depositado el semen en el tracto reproductivo de la oveja, hay tres alternativas:

INTRACERVICAL: Se deposita del semen en el interior del canal del cuello uterino o cérvix. Requiere una dosis mayor de semen que si se utiliza otro método.

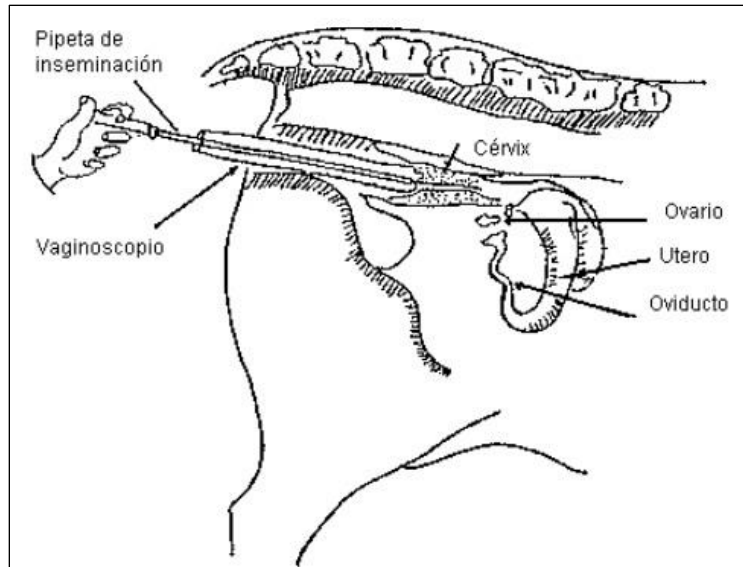


Figura 11. Esquema de la inseminación artificial intracervical. Gibbons & Cueto, (2004).

- a) **Trasfondo vaginal:** se deposita en el fondo de la vagina.
- b) **Intrauterino:** se deposita el semen en la curvatura mayor de cada cuerno uterino, en el interior del cuerno.

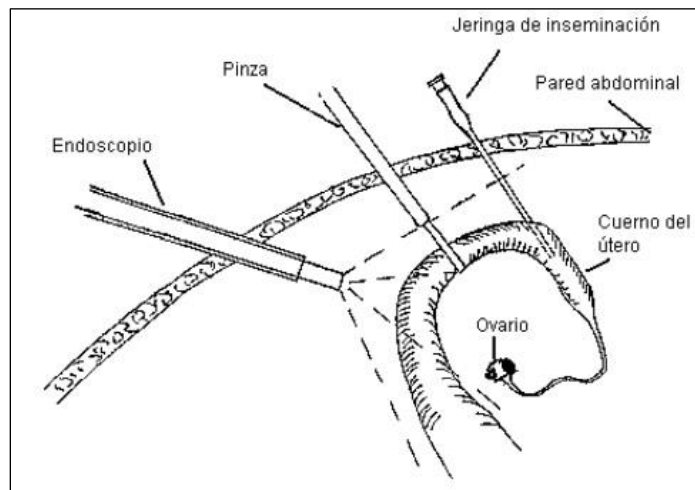


Figura 12. Esquema de la inseminación artificial intrauterina. Gibbons & Cueto, (2004).

3.14.6. Ventajas y desventajas de la inseminación artificial

Godoy & Meneses (2019) señalan las siguientes ventajas y desventajas de la inseminación artificial:

- **Ventajas**

- **Mejoramiento genético:** la inseminación artificial no es por si misma una herramienta de mejoramiento genético, pero esta técnica exige una rigurosa selección de machos y evaluaciones genéticas que permitan utilizar los mejores exponentes.
- **Incremento de eficiencia reproductiva:** machos con evaluación potencial de fertilidad evita el empleo de reproductores de baja fertilidad. La inseminación artificial anula el efecto de selectividad macho – hembra. Por otra parte, la dilución del semen permite encostar un mayor número de hembras que en situación normal.
- **Conservación del material seminal:** técnicas actuales de congelamiento permiten preservar el semen más allá de la vida de los reproductores, lo que posibilita utilizar semen de reproductores que ya han fallecido.
- **Evita la trasmisión de enfermedades:** esta técnica exige una rigurosa selección de los animales no solo el punto de vista genético, sino que también sanitaria. Por lo cual deben de estar libres de todo tipo de enfermedades infecciosas que puedan transmitirse por el semen, asegurándose así que no existe riesgo de transmitir enfermedades desde el reproductor a las hembras.
- **Facilita el transporte del material genético:** técnicas de manejo y procesamiento de semen posibilitan el desplazamiento y diseminación de material genético sin riesgos de adquirir o movilizar un reproductor de alta calificación.
- **Reducción de carneros:** se cuenta con pocos ejemplares de buena calificación y pequeños propietarios pueden ser usuarios de estos sin correr riesgos inherentes a tenerlos.
- **Uso de registros:** la inseminación artificial da origen a registros de mayor calidad, los que permiten un mejor manejo de los rebaños y una mejor evaluación de los mismos.

- Velocidad de fertilización: esta técnica sumada a una sincronización de los celos con hormonas, permite preñar a muchas ovejas en un mismo día, por lo tanto, disminuye el periodo de encastes, aumenta la homogeneidad en las edades de las crías obtenidas y por consiguiente mejora la comercialización de los mismos.
- **Desventajas**
 - Costos: esta técnica requiere de una infraestructura mínima y constancia en el tiempo para provocar un mejoramiento del rebaño. Se requiere un laboratorio, instrumental, evaluación genética de los machos y recursos humanos capacitados, tanto en el manejo del semen como en la inseminación artificial.
 - Recursos humanos: como ya se dijo se requiere personal calificado para realizar el procedimiento. Por otra parte, también se requiere agricultores comprometidos en el mejoramiento de sus rebaños para alcanzar mayores productividades.

3.15. Efectos de las hormonas sobre el control del estro

3.15.1. Mecanismo de acción del dispositivo CIDR

Zoetis, (2020), indican que el dispositivo CIDR actúa como un depósito de progesterona natural, la cual es liberada y absorbida por la mucosa vaginal, en cantidades suficientes para inhibir la liberación de las hormonas luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH) por la hipófisis frenando la ovulación y consecuentemente aparición del celo. Cuando el CIDR es retirado, la concentración de progesterona en sangre decrece en menos de 6 horas y el animal entra en celo entre las 30 – 90 horas posteriores.

3.15.2. Mecanismo de acción de la Cicladase

Syntex (2016) citado por Parí (2016), manifiesta que Cicladase DL es un análogo de la prostaglandina F_{2α}, durante la fase lútea del ciclo estral produce en el ovario una disminución de la concentración de los receptores de la hormona luteinizante (LH) con regresión del cuerpo lúteo y caída del nivel de progesterona. Como

respuesta la hipófisis anterior aumenta la producción de hormonas folículo – estimulante (FSH) con maduración de un nuevo folículo y la aparición de celo y ovulación.

3.15.3. Gonadotropina equina coriónica

La gonadotropina coriónica equina se ha estudiado y utilizado ampliamente en veterinaria por su efecto LH y FSH en las especies distintas del caballo. Una reciente revisión ha hecho un repaso de las funciones que puede desempeñar esta hormona en los programas de reproducción y de cuando es especialmente útil (Evans y Maxwell 2010 citado por Ortega 2016).

Syntex (2016), citado por Parí (2016), asevera que dada su acción dual FSH/LH la eCG o PMSG (Novormon®) actúa estimulando en forma directa el desarrollo folicular y la ovulación en la materia de las especies domésticas. Los progestágenos (esponjas vaginales, implantes, dispositivos, etc.) utilizados en muchas especies en forma previa, inhiben la liberación de hormonas luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH) de la hipófisis, frenando el desarrollo folicular y la ovulación hasta el momento deseado. Cuando los progestágenos son retirados, la concentración de Progesterona en sangre cae rápidamente el animal puede entrar en celo. La administración de Novormon en ese momento estimula el desarrollo folicular y potencia la acción sincronizante de los progestágenos asegurando una perfecta sincronía de celos fértiles.

3.16. Diagnóstico de preñez

El diagnóstico de preñez en la oveja es una práctica importante de manejo, que da oportunidad a alimentar a las reproductoras de acuerdo con su estado fisiológico y que permite servir nuevamente o desechar del rebaño a hembras no gestantes (Martínez, 1999).

3.16.1. Métodos de la detección de preñez

Entre las técnicas que se han desarrollado para la detección de preñez en la oveja se encuentra la ultrasonografía, la determinación sérica de los niveles de sulfato de estrona o de progesterona, la radiografía, la prueba de bastón para palpación rectal y

la palpación abdominal, la biopsia vaginal, la verificación de “no retorno de estro” y la evaluación del desarrollo de la glándula mamaria (Martínez, 1999).

3.16.1.1. Método de Ultrasonografía

El ultrasonido en su forma más simple es sonido. Sin embargo, su tono es muy alto y por encima de la capacidad del oído humano. El ultrasonido al ser una onda, es capaz de generar ecos al chocar o interactuar con estructuras. Cuando los ultrasonidos interactúan con tejidos, se generan diferentes intensidades de ecos que rebotan hacia el transductor y son recibidos por el procesador, el cual genera una imagen que va de blanco (ejemplo: hueso y aire), pasando por la escala de grises (ejemplo músculo), a negro en los casos que no se generen ecos (ejemplo: líquidos (Ojeda, 2009).

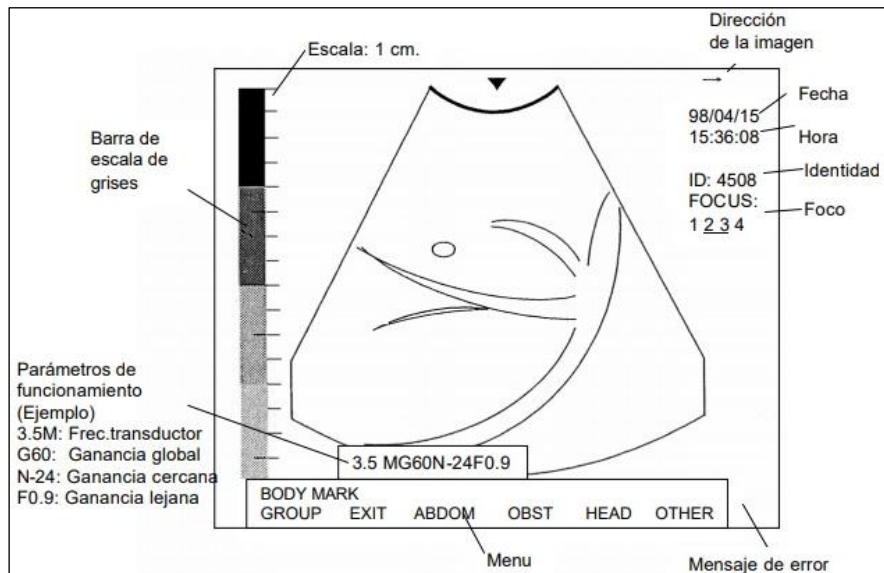


Figura 13. Esquema de información de pantalla de un ecógrafo (ALOKA SSD-500). Bidinost *et al*, (1999).

3.16.1.2. Método del refractómetro

Como señala Ortega, (2016) el método del refractómetro consiste en la extracción de sangre de la vena yugular con ayuda de jeringas bacutainer depositándolos en tubos de ensayos para la centrifugación, finalmente se utiliza una gota del suero de sangre en el refractómetro mostrando el pH.

3.16.1.3. Método de palpación abdominal

La detección de preñez por palpación abdominal se realiza entre los días 70 a 110 de gestación. La prueba se la realiza en hembras en ayuno previo 24 horas, se introduce la punta de los dedos de ambas manos en la línea media del abdomen, inmediatamente antes de la inserción de la base de la ubre (Martínez, 1999).



Figura 14. Evaluación de palpación abdominal para DG. Balcázar & Porras, (2013).

3.17. Factores que afectan las pérdidas de preñez

Las muertes embrionarias se pueden dividir en precoces y tardías. La muerte embrionaria precoz se considera entre la concepción y los días, siendo denominadas tardías aquellas que ocurren entre los 21 y los 35 – 40 días aproximadamente. Las pérdidas precoces representan el mayor porcentaje de las muertes (15 – 30 % de los ovocitos liberados), mientras que las pérdidas tardías de embriones o fetos son de menor magnitud (5 – 7%) (Fernández, 2011).

Las muertes embrionarias provocan la reabsorción total del embrión sin observación de ningún síntoma, salvo el aumento anormal del intervalo entre celos. Los huevos o embriones que mueren hasta el día 12 no causan disturbios en el largo normal del ciclo, pero aquellos que sobreviven más allá de ese tiempo previenen la regresión del cuerpo lúteo. Esto parecería estar explicando por la elongación rápida de las membranas, que comienza en el día 12, por lo que las muertes resultan en un atraso del estro debido a que la secreción del cuerpo lúteo es mantenida hasta que la reabsorción de las membranas es sustancialmente completa. La fertilidad en ese celo es menor, asociado esto a un deterioro en el transporte espermático (Lenz, 2007

citado por Ortega, 2016). Al respecto Ortega, (2016) menciona que las alteraciones endocrinas provocan pérdidas embrionarias en distintos estadios de desarrollo del huevo o embrión, afectando el transporte gamético, la fertilización y la implantación.

4. LOCALIZACION

4.1. Ubicación

La investigación se realizó en la Estación Experimental Patacamaya dependiente de la Universidad Mayor de San Andrés – Facultad de Agronomía.

El Plan territorial de desarrollo integral (PTDI 2016 - 2020), menciona que el Municipio de Patacamaya, se sitúa a una distancia de 102 kilómetros de la sede de gobierno y se encuentra a una altitud 3789 msnm, entre los paralelos 17°15'41,15" de latitud Sud y 67°56'38,20" de longitud Oeste.



Figura 15. Mapa de Bolivia. Educa, (s.f.)



Figura 16. Mapa del Departamento de La Paz. Educa, (s.f.)



Figura 17. Municipios de la Prov. Aroma. Educa, (s.f.).



Figura 18. Estación Experimental Patacamaya. Google Earth, (2020).

4.2. Características de La zona

4.2.1. Clima

Durante el año se manifiesta una estación lluviosa que va de transición entre septiembre a noviembre.

La región presenta condiciones climáticas rigurosas, con un clima frío y seco de manera generalizada, temperaturas medias anuales que descienden drásticamente y precipitaciones medias anuales bajas, este aspecto es típico de las zonas altiplánicas. Asimismo, la dirección de los vientos es variado, a esto se suma las ondulaciones existentes en diferentes lugares de patacamaya, que condicionan esta situación de alguna manera. Por este mismo hecho existen formaciones de microclimas, con características propias en espacios relativamente grandes.

Dentro del municipio se presenta dos microclimas identificados como Semiárido de verano templado e invierno templado y clima subhúmedo Seco de verano e invierno cálido.

4.2.2. Precipitación Pluvial

La distribución temporal de las precipitaciones pluviales es muy similar en todo el territorio, con un patrón decreciente de norte a sur, caracterizándose como un régimen típicamente monomodal con veranos húmedos e inviernos secos.

Se tiene una precipitación en el territorio de 350 a 550 mm/año., y en menor proporción de 170 a 340 mm/año.

En términos estacionales se puede establecer el periodo lluvioso entre los meses de octubre a marzo que concentra más del 68% de las precipitaciones, y el periodo de estiaje entre los meses de abril a septiembre, siendo los meses de junio y julio los de menor precipitación anual.

4.2.3. Temperatura

La estacionalidad térmica es moderada. Durante el periodo 2006 a 2016 la temperatura media en el municipio fue de 9.7 °C; siendo la temperatura máxima media alcanzada de 18.7 °C; mientras que la temperatura mínima media para el mismo periodo es de 0.7 °C.

4.2.4. Vegetación

La formación vegetal en el municipio es de carácter xerófito y composición florística variada. Las especies más comunes que se encuentran son los que se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 3

Principales especies nativas en puna húmeda y seca del municipio de Patacamaya

NOMBRE CIENTIFICO	FAMILIA	NOMBRE COMÚN	USOS
Hordeum muticum	Gramineae	Cola de ratón	Forraje
Erodium cicutarium	Leguminosae	Yauri Yauri	Alimento para ganado
Trifolium amabile	Leguminosae	Layulayu	Forraje
Bromus catarcticus	Gramineae	Cebadilla	Forraje
Chenopodium sp.	Chenopodaceae	Quinoa silvestre	Forraje y medicina
Distichlis spicata	Gramineae	Urco chiji	Forraje
Festuca dolichophylla	Gramineae	Chillihua	Forraje, construcción
Festuca orthophylla	Gramineae	Iruichu	Forraje construcción
Parastrephia lepidophylla	Asteraceae	Suphuthola	Forraje, construcción, leña, medicina, mejoramiento de suelos
Muhlenbergia fastigiata	Gramineae	Q'achuchiji	Forraje
Stipa ichu	Gramineae	Ichu, sicuya	Construcción, forraje
Schoenoplectus torreyi		Totora	Forraje
Baccharis obtusifolia	Compositae	Chuachua	Leña, Forraje
Baccharis sp.	Compositae	Carwathola	Forraje, leña, medicinal

Nota: Tomado del PTDI 2016 – 2020 del Municipio de Patacamaya

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Materiales

5.1.1. Material Biológico

- Un carnero en edad reproductiva
- 32 ovejas multíparas

5.1.2. Materiales de campo

- Jeringas
- Pajuelas con semen del carnero 013
- Tijeras de esquila
- Vaselina no espermicida
- Algodón
- Papel toalla
- Solución de yodo
- Alcohol medicinal
- Pinza
- Termo de agua
- Envase Tecnopor
- Aplicador de dispositivo CIDR
- Funda de Pajuelas

5.1.3. Materiales de laboratorio

- Microscopio
- Porta y cubre objetos
- Baño maría
- Tubos de ensayo
- Micropipeta
- Goteros
- Pipeta de Pasteur
- Vaso colector de semen
- Probeta de 100 ml
- Parafilm
- Papel aluminio
- Pipeta de glóbulos rojos
- Vaso de precipitados de 50 ml
- Platina térmica
- Agua bidestilada
- Cámara de Newbahuer
- Centrifugadora
- Termómetro digital
- Jeringa de 50 ml
- Papel toalla
- Gradilla
- Pajuelas
- Alcohol Polivinílico

5.1.4. Insumos químicos

- Tris
- Glucosa
- Glicerol
- Ácido cítrico
- Estreptomicina
- Nitrógeno líquido

5.1.5. Insumos veterinarios

- Cicladase (Prostaglandina f2a)
- Novormon eCG (Gonadotrofina coriónica equina)
- Dispositivo CIDR (0,5 mg de metoxiprogesterona)
- Selenate LA
- Calovit ADE
- Paramec GOLD (Ivermectina 2%)
- Dorado (Albendazol 15%)
- Aumenta ATP
- Fosvimin

5.1.6. Equipos

- Ecógrafo para animales
- Balanza de pesaje
- Termo criogénico
- Refrigerador
- Cáteter de inseminación
- Pistoleta insemineta
- Espéculo pico de pato
- Vaginoscopio
- Vagina artificial

5.2. Metodología

5.2.1. Entrenamiento del carnero

En el proceso de congelación del semen, es de vital importancia que el macho posea características deseables y esté entrenado para realizar colectas y poder lograr una conservación ideal. Por este motivo es que fue el punto de inicio del presente trabajo de investigación, en el cual se llevó al ejemplar macho 013 de dos años de edad, de raza Targhee, para colecta de semen a la Estación Experimental Choquenaira dependiente de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés, que es el lugar donde se encuentra el laboratorio de crioconservación.

Durante el proceso, el carnero tuvo dos semanas de reposo antes de iniciar el entrenamiento, debido al estrés que se ocasiono por el trasladarlo, posterior a ello se inició el entrenamiento de colecta una vez por semana, con la finalidad que se vaya adecuando al manipuleo. En el entrenamiento se utilizó una hembra vacía, sujeta al brete (fig. 20) de este modo se logró estimular al macho y de esa manera utilizar más fácilmente la vagina artificial.



Figura 19. Entrenamiento del carnero Targhee en Choquenaira. Fuente propia (2019).

5.2.2. Colecta de semen

Se utilizó el método de colecta por vagina artificial, que comprende los principios de mecánica y termodinámica (presión y temperatura). En esta etapa del trabajo que continua al entrenamiento, se procedió a realizar con mucho más cuidado la colecta

de semen, considerando siempre aspectos muy importantes tales como mantener los equipos listos haciendo referencia al baño maría, tubos de ensayo limpios, vaso colector graduado, ambiente atemperado y por sobre todo el dilutor listo y atemperado.



Figura 20. Colecta de semen. Fuente propia (2019).

5.2.3. Elaboración de dilutor

Durante el entrenamiento se obtuvieron pequeñas colectas las cuales se fueron diluyendo con el dilutor comercial ANDROMED + yema de huevo y agua destilada, se optó también por elaborar un dilutor, que permita comparaciones y considerar al mejor para ser empleado en la crio conservación. Los insumos utilizados para la realización de este dilutor se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 4.

Composición de 50 ml de dilutor para la crioconservación de semen

Dilutor para carnero de Raza Targhee

50 ml

<i>Tris</i>	<i>2,15 g.</i>
<i>Glicerol</i>	<i>3 ml.</i>
<i>Ácido Cítrico</i>	<i>1,15 g.</i>
<i>Estreptomicina</i>	<i>0,02 g</i>
<i>Glucosa</i>	<i>0,3 g.</i>

<i>Yema de huevo</i>	<i>9 ml.</i>
<i>Agua destilada</i>	<i>38 ml.</i>

Nota: Composición empleada por Tec. Sup.
Eulogio Kantuta, de EEC - Viacha (2019).

Los pasos para realizar el dilutor fueron los siguientes:

- Como punto inicial, se pesó los reactivos en una balanza analítica de acuerdo a lo que indica el cuadro. Una vez obtenidos los pesos correctos se depositaron en la probeta graduada vacía.
- Después de depositar los reactivos sólidos en la probeta, se añadió 38 ml., de agua bidestilada y 3 ml de glicerol.
- Para poder añadir la yema de huevo, se tuvo que separar la clara de la yema y posterior se debe secar la poca clara que rodea la yema, con la ayuda de papel toalla (fig. 22). A continuación, para poder obtener la yema se rompió la membrana con la punta de la pipeta de Pasteur y se dejó caer la yema sobre el vaso de precipitados previamente esterilizado, tal como se observa en la siguiente figura 23.

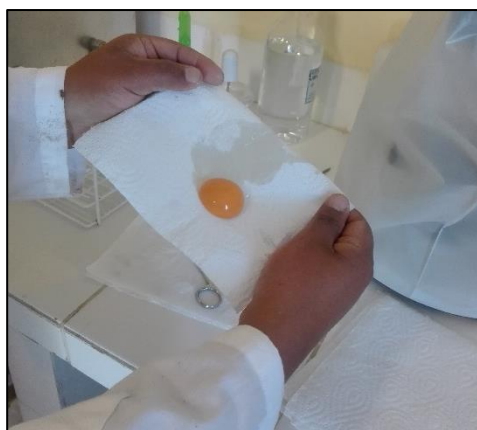


Figura 21. Secando la clara de la yema
Fuente propia (2019).



Figura 22. Rompiendo la membrana para extraer la yema. Fuente propia (2019).

- Una vez obtenido la yema de huevo se dejó un minuto sobre una platina térmica, con el efecto del calor la yema se diluyo fácilmente con la solución

preparada. Utilizando el vaso precipitados y la probeta graduada, se empezó a pasar de un recipiente a otro, de este modo se culminó de mezclar el dilutor, y para terminar se cubrió sobre la probeta con un pedazo de Parafilm, que tuvo la función de evitar que se contamine la mezcla.

- Lo siguiente fue verter la solución en tubos de ensayo esterilizados, con la ayuda de la micropipeta.
- Ya depositado la solución en los tubos de ensayo, para romper las moléculas de la yema se realizó una centrifugación a 1000 rpm., durante 15 min. Finalmente transcurrido el tiempo indicado, se colocaron los tubos de ensayo con el dilutor, y previamente antes de atemperarlos en baño maría se dejó otros 15 minutos para que precipiten las moléculas de la yema que no lograron diluirse.

5.2.4. Evaluaciones macroscópicas del semen de carnero

Posterior a la colecta fue consecutivo realizar las evaluaciones macroscópicas que son necesarias para seguir con las evaluaciones microscópicas.

Las evaluaciones macroscópicas que se realizaron fueron color, pH y volumen.

5.2.5. Evaluaciones microscópicas del semen de carnero

Si bien las características macroscópicas eran apreciadas a simple vista y con ayuda de materiales, el siguiente paso que nos dio la claridad sobre la calidad de semen obtenido fueron las evaluaciones microscópicas.

Las evaluaciones microscópicas realizadas fueron motilidad masal, motilidad individual, morfología, vitalidad y concentración espermática.

5.2.6. Proceso de congelación de semen

Para el proceso de congelación del semen se siguió el siguiente protocolo:

- Realizado la dilución se debe dejar enfriar el semen diluido durante el lapso de una hora a temperatura ambiente.

- Seguidamente: llevar a un refrigerador cuya temperatura oscila de 2 a 4 °C durante un lapso de 2 a 3 horas.
- Se realizo el rotulado de las pajuelas vacías destinadas para el envasado (fig. 23).



Figura 23. Rotulado de pajuelas para identificación. Fuente propia (2019).

Seguidamente se realizó el llenado de pajuelas con la máquina.

- Para realizar el sellado de las pajuelas se utilizó alcohol polivinílico en polvo, no sin antes permitir que las pajuelas tengan una pequeña fracción de aire para evitar que el tapón se desprenda al momento de congelarlo.
- El alcohol polivinílico que impregno un extremo de las pajuelas se sumergió en agua destilada para que se fusione y genere un tapón gelificado resistente que evite entrada de cualquier microorganismo o fluidos.
- Posterior a este último paso se secó utilizando la ayuda de papel toalla e inmediatamente se procedió a su congelación en el canastillo sobre la superficie del nitrógeno líquido durante 10 minutos (fig. 24), inmediatamente al tiempo establecido se sumerge en el nitrógeno líquido durante 30 segundos.



Figura 24. Congelación horizontal con vapor de nitrógeno. Fuente propia (2019).

- Una vez realizado el congelado se procedió al análisis post descongelado del semen sometido al nitrógeno líquido de $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$, con la finalidad de evaluar la motilidad después del proceso.

5.2.7. Selección de hembras destinadas para la investigación

Para la investigación se utilizaron 32 ovejas multíparas, que fueron sometidas a la sincronización de celo.

La selección fue en base a la condición corporal 3 y con un peso promedio en las hembras de 49 Kg, la edad de las hembras se estuvo entre 3 a 4 años. Se utilizaron ovejas multíparas por que permiten el ingreso al cérvix y se es más fácil penetrar algunos de los anillos sinuosos. Las hembras en estudio fueron aisladas desde el

ultimo parto percatándose que estén vacías para realizar los trabajos de sincronización de estro.



Figura 25. Grupo de hembras destinadas para la inseminación artificial a tiempo fijo.
Fuente propia (2019).

También se realizó una apreciación de la vulva y glándulas mamarias para que no existieran malformaciones, factor a tomar muy en cuenta cuando se realiza la inseminación artificial con mejoras para el rebaño.

5.2.8. Marcaje de hembras seleccionadas

Para el marcaje de las ovejas en tratamiento se utilizaron cintas de colores que se amarraron alrededor del cuello, las hembras destinadas para la inseminación con semen congelado utilizaron cintas de color celeste y las hembras destinadas para la inseminación con semen fresco utilizaron cintas de color verde.

No se utilizaron aretes por que las hembras ya estaban identificadas y para no modificar los registros se optó por este tipo de marcaje.

5.2.9. Aplicación de Vitaminas, mineral y desparasitantes

En etapa de preparación de las hembras, para realizar el servicio se debe contar con hembras en buen estado corporal y libre de alguna enfermedad que puede ocasionar una deficiencia en la ganancia de peso y problemas sanitarios. Es por tal motivo que se utilizó en el proceso de investigación: desparasitante externo Paramec LA,

desparasitante interno Potencial 15% Albendazol y la aplicación de mineral en base selenio cuyo producto fue Selenate LA.

5.2.10. Proceso de sincronización de celo

En esta etapa se utilizaron dos protocolos de sincronización de celo en base a hormonas los cuales se detallan a continuación:

- PROTOCOLO 1

En el primer protocolo se utilizó Progesterona (Metoxiprogesterona 0,5 mg), contenida en el dispositivo CIDR, siendo aplicado en el día 0 dejándolo introducido en la vagina durante 14 días. Posterior a ello en el día 14 se retiró el dispositivo CIDR y se aplicaron las siguientes hormonas: Prostaglandina f2a a 0,5 ml y Novormon (Gonadotrofina coriónica equina), con una dosis de 1,5 ml. La cronología de los días de la sincronización y la programación de la inseminación se detalla en la siguiente figura 26.

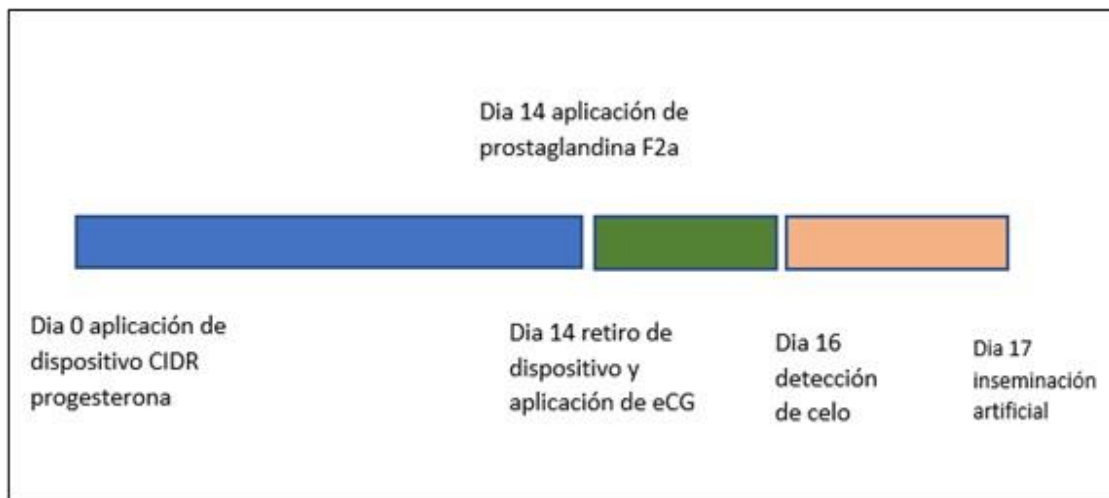


Figura 26. Protocolo de sincronización de celo empleando CIDR.

Los pasos que se utilizaron para aplicar el dispositivo CIDR son los siguientes:

- Previamente se realizó la desinfección de la vulva, realizando un lavado con agua tibia y desinfectando con un algodón sumergido previamente en alcohol yodado. La desinfección se realizó a cada animal, esperando a que seque la vulva desinfectada.



Figura 27. Limpieza y desinfección de la vulva. Fuente propia (2019).

- Mientras secaba la vulva del animal se desinfectó también con alcohol yodado el aplicador del dispositivo CIDR, posterior a ello se cargó el instrumento con el dispositivo evitando tocar las puntas, debido que es el lugar donde se halla impregnado la progesterona (metoxi progesterona 0,5 mg).
- Una vez que se desinfecto al animal y se cargó el aplicador, lo siguiente fue realizar la aplicación del dispositivo CIDR, introduciendo a un ángulo de 45° al momento que penetre la vulva, una vez que se introdujo la punta del aplicador se niveló el aplicador en un ángulo recto, y realizando un medio giro se procedió a retirar con mucho cuidado el aplicador, percatándose de que el cordón sintético este visible para poder retirarlo posteriormente.

PROTOCOLO 2

En el siguiente protocolo se utilizaron las siguientes hormonas Novormon (eCG) 1,5 ml y Prostaglandina f2a 0,5 ml. Se aplicaron bajo el siguiente orden:

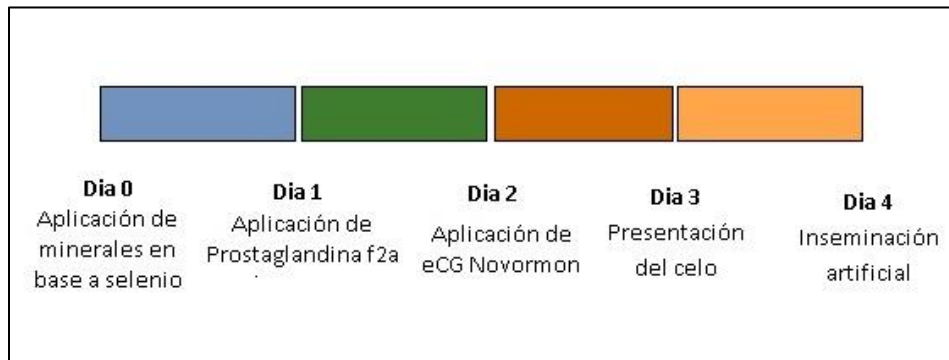


Figura 28. Protocolo 2 de sincronización de celo con eCG y prostaglandina f2α.

Para este protocolo se utilizaron jeringas, algodón y alcohol yodado para limpiar la zona de trabajo donde se aplicaría el selenio por vía subcutánea. La prostaglandina y el Novormon se aplicaron vía intramuscular.



Figura 29. Aplicando eCG vía intramuscular. Fuente propia (2019).

5.2.11. Detección de celo

La detección de celo fue un factor muy crucial para realizar la inseminación artificial a tiempo fijo. Se sabe que los ovinos a diferencia de los bovinos no tienen un celo muy manifiesto, es por ello que esta especie manifiesta a veces un celo silencioso.

Para poder detectar el celo de las borregas se utilizó una de las técnicas recomendadas, introducir un carnero (detector de celo) al corral de las hembras, durante la tarde después de pastar. Ese mismo momento se pudo observar que las hembras presentaban celo, y para confirmarlo se colocó un marcador en el pecho el cual dejaría pintado la parte lumbar de las borregas dando a conocer que durante la noche estas se hicieron montar.

De esta forma se halló el porcentaje de ovejas con celo por tratamiento y obteniendo el número total de hembras para inseminar.

5.2.12. Proceso de inseminación Artificial con semen congelado

El método utilizado para realizar la inseminación artificial fue intracervical. Esperado el tiempo óptimo de celo y prosiguiendo con el protocolo se realizaron los siguientes pasos para llevar a cabo la inseminación artificial:

- Como paso inicial fue tener listo todos los materiales requeridos para el proceso de inseminación, eso incluyo contar con materiales limpios y esterilizados (materiales que se utilizaran para ingresar al cérvix).
- Teniendo listos los materiales se preparó el catéter de inseminación, así como el especulo pico de pato. Para montar el catéter con la pajuela se empezó por sacar el anillo en "O", abrir la cánula respecto al tamaño de la pajuela, mientras se esperó a que la pajuela descongelara en el baño maría unos 30 seg., con la ayuda de papel secante se friccione la punta de la cánula del catéter con la finalidad de generar calor, sacando la pajuela se secó y se cortó el sello y se depositó en la cánula evitando cualquier contacto con las manos, seguidamente se colocó la funda de pajuelas y se aseguró con el anillo en "O" para colocarlo a temperatura de 37°C.



Figura 30. Extracción de la pajuela del termo. Fuente propia (2019).

- Para culminar de preparar el material es desinfectar y lubricar con vaselina anti espermicida el especulo.



Figura 31. Desinfección del especulo. Fuente propia (2019).

- Finalmente, para realizar la inseminación artificial propiamente dicha, con la ayuda del personal se sujetó sobre el brete al animal para inmovilizarlo, desinfectar la vulva e introducir el espejulo y catéter cargado consecutivamente.



Figura 32. Sujeción de la hembra y limpieza de la vulva. Fuente propia (2019).



Figura 33. Ubicación de la entrada al cérvix. Fuente propia (2019).



Figura 34. Inseminación Artificial con semen congelado. Fuente propia (2019).

5.2.13. Proceso de inseminación artificial con semen fresco

De igual modo se empleó para la inseminación artificial con semen fresco, el método intracervical. Este proceso de inseminación con semen fresco fue un trabajo complicado en comparación al semen congelado, los pasos realizados para llevar a cabo la técnica fueron los siguientes:

- A diferencia de la inseminación artificial con semen congelado, realizarla con semen fresco requirió de varias maniobras, en este caso se empezó por la colecta de semen por el método de vagina artificial, realizar las evaluaciones macroscópicas y microscópicas de semen, para luego diluirlo a razón de 1:8 (por cada ml de semen se añadieron 8 ml del dilutor previamente elaborados).
- Al ser semen fresco se tuvo la necesidad de contar con un baño maría en seco, donde se mantuvo atemperado el semen diluido.

- En esta ocasión se tuvo que esterilizar las cánulas de vidrio de la pistola, así como los pistones, evitando de esta manera que se contamine el semen diluido.



Figura 35. Armado de pistola de inseminación para semen fresco.
Fuente propia (2019).

- Seguidamente se preparó a las hembras limpiando y desinfectando la vulva. Una vez realizada esta maniobra con el espejo desinfectado y lubricado se empezó a hallar la entrada al cérvix, una vez hallada el personal de apoyo determino la motilidad con la que se cargó la pistola y con mucha precaución se introdujo a la entrada para ser depositado, ya realizada la inseminación se sustrajo ambos instrumentos con precaución.
- Se reitero la misma maniobra con cada animal que presento celo.

5.2.14. Detección de preñez

Uno de los principales objetivos de este trabajo es obtener cuantas borregas, respecto a cada tratamiento quedaron preñadas. Se empleo el método de detección de preñez por ecógrafo a los 35 días después de la inseminación artificial, el método fue empleado por su alta confiabilidad de 95% de acierto.



Figura 36. Lectura del Ecógrafo. Fuente propia (2019).



Figura 37. Detección de preñez observada en la pantalla del ecógrafo. Fuente propia (2019).

5.2.15. Procedimiento experimental

5.2.15.1. Diseño Experimental

Para la investigación que se realizara se empleó el modelo de diseño completamente al azar con arreglo de uno y dos factores con cuatro tratamientos con ocho repeticiones, Ochoa (2016):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = Una observación (Medición)

μ = media general

α_i = Efecto del i – esimo tipo de protocolo

β_j = Efecto fijo del j – esimo tipo de semen

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto fijo de interacción entre i – esimo tipo de protocolo con j – esimo tipo de semen

ε_{ijk} = Error experimental

5.2.16. Tratamientos

Los tratamientos que se emplearan para la investigación se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 5

Tratamientos planteados

FACTORES DE ESTUDIO	TRATAMIENTO	DESCRIPCIÓN
Factor A: tipos de protocolo		
a_1 = protocolo 1	$T_1 = a_1b_1$	Protocolo 1 – semen congelado
a_2 = protocolo 2	$T_2 = a_1b_2$	Protocolo 1 – semen fresco
Factor B: Tipos de semen		
b_1 = semen congelado	$T_3 = a_2b_1$	Protocolo 2 – semen congelado
B_2 = semen fresco	$T_4 = a_2b_2$	Protocolo 2 – semen fresco

5.2.17. Variables de respuesta

5.2.17.1. Color

Para el color se empleó el método cualitativo, utilizando la técnica basada en una escala de colores que se detallan en la siguiente tabla:

Tabla 6

Concentración espermática en base al color de eyaculado

Color	N° de espermatozoides(esp)
Blanco Cremoso	$\geq 1.000.000$ esp./mm ³
Blanco Lechoso	800.000 – 600.000 esp./ mm ³
Blanco acuoso	< 50.000 esp./ mm ³

Nota: Datos tomados de Rosemberger, (1981) citado por Ayala (2016).

5.2.17.2. Volumen eyaculado

Para hallar el volumen se utilizaron métodos cuantitativos, una de las técnicas de medición del volumen eyaculado fue en base de un vaso colector graduado que es la más optima en facilitar su lectura, sin embargo, también se realizó la lectura en vasos colectores no graduados (que son los más comerciales actualmente), determinándose el volumen utilizando una micropipeta.

5.2.17.3. pH de semen

La medición del pH es de importante valor a ser tomado en cuenta al momento de la dilución para su crioconservación, por lo cual se determinó esta variable cuantitativa por la técnica (cuantitativa – cualitativa) de papel pH, el proceso fue bastante rápido, se tomó una gota de semen eyaculado colocándolo sobre el papel tornasol o papel pH y con la ayuda de una escala de colores se determinó el valor aproximado.

5.2.17.4. Motilidad masal

Esta variable microscópica es cualitativa por lo cual se empleó la técnica de escalas de acuerdo al movimiento que se observa. Para poder realizar la técnica descrita de

la motilidad masal se sustrajo una gota de semen eyaculado homogenizado y con la pipeta de PASTEUR, se colocó sobre el portaobjetos sin la necesidad de utilizar un cubre objetos y se observó en microscopio a 10 x 0,25 aumentos.

La escala utilizada para la medición se muestra en la siguiente tabla, teniendo 1 como mínimo y 5 como máximo.

Tabla 7

Escala de valoración de la motilidad en base al movimiento

Valor	Clasificación	Descripción
1	Malo	Movimiento esporádico
2	Regular	Movimiento irregular
3	Bueno	Olas lentas
4	Muy bueno	Olas relativamente rápidas
5	Excelente	Olas rápidas

Nota: Datos tomados de Rosemberger, (1981) citado por Ayala (2016).

5.2.17.5. Motilidad individual

En esta variable se estimó el porcentaje de espermatozoides en movimiento (0 – 100%), para poder desarrollar la lectura de la motilidad individual se empezó colocando sobre el portaobjetos una gota de dilutor atemperado, e inmediatamente con la ayuda de la pipeta de Pasteur se rozó la superficie del volumen de semen eyaculado obteniendo una escasa cantidad y sumergiendo la punta de la pipeta sobre la gota con un movimiento lento se diluyo y se colocó cubreobjetos observándose en el microscopio a 40 x 0,65 aumentos. En grupos de diez espermatozoides se contabilizaron y registraron aquellos con movimiento y sin movimiento con 10 repeticiones sumando al final cuantos espermatozoides con movimiento existían de cada grupo, siendo el resultado final la expresión en porcentaje de la variable.

5.2.17.6. Concentración espermática

Sin lugar a duda esta variable fue muy importante para elaborar la cantidad de pajuelas.

El método cuantitativo utilizado para hallar la concentración espermática fue la cámara de newbauer, para llevar a cabo la técnica se realizaron los siguientes pasos:

- Como primer paso se empezó por sustraer semen eyaculado con la pipeta de glóbulos rojos la cantidad que marca 0.25, luego se completó con agua destilada hasta la marca 101 y para finalizar se agito unas 30 veces.
- Se preparo la cámara de newbauer cubriendo con un cubre objetos sobre los bordes añadiendo agua destilada previamente, esto ayudo a que el cubre objetos estuviera firme.
- Seguidamente se colocó la dilución de semen y agua destilada en la cámara, ingresando por capilaridad. Antes de su lectura se dejó reposar por 8 minutos.



Figura 38. Colocando el semen en la cámara de Newbahuer. Fuente propia (2019).

- Para empezar con el conteo se colocó en el microscopio a 40 x 0.65 aumentos, en cual se vio la cámara propiamente dicha que consta de cuadrículas de las cuales existe un cuadrado grande que está delimitado por un marco de tres líneas, (que es el lugar para realizar el conteo) teniendo en su interior 16 cuadrículas pequeñas y en su interior 16 cuadrículas aún más pequeñas, tal como se observa en la siguiente figura.
- Ubicado el área de conteo se contabilizaron todos los espermatozoides ubicado dentro de las tres líneas, obtenido el número de espermatozoides se repitió la acción por 5 veces en diferentes zonas de la cámara.
- Teniendo los 5 resultados previos finalmente se empleó la siguiente fórmula para hallar la concentración espermática:

$$\frac{Esp}{ml} = Sumade\ esp.* 12.800.000$$

5.2.17.7. Viabilidad

Esta variable cuantitativa se expresa en porcentaje, utilizando la técnica de tinción con eosina y nigrosina, el cual nos dio a conocer el porcentaje de espermatozoides vivos presentes en el semen eyaculado.

La técnica desarrollada comprendió los siguientes pasos:

- Con la ayuda de un gotero se colocó la tinción de eosina y nigrosina sobre un extremo del portaobjetos, seguidamente con la pipeta de Pasteur se colocó semen eyaculado sobre la gota de tinción de eosina y nigrosina, estando ambas partes esenciales en el portaobjetos se empezó a esparcir con la ayuda de un cubre objetos por toda el área del portaobjetos, dejando reposar por unos 15 minutos.
- Se observó a 100 aumentos, colocando una gota de aceite de inmersión de objetivos sobre el portaobjetos previamente preparado.

- Se contabilizo un grupo de diez espermatozoides contando cuantos tenían el acrosoma afectados por la tinción (que son espermatozoides muertos) y cuantos no se vieron afectados.
- Se realizo esta acción 10 veces, sumando cuantos espermatozoides no se vieron afectados por la tinción, obteniendo el resultado de cuantos espermatozoides estuvieron vivos en porcentaje.

5.2.17.8. Morfología

Para evaluar la morfología se utilizó la misma técnica de tinción de eosina y nigrosina. Los pasos realizados son iguales a la vitalidad, sin embargo, en esta variable lo que nos interesó, fue evaluar el número de espermatozoides sin malformaciones expresada en porcentaje. Al igual que la vitalidad se observó en el microscopio a 100 aumentos con la ayuda de aceite de inmersión de objetivos. Formando grupos de diez y realizando la acción 10 veces en diferentes zonas del portaobjeto.

5.2.17.9. Porcentaje de hembras en celo

Como es de conocimiento el celo de los ovinos es silencioso, sin embargo, no es motivo de que no pueda manifestarse, los detalles de la técnica como se detectó el celo se detalló en el punto 5.2.11., en muchos casos y durante el trabajo no fue la excepción, la mayoría de las hembras presentan celos se manifiestan cuando no hay supervisión del personal, pero como utilizamos un carnero, ayudo a observar cuantas hembras estaban marcadas al día siguiente, lo cual permitió contabilizar el número de hembras con celo expresadas en porcentaje. Para lo cual se utilizó la siguiente expresión:

$$\% \text{ de borregas en celo} = \left(\frac{\text{numero de hembras en celo}}{\text{numero de hembras en tratamiento}} \right) \times 100$$

Mediante el conteo por observación se realizó la determinación de borregas encelo, entre tratamientos respecto a los protocolos empleados.

5.2.17.10. Porcentaje de preñez

En la investigación, el porcentaje de preñez se realizó mediante la cuantificación de hembras preñadas, datos obtenidos con el método de detección de preñez por el ecógrafo. Para hallar este valor se empleó la siguiente expresión:

$$\% \text{ de preñez} = \left(\frac{\text{numero de hembras preñadas}}{\text{numero de hembras en tratamiento}} \right) \times 100$$

5.2.17.11. Costo de la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF).

Para el cálculo del costo se consideraron ambos tratamientos de sincronización tomando en cuenta la utilización del semen fresco y congelado, incluyendo la mano de obra, costo de pajuelas y de hormonas empleadas en los protocolos.

$$CPT \equiv \frac{\text{costo del tratamiento}}{\# \text{ de animales en tratamiento}}$$

Donde:

CPT: Costo por tratamiento

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Variables Macroscópicas

6.1.1. Color

Los resultados de color fueron homogéneos, blanco cremoso en todas las colectas y respecto a la tabla mostrada por Ayala (2016), se podía esperar una buena concentración espermática por ml.

Al respecto Castro et al (2017), manifestaron que en colectas realizadas en el Perú en carneros Assaf y Blackbelly, durante la colecta la valoración del color del semen fue de blanco cremoso. Lo que indica que el resultado obtenido en cuanto al color es altamente aceptable por tener cualidades iguales, y por qué el color cremoso indica un buen inicio de evaluación seminal para llegar a conservarlo refrigerado o congelado.

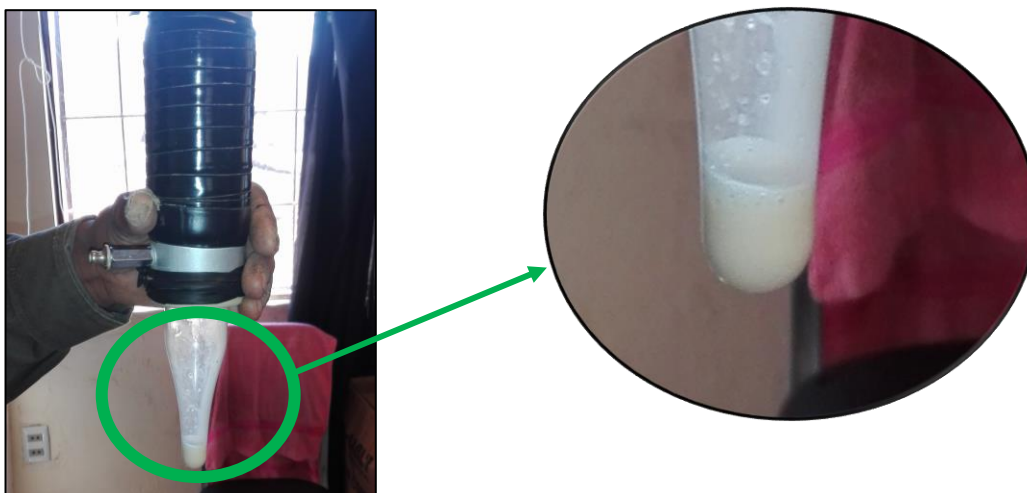


Figura 39. Color de semen obtenido. Fuente propia (2019).

6.1.2. Volumen

El Volumen final obtenido posterior al entrenamiento del carnero fue de 2 ml, cabe señalar que las colectas se realizaban una a dos veces por semana, sin embargo, cuando se trabaja constantemente con las colectas este llega a ser de 1.4 ml. A

continuación, se mostrará la siguiente figura en la que se puede observar el progreso del volumen durante la colecta, y en la tabla se muestran las fechas en comparación a los volúmenes:

Tabla 8

Numero de colectas con sus respectivos resultados acorde a la fecha

N° de Intentos	Fecha	Volumen eyaculado (ml)
1	31/05/2018	0
2	07/06/2018	0
3	11/06/2018	0.8
4	02/07/2018	1.2
5	13/08/2018	2
6	03/09/2018	2
7	10/09/2018	2
8	17/09/2018	2

Nota: Datos obtenidos durante el entrenamiento en la Estación Experimental Choquenaira (2018)

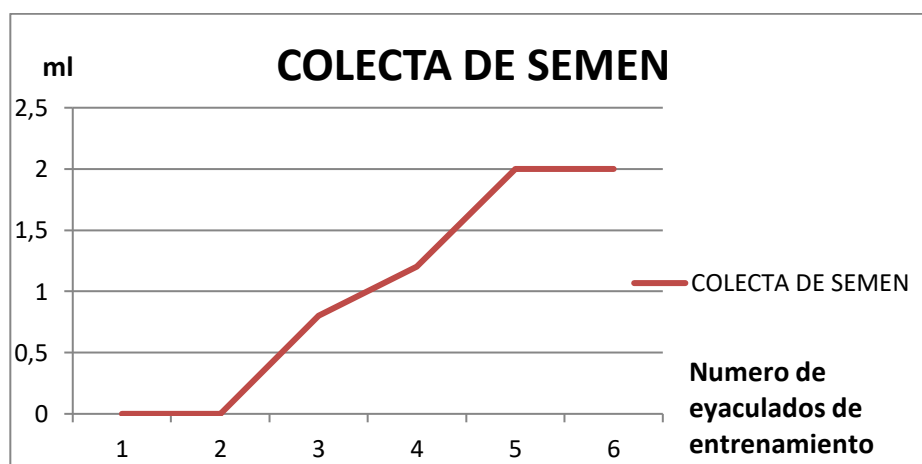


Figura 40. Progreso del volumen eyaculado durante el entrenamiento.

Álvarez (2017), menciona que el diámetro de los testículos influencia en el potencial del reproductor y al tener una buena circunferencia escrotal tendrá una cantidad de eyaculado superior al promedio. Cueto & Gibbons (2016) manifiestan que el carnero tiene un rango de eyaculado de 0.7 -3 ml, y que el promedio llega a ser de 1 ml, por lo tanto, cabe mencionar que la circunferencia escrotal del carnero 013 de raza Targhee es de 38 cm, entonces, lo que Álvarez menciona tiene coherencia, al obtenerse eyaculados satisfactorios de 2 ml.

Tabla 9

Valoración de la circunferencia escrotal en carnerillos mayor a 14 meses de edad

Circunferencia escrotal	Recomendación
< 32 cm	Cuestionable
32 – 40 cm	Satisfactorio
>40 cm	Excepcional

Nota: Tabla de recomendación extraída de Álvarez (2017), Evaluación Física y Reproductiva de Carneros

6.1.3. pH

El pH del semen de carneros juega un papel importante al momento de la conservación, al respecto Delgado (2013) menciona que un aumento en el pH puede implicar problemas en la fertilidad.

El resultado se obtuvo inmediatamente al momento de obtener el semen, empleando papel pH, el cual con la ayuda de la pipeta de Pasteur se logró tomar la muestra y el resultado según la escala del papel pH nos arrojó un valor estimado de 6.8 – 7 (datos obtenidos de 6 muestras), siendo un valor neutro.

6.2. Variables Microscópicas

6.2.1. Motilidad masal

La motilidad masal fue directamente visualizada en el microscopio siguiendo la siguiente escala de valoración de Ayala (2016) en la *Tabla 7 (pág. 60)*, el cual, al tener un movimiento de olas rápidas, se llegó a obtener un resultado de valoración 5, de excelente calidad en cuanto a la motilidad masal. Cabe señalar que los resultados de la motilidad masal fueron los mismos en las seis colectas que se realizó en el laboratorio.



Figura 41. Ondas de la motilidad masal vistas en microscopio. Fuente propia (2019).

6.2.2. Motilidad Individual

La motilidad obtenida en promedio fue de 82 %, Gómez & Migliorisi (2018) indican que la motilidad individual como mínima debe ser de 50 %, al respecto Cueto & Gibbons (2016), indican que para congelación debe contar una motilidad masal mínima de 4 y motilidad individual superior al 75 %. Por lo cual se realizó el conteo de las seis colectas (83%, 86%, 80%,81%, 80%, y 85%) el resultado promedio salió

de 82 % de espermatozoides con movimiento y 18 % de espermatozoides sin movimiento, tal resultado se detalla en la siguiente figura.

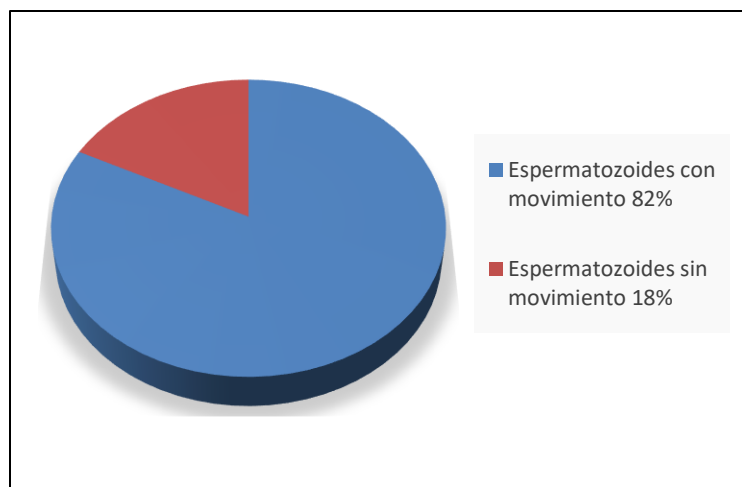


Figura 42. Gráfica circular, espermatozoides con y sin movimiento (%).

A continuación, se muestra la escala de calificación de la motilidad individual en la siguiente tabla:

Tabla 10
Valoración de espermatozoides móviles

VALORACIÓN	%PORCENTAJE DE CELULAS MOVILES
Muy Buena	80 – 100 %
Buena	60 – 79 %
Regular	40 – 59 %
Pobre	Menos de 40 %

Nota: Tabla de calificación extraída de Gómez & Migliorisi (2018), Protocolo para evaluación de semen en rumiantes.

Por la tabla de valoración de espermatozoides móviles, la motilidad de 82 % obtenida se encuentra en una valoración Muy buena, por lo tanto, se cumple con la

recomendación de Cueto & Gibbons (2016) al tener una motilidad individual mayor al 75 % para proceder al congelado en pajuelas.

6.2.3. Concentración espermática

La concentración espermática hallada en promedio fue de $4252 * 10^6$ esp./ml en promedio. Castro et al (2017) afirman que en promedio obtuvieron una concentración de $2695 * 10^6$ esp./ml, por otra parte, Simonetti et al (2014) menciona que una buena calidad de un semen de carnero tiene concentraciones entre 2000 y 6000 millones de espermatozoides.

Al respecto Gibbons & Cueto (2008), recomiendan utilizar concentraciones de 100 a 150 millones en la utilización de semen para la inseminación, para el trabajo que se realizó se utilizó la concentración de 200 millones, considerando que la inseminación a realizar era vía intracervical.

6.2.4. Vitalidad

La viabilidad obtenida de los estudios microscópicos fue del 83 % de espermatozoides vivos, estos valores son semejantes a los datos obtenidos por Castro et al (2017) que obtuvieron viabilidades de 82.5 y 83.5.

Por otro lado, Gómez & Migliorisi, (2018) indica que el porcentaje mínimo aceptable es del 70 % por lo tanto el valor de 83 % obtenidos en el trabajo es un valor totalmente aceptable.

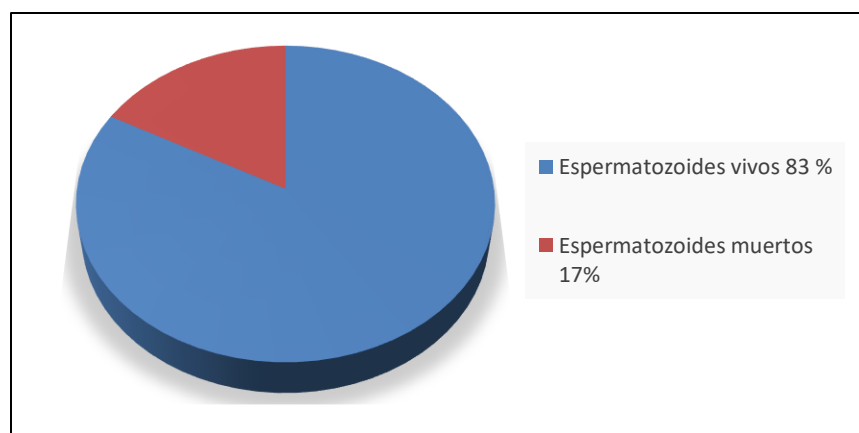


Figura 43. Grafica circular, espermatozoides vivos y muertos (%).

6.2.5. Morfología

La morfología nos da a conocer la cantidad de espermatozoides con malformaciones o anormales.

Los resultados de la morfología fueron del 89,6 %, al respecto Gómez & Migliorisi (2018), señala que el valor mínimo aceptable para inseminación como para congelado fue del 70 %. Ayala, (2016) menciona un rango aceptable que limita que las malformaciones no sean superiores de 15 – 20 %, debido a que perjudican en la capacidad de movimiento del espermatozoide.

Con las observaciones de los autores mencionados, las malformaciones son 10,4% inferior al rango de 15 – 20 %, por lo que se el semen cuenta con alto porcentaje libre de malformaciones que no impedirán el movimiento.

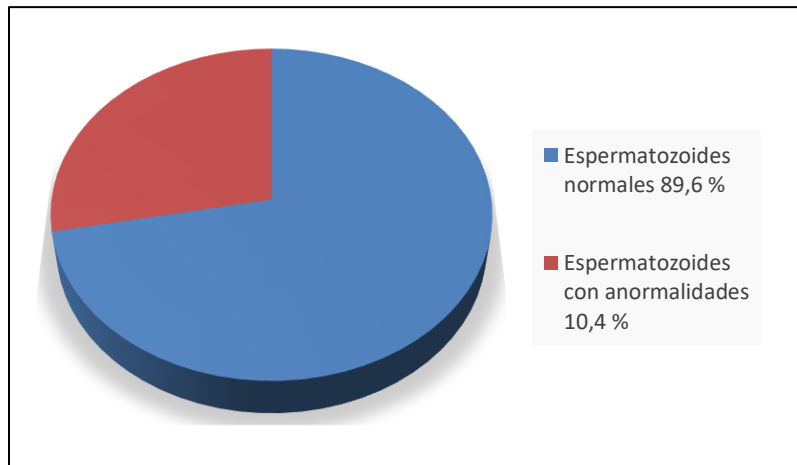


Figura 44. Grafica circular, malformaciones de los espermatozoides (%).

6.3. Comparación de variables microscópicas de semen fresco y congelado

Los resultados previamente mostrados, fueron realizados antes del proceso de congelación por lo cual, se realizó una comparación entre semen fresco y congelado con las variables de Motilidad Individual, Vitalidad y morfología, los resultados se detallan en la siguiente figura 45. Cuyos resultados se obtuvieron de tres muestras: la primera al momento de elaborar la pajueta, la segunda al momento del traslado y la tercera previo a la inseminación artificial.

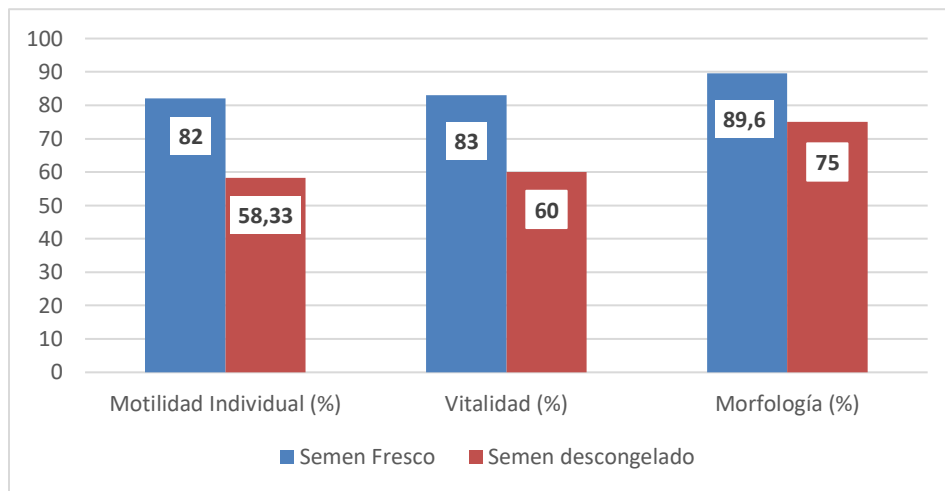


Figura 45. Grafica de comparación entre semen fresco y el descongelado (%).

Definitivamente tenían que haber diferencias, debido a que los espermatozoides sufren un estrés al momento de ser congelados, sin embargo, el dilutor es quien se encarga de amortiguar y nutrirlos para evitar un alto porcentaje de mortandad espermática.

Gómez & Migliorisi (2018), señalan que la motilidad individual inmediatamente post descongeladas deben de expresar un valor mínimo de 40 %, vitalidad de 60 % y morfología de 70 % para ser aceptables. Por otra parte, Cueto & Gibbons (2016) señalan que las condiciones para aceptar una pajilla deben reunir las siguientes características: a) porcentaje de espermatozoides vivos superior al 30 % y una motilidad igual o superior a 2,5.

La existencia de las diferencias entre semen fresco y congelado son aceptables tomando los valores recomendados por Gómez y Cueto (2016), tomando en cuenta que no se obtuvieron valores al mínimo si no que aun conservaban características deseables lo que determina una buena calidad de las pajuelas congeladas.

El vigor espermático sigue una escala visual que va de 0 a 5 por lo que se evaluó al mismo tiempo cuando se determinó la motilidad individual.

Al momento de evaluar la motilidad individual, se pudo constatar un vigor de 2,5 inicial y de 3 progresivo, de acuerdo a la Tabla 11.

6.4. Porcentaje de borregas en celo

Realizando el análisis de varianza a un nivel de significancia de 0.05 los resultados se observan en la siguiente tabla 11.

Tabla 11
Análisis de varianza de la Variable Porcentaje de borregas en celo con datos transformados a $\sqrt{Y + 0,5}$

Variable	n	CV
% de Hembras en celo	32	16,67

F.V.	SC	GL	CM	F	P - valor
Modelo	0,40	1	0,40	11,67	0,0018
Protocolos	0,40	1	0,40	11,67	0,0018 **
Error	1,02	30	0,03		
Total	1,42	31			

Nota: Los datos se hicieron correr en el programa estadístico INFOSTAT

Se observa en la Tabla 11 una alta diferencia significativa entre los protocolos aplicados, por lo tanto, hay una alta afluencia de los protocolos de sincronización en el porcentaje de celo en borregas.

Por otra parte, se puede evidenciar un C.V., de 16,67 que según Ochoa (2016) se encuentra en un rango de 16 – 20 con calificación de bueno, es por eso que se dice que los datos son confiables y que hubo un buen manejo de las unidades experimentales.

Al mostrar diferencias significativas entre protocolos, se realizó una prueba de medias Duncan con un valor alfa = 0,05, cuyo resultado se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 12

Prueba de medias por Duncan alfa = 0,05 de % de hembras en celo

Protocolos	Medias	n	E.E.
Protocolo 1	100,00	16	9,06 A
Protocolo 2	56,25	16	9,06 B

Al respecto Raso, (2004) en cuatro protocolos de sincronización, logro un 100 % de presencia de celo con dispositivo intravaginal más eCG, seguido de la doble prostaglandina, con un 95 %, en la tercera aplicación de prostaglandina f2 α una sola vez logrando un 72 % de hembras en celo. Comparando estos resultados se evidencio que aplicando dispositivos intravaginales el 100% de hembras entran en celo, en este tratamiento o protocolo 1 se dejó el dispositivo CIDR durante 14 días, pero el día 15 se aplicaron prostaglandina y eCG, mostraron celo a las 48 Horas, sin embargo, se pudo evidenciar que la media de los tratamientos del protocolo 2 logro un 56,25 % de Hembras en celo, fue inferior al obtenido por Prieto (2010).

cabe señalar que las hembras que manifestaron celo a los dos días luego de la aplicación de la dosis de 0,5 ml de prostaglandina f2 α , tal como se recomienda cuando se trabaja sincronizaciones con prostaglandinas en época estacional, por ser el segundo día luego de la aplicación en que existe mayor número de hembras en celo (Gibbons & Cueto 2007).

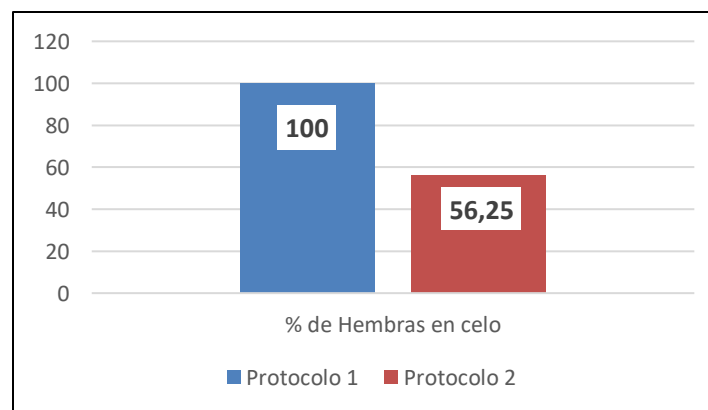


Figura 46. Porcentajes de hembras en celo obtenidos por cada protocolo.

En la figura 46 se observa el porcentaje promedio respecto a los dos protocolos de sincronización de celo, por lo cual el protocolo 1 con dispositivo intravaginal + PGf2 α + eCG, se constató que las 16 hembras estuvieron en celo, respecto al Protocolo 2 utilizando prostaglandina f2 α a una dosis + eCG se evidencio que solamente 9 de 16 hembras entraron en celo en el día dos después de aplicarse la dosis, por lo tanto en términos de porcentaje de hembras en celo el protocolo de sincronización 1 llega a ser el más eficiente al mostrar en su totalidad a las 16 hembras en celo.

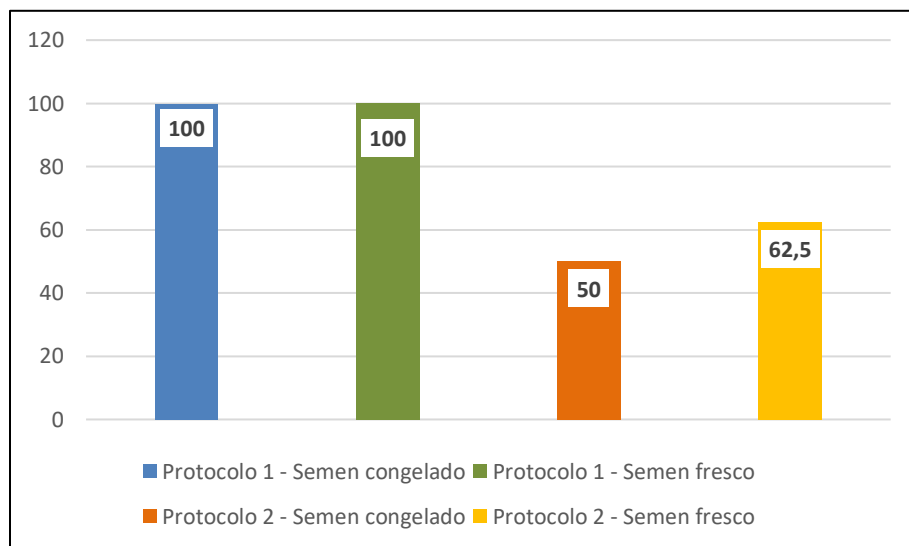


Figura 47. Porcentajes de hembras en celo obtenidos por cada Tratamiento.

En la figura 47 se observa la comparación del porcentaje de hembras en celo, obtenidos por tratamiento, tanto con el T1 y T2 se obtuvo un resultado similar del 100%, por tanto no hubo diferencias al emplear el protocolo 1, por otro lado el T3 y T4 si tuvieron leves diferencia al emplear el método de prostaglandinas, al presentar un 50 % de hembras en celo es decir que entraron en celo solo cuatro hembras del tratamiento T3 y en el T4 entraron en celo 5 hembras lo que implica un 62,5 % de hembras en celo. Por lo tanto, estas diferencias pueden repercutir directamente en la taza de preñez.

6.5. Porcentaje de preñez

Los resultados se muestran en la siguiente tabla que muestra resultados del ANVA a un nivel de significancia de 0,05.

Tabla 13
Análisis de varianza de la Variable Porcentaje de preñez con datos transformados a $\sqrt{Y + 0,5}$

Variable	n	CV
% de Preñez	32	26,68

F.V.	SC	GL	CM	F	P - valor
Protocolos	0,07	1	0,07	1,07	0,3103 NS
Tipo de semen	0,01	1	0,01	0,12	0,7331 NS
Protocolos * Tipo de semen	0,07	1	0,07	1,07	0,3103 NS
Error	1,92	28	0,07		
Total	2,07	31			

Nota: Los datos se hicieron correr en programa INFOSTAT

En el análisis de varianza se puede observar datos estadísticos del P – valor fue superior a 0.05 (nivel de significancia) por lo tanto no existió diferencias entre protocolos, tipo de semen e interacción, lo que implica que estadísticamente no existen diferencias entre tratamientos e interacción de los factores.

El coeficiente de variabilidad fue del 26,68, siendo un valor inferior al 30 % lo que evidencia que se tuvo un buen manejo de las unidades experimentales.

A continuación, se muestran en las siguientes figuras los porcentajes de preñez que se obtuvieron por tratamiento tipo de semen e interacción.

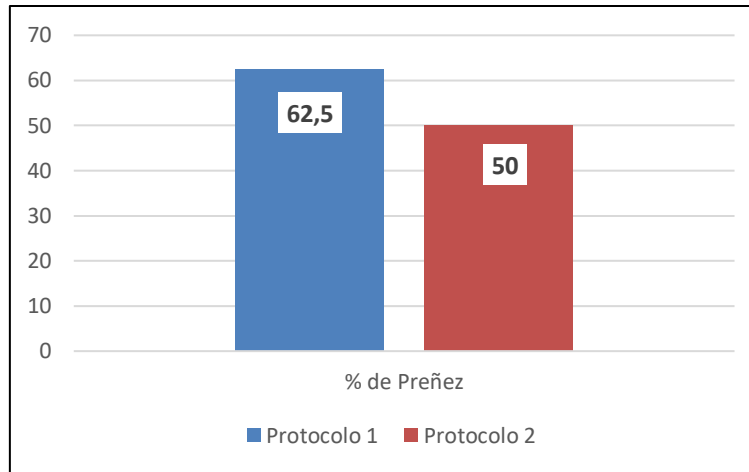


Figura 48. Porcentajes de preñez respecto a cada protocolo empleado.

Se obtuvo un 62,5 % de preñez utilizando el protocolo 1, al respecto Raso, (2004) obtuvo el mismo porcentaje de preñez utilizando este protocolo. Por otra parte, en el empleo del protocolo 2 se obtuvo un porcentaje de preñez del 50 %, Prieto (2010) obtuvo un 66 % de hembras preñadas con este protocolo de prostaglandina.

La siguiente figura muestra el porcentaje de preñez respecto al tipo de semen empleado para la inseminación artificial a tiempo fijo.

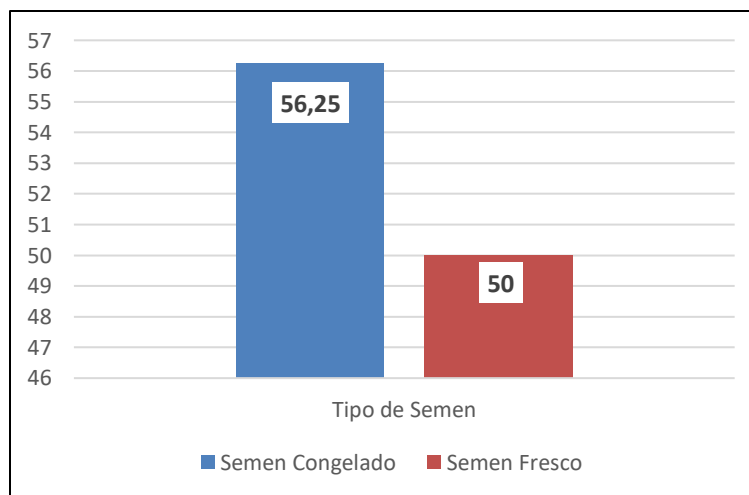


Figura 49. Porcentajes de preñez respecto al tipo de semen empleado.

Se puede constatar en los porcentajes de preñez respecto al tipo de semen empleado, tampoco existió una diferencia. Al respecto Gibbons & Cueto (2007) con semen fresco se obtiene entre 60 y 70 % de preñez, mayor al 50 % de nuestro estudio, y utilizando semen congelado entre 20 – 25 % de preñez, valores menores a 56,55 % de nuestro trabajo. Estas diferencias se pueden atribuir al manipuleo con la técnica de inseminación cervical e instrumentos empleados.

Por otro parte, la siguiente figura muestra los porcentajes de preñez logrados con la interacción de los factores A y B.

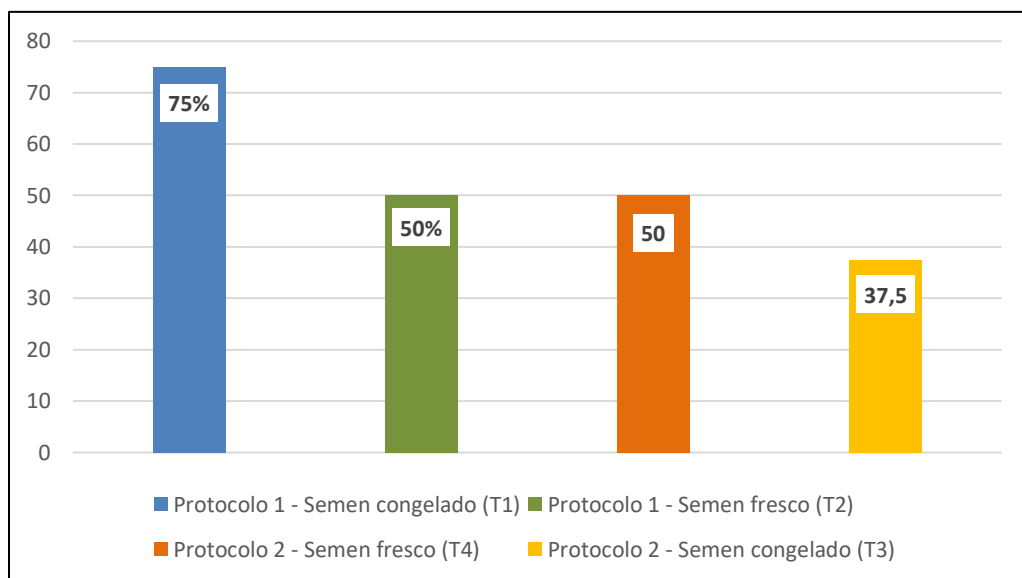


Figura 50. Porcentajes de preñez respecto a la formulación de tratamientos.

En la siguiente figura se muestran los porcentajes de preñez de cada tratamiento, en el T1 se obtuvo un porcentaje de preñez de 75 %, de las ocho hembras inseminadas seis lograron preñarse, T2 se obtuvo un porcentaje de preñez de 50 % es decir que de las ocho hembras cuatro se lograron preñar, para el T3 se obtuvo un 37,5 % de preñez en el que solo tres hembras de ocho se lograron preñar y finalmente el T4 se obtuvo un 50 % de preñez con cuatro hembras preñadas.

Empleando un tipo de semen no tiene una marcada diferencia, más al contrario lo que llega a marcar esta diferencia es el protocolo empleado, porque al tener un mayor número de hembras en celo la probabilidad de preñez es mayor.

Por otro lado en base a la experiencia del presente trabajo también se puede atribuir a la técnica que se emplea al momento de la inseminación, al tener un Cáteter de material sólido hay un riesgo menor de causar daños internos cuando el animal se llega a mover, más al contrario al emplear la pistola de inseminación que lleva una cánula de vidrio es más propenso romperse durante el movimiento de las hembras al momento de la inseminación llegando a quedarse partes del vidrio que afectarían la cavidad interna del animal, por lo que se limita en algunos casos en depositar el semen solamente en la entrada del cérvix.

6.6. Análisis económico por protocolo

6.6.1. Costos operativos de ambos protocolos para la IATF

En las siguientes tablas se pueden observar los costos requeridos por cada protocolo, tomando en cuenta la aplicación de vitaminas, minerales, dispositivos de sincronización, hormonas y material genético.

Tabla 14
Análisis de costo por protocolo de sincronización 1 (CIDR + PGf2 α + eCG)

Protocolo de sincronización 1	Precio unitario	Cantidad de unidades	Precio Total (Bs)
Jeringas de 5 ml	0,93	32	29,76
Selenate L.A. 1 ml	1,4	16	22,4
Material para inseminación (funda, guantes, papel toalla)	8	8	64
Pajuelas	25	8	200
Colecta de semen fresco	20	8	160
Novormon eCG	17,5	16	280
Prostaglandina f2a	7,5	8	60
Dispositivo CIDR para ovinos	35	16	560
Mano de obra	25	16	400
TOTAL			1776,16

En la tabla 14 se pueden observar el costo total del tratamiento para inseminar a 16 borregas empleando el protocolo 1 con un costo de 1776,16 Bs., por lo expuesto en el punto 5.2.17.11., Enel cual empleando la relación citada se tiene un costo por Hembra de 111,01 Bs.

En la Tabla 15 se encuentran los costos para realizar el protocolo de sincronización 2 que a diferencia del protocolo 1 este no lleva dispositivo CIDR, teniendo un costo total de 1216,16 Bs., para el tratamiento de 16 hembras, y un costo por unidad de tratamiento de 76,01 Bs

Tabla 15
Análisis de costo por protocolo de sincronización 2 (PGf2 α + eCG)

Protocolo de sincronización 2	Precio unitario	Cantidad de unidades	Precio Total (Bs)
Jeringas de 5 ml	0,93	32	29,76
Selenate LA 1 ml	1,4	16	22,4
Material para inseminación (funda, guantes, papel toalla)	8	8	64
Pajuelas	25	8	200
Colecta de semen fresco	20	8	160
Novormon	17,5	16	280
Prostaglandina f2a	7,5	8	60
Mano de obra	25	16	400
TOTAL			1216,16

Prieto (2010), indica que los costos empleando dispositivos con progestágenos más eCG y prostaglandina f2 α tiene un costo de 10 \$, y el uso de prostaglandina se reduce a 5\$, sin embargo, en la investigación con el protocolo 1 que lleva progesterona, eCG y PGf2 α , se logró obtener un costo de 111,01 Bs., que en dólares equivaldría a 15,9 \$ con un porcentaje de preñez del 62,5 % en promedio, por otro lado el protocolo 2 llego a tener un costo de 76,01 Bs., que en dólares equivale a 10.9 \$, con un porcentaje promedio de preñez de 50 %,

A continuación, se muestran en la figura la comparación de costos respecto al porcentaje de preñez.

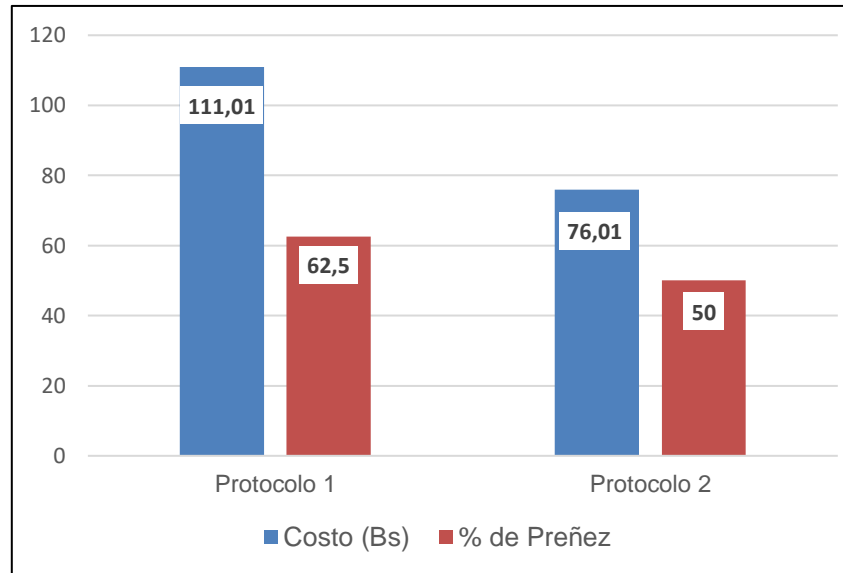


Figura 51. Comparación de Porcentajes de preñez respecto a los costos por protocolo.

7. CONCLUSIONES

De acuerdo a los objetivos específicos y los resultados mostrados en las variables de respuesta se llegan a las siguientes conclusiones:

- Se logro obtener de la calidad de semen excelentes variables macroscópicas superiores a investigaciones previas, dentro de ellas se puede mencionar un color de semen Blanco cremoso, con un volumen eyaculado promedio de 2 ml y un pH relativamente neutro de 6,8.
- En los exámenes microscópicos se evidencio la calidad de semen en fresco por su previo examen macroscópico obteniendo una motilidad masal de categoría 5 (Excelente), una motilidad individual de 82 %, concentración espermática de $4252 * 10^6$ esp./ml., viabilidad de 83 % y Morfología del 89,6%. Y en examen post descongelado de pajuelas de 0,5 ml a una concentración de $200 * 10^6$ esp./ml., se logró una motilidad de 58 %, viabilidad del 60 % y morfología del 75 %.
- En los tratamientos empleados con el protocolo 1 se obtuvo un porcentaje de hembras en celo de 100% y empleando el protocolo 2 se obtuvieron valores diferentes en el T3 un porcentaje de 50 % y el T4 con 62,5 %, mostrando que los tratamientos T1 y T2 tienen una mayor eficiencia al utilizar CIDR + eCG + PGf2 α .
- En los porcentajes de preñez el T1 obtuvo un 75 % de preñez, el T2 y T4 un porcentaje de preñez de 50% y el T3 con un porcentaje de 37,5 %. Observando los resultados siendo viables el T1 con un mejor resultado.
- Los costos por protocolo muestran en el T1 y T2 un costo por animal del 111,01 Bs obteniendo un porcentaje de preñez del 62,5 %, y el T3 y T4 empleados con el protocolo 2 con un costo de 76,01 Bs por animal muestran un resultado de 50% de preñez.

8. RECOMENDACIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el trabajo de investigación en condiciones de altiplano, se hacen las siguientes recomendaciones:

- La asepsia de los materiales de laboratorio debe tomarse muy en cuenta al momento de realizar la colecta de semen en carneros y la higiene y buena condición corporal del carnero deben ser óptimas para lograr excelentes colectas.
- Para realizar la colecta en carneros de raza Targhee la vagina artificial debe tener una temperatura mínima de 45 °C en especial cuando se trabaja en estaciones de invierno.
- Para realizar la concentración espermática se recomienda el empleo de una pipeta de glóbulos rojos en especial si no se cuenta con experiencia en el manejo de la micropipeta.
- El dilutor Andromed más adición de agua destilada y yema de huevo son buenos para realizar inseminaciones con semen fresco y refrigerado sin embargo para conservación en pajuelas congeladas no es factible en especial en la raza Targhee.
- Para la sincronización de celo se debe tomar muy en cuenta los tiempos que se manejan, pues se verá reflejada en la hora que se presencia el celo.
- Para realizar la inseminación artificial se utiliza un empleo del horario AM/PM, si presenta celo en la mañana se insemina por la tarde y viceversa.
- Las hembras escogidas para un programa de IATF deben ser de condición corporal 2,5 – 3, y múltiparas para facilitar la técnica.
- Para el empleo de solo prostaglandinas en la sincronización de celo se debe realizarlo en la época de estación reproductiva y tener referencia del tiempo de ciclo estral de 17 días.

9. BIBLIOGRAFIA

- Ajllahuanca, J.; Gutierrez, E. & Perez, H. (10 de septiembre 2016). Efecto de dos niveles de eCG sobre la fertilidad de borregas Corriedale inseminadas por laparoscopia. XXI Reunión Nacional de ABOPA. Cochabamba – Bolivia. 243 – 246.
- Alvarez, E. (15 de agosto de 2017). Evaluación Física y reproductiva de Carneros. DOCPLAYER. Recuperado de: docplayer.es/59350893-Evaluacion-fisica-reproductiva-de-carneros.html
- Arechiga, C; Vidauri, Z; Briano, V; Flores, G; Berumen, F & Fernandez, E. (2019). Función y regresión del cuerpo lúteo durante el ciclo estral de la vaca. *Abanico veterinario*, 9(1), 1.
- Ariagno, J. & Mormandi, E. (2016). Guía práctica para la evaluación del semen. *ABA*, 80(3), 31.
- Arregui, D. (17 de mayo de 2020). Ciclo estral de la oveja. *R.Vet.* Recuperado de: reproducciónveterinaria.com/fisiología-y-anatomia-obstetrica/fisiología-obstetrica2/ciclo-estral/ciclo-estral-en-la-oveja/
- Atuesta, J. & Gonella, A. (2011). Control hormonal del ciclo estral en bovinos y ovinos. *Revista Spei Domus*, 7(14), 19.
- Ayala C., 2016. Hormonas. Tema 2. Guía de la Asignatura Fisiología de la Reproducción. Universidad Mayor de San Andrés. Carrera Ingeniería Agronómica. La Paz, Bolivia.
- Balcázar, J. & Porras, A. (2013). Manual de Prácticas en Manejo Reproductivo de Ovinos y Caprinos (1ed.). México:UNAM. 15 – 40.
- Bidinost, F., Gibbons, A. & Cueto, M. (1999). ECOGRAFÍA PARA EL DIAGNÓSTICO DE PREÑEZ EN OVINOS Y CAPRINOS (1ed.). Argentina – Bariloche:INTA.
- Brandan, N. (2011). Hormonas hipotalámicas e hipofisarias (1 ed.). Argentina: UNNE.

- Canto, F; Muñoz, C. & Reyes, J. (2012). Evaluación reproductiva y sanitaria del carnero. INFORMATIVO, 1(99), 3.
- Castellardo, G. (2008). Razas ovinas y su rol en los sistemas de cruzamiento orientados a la producción de carne en la región de Los Lagos (1ed.). Chile:UC.
- Castro, J.; Chirino, M. & Orellana, J. (2017). Calidad de semen refrigerado de carneros Assaf y Blackbelly. Rev Inv Vet Perú, 28(3), 766.
- Christie, V. (2008). Manejo de inseminación artificial con semen fresco en ovinos de la región de Magallanes. (Tesis de licenciatura). Universidad de Magallanes, Chile.
- Cruz, R. (2010). Manual de producción ovina (1ed.). Paraguay: IPTA pp 14
- Cueto, M & Gibbons, A. (2016). Manual de Obtención, Procesamiento y Conservación del Semen Ovino (2ed.). Argentina:INTA. 22 p.
- De la Fuente, F. (2016). Inseminación artificial y mejora genética (1 ed.). España - León:Ovigen
- Delgado, B. (2013). Evaluación espermática de semen de ovino tratado por la técnica de gradiente densidad. (Tesis de Pregrado). Universidad Ricardo Palma, Lima – Perú.
- Delgado, M. & Illán, S. (2017). Endocrinología en el ganado ovino de leche (1ed.). España: Universidad de Castilla – La Mancha
- Duran del campo, A. (1980). Anatomía, fisiología de la Reproducción e inseminación artificial en ovinos (1ed.). Montevideo – Uruguay: Don Orione 264 p.
- Educa. (s.f.). Departamento de La Paz. Recuperado de: educa.com.bo/content/departamento-de-la-paz
- Fernández, D. (20 de junio de 2011). Pérdidas Embrionarias y Fetales en Ovinos en Uruguay. XV Congreso latinoamericano BUIATRIA. Centro Médico Veterinario Paysandú – Uruguay. pp. 5 – 18.

- Fornazari, R. et al. (2018). Estrus Synchronization and Artificial Insemination with Fresh and Chille Semen in Assaf Ewwes. *Agricultural Sciences*, 1 (1), 12.
- Franco, J. & Uribe, L. (2012). Hormonas reproductivas de importancia veterinaria en hembras domésticas ruminantes. *Scielo*, 11(1), 45.
- Frandson, R. (1996). *Anatomía y Fisiología de Animales Domésticos (5ed.)*. Argentina: Acribia. pp. 386 – 436.
- Gibbons, A. & Cueto, M. (2004). *Manual de inseminación artificial en la especie ovina (1 ed.)*. Bariloche: INTA.
- Gibbons, A. & Cueto, M. (2007). Inseminación artificial con semen fresco en ovinos. *Presencia*, 1(51), pp. 8 – 12
- Gibbons, A. & Cueto, M. (2008). *Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino (1 ed.)*. Bariloche: INTA
- Gibbons, A. & Cueto, M. (2009). *Inseminación Artificial con Semen Congelado en Ovinos*. *Presencia*, 53(51), 32.
- Godoy, J & Meneses, R. (1 de mayo del 2011). *Protocolo de inseminación con semen fresco en ovinos*. Informe INIA – URURI, p. 1 – 4.
- Godoy, M. & Meneses, R. (26 de julio de 2010). *Inseminación Artificial*. INFORMATIVO: INIA – URURI, pp. 1 – 2
- Gomez, M. & Migliorisi, A. (25 de agosto de 2018). *Protocolo para la evaluación de semen en ruminantes*. Sitio Argentino de Producción Animal. Recuperado de: produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/cria_toros/49-ProtocoloEvalSemen.pdf
- Gonzales de Bulnes, A. (14 de marzo de 2019). *Actualización en protocolos de sincronización de celo en la especie ovina*. OVlespaña. Recuperado de: <http://www.oviespaña.com/foro-nacional-de-ovino/foro-de-ovino-18-segunda-sesion/actualizacion-en-protocolos-de-sincronizacion-del-celo-en-la-especie-ovina>

- Hafez, E. (1989). Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. Cap. 5. Quinta Edición. Editorial Interamericana S.A. de C.V. Mc Graw - Hill. México, D.F. pp. 91 – 519
- Hernández, J. (2015). Estacionalidad Reproductiva en Animales Domesticos. (1ed.). Iztapalapa:UAM. 25.
- IICA, (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). (2015). GANADO OVINO: Manual de buenas prácticas (1ed.). Paraguay: IICA.
- INTA, (2004). Jornadas de Inseminación Artificial con semen fresco en ovinos (1ed.). Bariloche: Grupo de reproducción.
- La molina. (26 de septiembre de 2019). Espermatogénesis. Recuperado de: <https://tarwi.lamolina.edu.pe/>...PDF Espermatogénesis>
- Levi del Águila, L. (2007). Evaluación de Dos Protocolos Hormonales de Sincronización de Estro e Inseminación Artificial a Tiempo Fijo en Vacas Cebuinas Bajo Condiciones de Crianza Extensiva en la Amazonía. Tesis para Optar el Título de Médico Veterinario. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Medicina Veterinaria. E. A. P. de Medicina Veterinaria. Lima-Perú. PP. 11 – 29
- Lozano, F.; Uribe, L. & Osorio, J. (2012). Control hormonal de la reproducción en hembras ovinas (*Ovis Aries*). Veterinaria y zootecnia, 6(2), 6.
- Martínez, R. (1999). Comparación de cinco técnicas d campo para detectar preñez en ovejas Pelibuey. Vet. Mex., 30(2), 193.
- Medina, A. (2011). Efecto del Número de Lactancia y Producción Sobre la Tasa de Gestación a Primer Servicio Implementando el Protocolo Doble-Ovsynch. (Tesis de pregrado). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. pp. 9, 17 – 31
- Medina, A. (2011). Efecto del Número de Lactancia y Producción Sobre la Tasa de Gestación a Primer Servicio Implementando el Protocolo Doble-Ovsynch. Para Obtener el Título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

- Menacho, N. (24 de noviembre de 2014). Oferta de carne de oveja crece en el país. Noticias Nacionales. El Deber. Recuperado de: <http://www.ibce.org.bo/principales-noticias-bolivia/noticias-nacionales-detalle.php?id=48608&idperiodico=4&fecha=2014-11-24#>
- Mestre, C., Sánchez, J. & Salgado, S. (9 de agosto de 2018). Morfología del esperma: espermatozoide normales y anormales. Reproducción Asistida ORG. Recuperado de: reproduccionasistida.org/analisis-de-la-morfologia-de-los-espermatozoides/
- Ochoa, R. (2016). Diseños Experimentales (2ed.). La Paz - Bolivia
- Ojeda, A. (2009). Ecografía en ovinos para el diagnóstico gestacional. (Tesis de pregrado). Universidad de Magallanes. Punta Arenas – Chile. pp. 10 – 28.
- Ortega, G. (2017). Inseminación artificial con semen fresco en ovinos Corriedale en la estación experimental choquenaira y comunidad pan de azúcar. (Tesis de pregrado). Universidad Mayor de San Andrés, La Paz
- Oviedo, E. (2009). Inseminación artificial en ovinos. (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México.
- Oviedo, E. (2009). Inseminación Artificial en Ovinos. (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, México.
- Palomares, S, (2009). Revisión de los Protocolos Empleados en la Sincronización de Celos en Bovinos. (Tesis de pregrado). Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales – U.D.C.A. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Bogotá D.C. pp. 23 – 125
- Parí, E. (2016). Evaluación de tres protocolos de sincronización de celo e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) en vacas mestizas en la comunidad tucupi – prov. sud yugas. (Tesis de pregrado). Universidad Mayor de San Andrés, La Paz.
- Porras, A; Zarco, L. & Valencia, J. (2003). Estacionalidad Reproductiva en Ovejas (1 ed.).

- Prieto, M., García, G., Lateulade, I. & Villa, M. (2010). Sincronización de celos en ovinos con doble dosis de prostaglandina. Sitio argentino de producción animal, 1(39).
- Producción de pequeños rumiantes y cerdos (1 ed.). (2010). Argentina: UNNE.
- Quispe, S. (2019). Evaluación de tres dilutores sobre características espermáticas antes y después de la congelación de semen de bovino Holstein. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Micaela Basticas de Apurimac, Abancay – Perú. pp. 10 – 25.
- Ramos, L. (2011). Efecto de dilutores y dos tiempos de equilibrio en la crioconservación de semen ovino (*Ovis aries*) en la estación experimental de choquenaira. (Tesis de pregrado). Universidad Mayor de San Andrés. La Paz – Bolivia.
- Raso, M. (01 de abril de 2004). Comparación de 4 tratamientos de sincronización de celo en ovinos. Ganadería, p. 38.
- Simonnetti, L.; Lynch, G. & McCormick, M. (2014). Aspectos reproductivos de los carneros. Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental, 1(1), 18.
- Sintex (18 de diciembre de 2005). Producción de bovinos de leche. Sitio argentino de producción animal. Recuperado de www.produccion-animal.com.ar
- Sisson, S. & Grossman, J. (2002). ANATOMÍA DE LOS ANIMALES DOMÉSTICOS (5ed.). Barcelona: MASSON. pp. 1040 – 1063
- Urquizo, E (2017). Evaluación de la fertilidad en inseminación artificial por laparoscopia bajo tres niveles de gonadotropina equina en ovinos criollos. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de San Antonio del cusco – Perú. 73 p.
- Zoetis. (4 de enero de 2020). Progesterona en dispositivo intravaginal. Recuperado de: ar.zoetis.com/products/bovinos/cidr.aspx.

ANEXOS

Anexo 1. Registro de Evaluación reproductiva del Carnero

EVALUACIÓN REPRODUCTIVA DEL CARNERO

Propietario: Estación Experimental Patacamaya	Nombre del animal: Papi	Fecha de Evaluación: 20/05/2019 y 26/07/2019
Dirección: Patacamaya - Carretera Tambo quemado	N° Identificación: 013	Raza: Targhee
	Tatuaje:	Caravana: <input checked="" type="checkbox"/> Marca:
	Fecha de Nacimiento: enero 2017	Edad: 3 años
	Padre: 072	Madre: 15

Examen Físico	Examen de Semen		
Condición corporal (1-5): 4	Método de recolección: EE <input type="checkbox"/> VA <input checked="" type="checkbox"/>		
Pene/Prepucio: Normal			
Circunferencia escrotal: 38 cm	Examen de Eyaculado	E1	E2
Observaciones: Ninguna	Volumen (ml)	2	2
	Color	BC*	BC*
	pH	7	6,8
	Motilidad masal (1-5)	5	5
	Motilidad individual (%)	86	81
	Vigor (0-5)	3	3
	Concentración (esp./ml)	3699*10 ⁶	4000*10 ⁶
	Vitalidad (%)	83	86
Morfología (%)	92	88	

*BC: color Blanco cremoso

Anexo 2. Registro de Hembras empleadas

Fecha: 16/07/2019

Granja: Estación Experimental Patacamaya

Propietario: UMSA

N°	N° DE ARETE	EDAD	CONDICION CORPORAL (1 – 5)	PESO (Kg)	N° DE PARTOS
1	385	3	2,5	40	2
2	533	3	3	55	2
3	375	3	2,5	39	2
4	469	4	3	52	3
5	593	3	3	55	2
6	27	3	3	54	2
7	420	4	3	56	3
8	189	3	3	50	2
9	194	3	3	52	2
10	161	3	3	51	2
11	470	4	3	49	3
12	551	3	3	50	2
13	044	3	3	58	2
14	0138	3	3	53	2
15	471	3	3	52	2
16	190	3	3	54	2
17	379	3	2,5	40	2
18	200	4	3	51	3
19	198	3	3	50	2
20	378	3	2,5	38	2
21	512	3	3	47	2
22	384	3	2,5	40	2
23	160	3	3	50	2
24	162	3	3	49	2
25	163	3	3	47	2
26	165	3	3	52	2
27	166	3	3	50	2
28	167	3	3	53	2
29	179	3	3	50	2
30	213	3	3	48	2
31	205	3	3	45	2
32	201	3	3	52	2

Anexo 3. Cálculo de Dosis para congelado

Cálculo de número de dosis

$$N^{\circ} \text{ de Dosis} = \frac{\text{Concentración Espermática} \left(\frac{\text{esp}}{\text{ml}} \right) * \text{Volumen Eyaculado}}{\text{Concentración de Dosis}}$$

$$N^{\circ} \text{ de Dosis} = \frac{4.252.800.000 * 2}{200.000.000}$$

$$N^{\circ} \text{ de Dosis} = 42,5$$

Cálculo de volumen total

$$\text{Volumen de dilución} = N^{\circ} \text{ de Dosis} * \text{Capacidad de pajuela}$$

$$\text{Volumen de dilución} = 42,5 * 0,5$$

$$\text{Volumen de dilución} = 21,25 \text{ ml}$$

Cálculo de volumen de Dilutor

$$\text{Volumen de Dilutor} = \text{Vol. de Dilución} - \text{Vol. de Eyaculado}$$

$$\text{Volumen de Dilutor} = 21,25 - 2$$

$$\text{Volumen de Dilutor} = 19,25 \text{ ml}$$

Anexo 4. Cálculo de eCG a emplear

Dosis empleada de 300 U.I

El frasco de Novormon eCG contiene 25 ml que equivalen a 5000 U.I.

$$Dosis \left(\frac{ml}{oveja} \right) = \frac{300 \text{ U.I.} * 25 \text{ ml}}{5000 \text{ U.I.}}$$

$$Dosis \left(\frac{ml}{oveja} \right) = 1,5 \text{ ml eCG}$$

Anexo 5. Trabajo de mejoras del Laboratorio de Reproducción Animal



Colocado de cemento para el brete



Vaciado de la mezcla para el piso de brete



Fierros ensamblados para brete



Brete fijo para colecta concluido



Instalación de agua para el laboratorio



Área de colecta y manipulación de hembras para

Anexo 6. Insumos Veterinarios empleados



Mineral selenio



Vitaminas A,D,Ey B12



Ivermectina para parásitos externos



Albendazol para parásitos internos



Selenate L.A.



Gonadotropina equina corionica