

2016

## **Evaluación del porcentaje de preñez en ovejas por inseminación con semen congelado y semen congelado diluido con TCM 199**

Pamela González Murcia  
*Universidad de La Salle, Bogotá*

Jairo Andrés Martínez  
*Universidad de La Salle, Bogotá*

Follow this and additional works at: [https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\\_veterinaria](https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria)



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

---

### **Citación recomendada**

González Murcia, P., & Martínez, J. A. (2016). Evaluación del porcentaje de preñez en ovejas por inseminación con semen congelado y semen congelado diluido con TCM 199. Retrieved from [https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\\_veterinaria/178](https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/178)

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact [ciencia@lasalle.edu.co](mailto:ciencia@lasalle.edu.co).

**EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE PREÑEZ EN OVEJAS POR INSEMINACIÓN  
CON SEMEN CONGELADO Y SEMEN CONGELADO DILUIDO CON TCM 199.**

**PAMELA GONZÁLEZ MURCIA**

**JAIRO ANDRÉS MARTÍNEZ**

UNIVERSIDAD DE  
**LA SALLE**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**PROGRAMA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**BOGOTÁ D.C.**

**2016**

**EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE PREÑEZ EN OVEJAS POR INSEMINACIÓN  
CON SEMEN CONGELADO Y SEMEN CONGELADO DILUIDO CON TCM 199.**

**PAMELA GONZÁLEZ MURCIA**

**CÓDIGO 14041093**

**JAIRO ANDRÉS MARTÍNEZ**

**CÓDIGO 14042144**

**Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al Título de Médico Veterinario**

**Director**

**DR. CESAR GÓMEZ VELÁSQUEZ**

UNIVERSIDAD DE  
**LA SALLE**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**PROGRAMA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**BOGOTÁ D.C.**

**2016**

## **DIRECTIVOS**

**RECTOR**

Hno. Carlos G. Gómez Restrepo

**DECANO DE LA FACULTAD DE  
CIENCIAS AGROPECUARIAS**

Dra. Claudia Aixa Mutis Barreto

**VICERRECTOR ACADÉMICO**

Hno. Carlos Enrique Carvajal C.

**SECRETARIO ACADÉMICO**

Dr. Alejandro Tobón González

**VICERRECTOR ADMINISTRATIVO**

Dr. Eduardo Ángel Reyes

**DIRECTOR DE MEDICINA  
VETERINARIA**

Dr. Fernando Nassar

**VICERRECTOR DE PROMOCIÓN  
Y DESARROLLO HUMANO**

Hno. Frank Leonardo Ramos B.

**ASISTENTE ACADÉMICA DE  
MEDICINA VETERINARIA**

Dra. Clara Stefany Romero H.

**VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN  
Y TRANSFERENCIA**

Dr. Luis Fernando Ramírez H.

## TABLA DE CONTENIDOS

	Pagina
Resumen	6
Introducción	7
Justificación	9
Objetivos	10
Hipótesis	11
Marco teórico	12
Inseminación artificial ovina	12
Tipos de inseminación	17
Concentración espermática	20
Ciclo estral	20
Sincronización	23
Diluyentes	26
Andromer ®	27
Triladyl ®	28
Continental ®	29
Novormon ®	29
TCM 199	30
Materiales y métodos	33

Localización	33
Población	33
Procedimiento	34
Materiales	36
Metodología	38
Análisis estadístico	39
Resultado	41
Discusión	46
Conclusiones y recomendaciones	48
Referencias	49

## LISTA DE TABLAS

		Pagina
Tabla 1.	Grupos de inseminación	38
Tabla 2.	Test exacto de Fisher	39
Tabla 3.	Resultados grupo con semen congelado	41
Tabla 4.	Resultado grupo con TCM 199	41
Tabla 5.	Prueba de Fisher con los resultados reales	42
Tabla 6.	Prueba de Fisher con valores aleatorios	43
Tabla 7.	Prueba de Fisher con valores aleatorios	43
Tabla 8.	Prueba de Fisher con valores aleatorios	43
Tabla 9.	Prueba de Fisher con valores aleatorios	44
Tabla 10.	Prueba de Fisher con valores aleatorios	44
Tabla 11.	Prueba de Fisher con valores aleatorios	44
Tabla 12.	Prueba de Fisher con valores aleatorios	45

## LISTA DE FIGURAS

		Pagina
Figura 1.	Inseminación artificial vaginal.	17
Figura 2.	Inseminación cervical.	18
Figura 3.	Ciclo estral.	22
Figura 4.	Logo.	33
Figura 5.	Mapa.	33
Figura 6	Inseminación artificial.	36
Figura 7.	Materiales para inseminación.	37
Figura 8.	Formula test exacto de Fisher.	40



## RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el porcentaje de preñez realizando inseminación artificial tras-vaginal con semen congelado y con semen congelado diluido y con el TCM 199 como parte del diluyente, para evaluar la viabilidad del semen y su eficacia para la preñez de las ovejas.

El trabajo se realizó en la finca CRIADERO LA FRONTERA ubicada en Tenjo, Cundinamarca ubicado en la Provincia de Sabana Centro a 37 km de Bogotá, con ovejas con cruce entre criollas y Katahdin. Se realizó en dos grupos cada uno de 30 ovejas, que fueron inseminadas aleatoriamente, 15 con semen congelado y las otras 15 con semen congelado diluido y con el TCM 199 como parte del diluyente. Para la evaluación de la preñez se realizó ecografía tras-vaginal a los 54 días después de la inseminación. El resultado obtenido fue un 27% de ovejas preñadas con el diluyente en comparación con un 13% que fueron inseminadas sin él. Aunque los resultados no fueron los esperados con el diluyente, encontramos que existieron factores climáticos desfavorables que pudieron afectar los resultados de la investigación.

## INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) en ovinos no es una práctica que se realice frecuentemente, ya que los productores prefieren la monta natural, teniendo un macho que es apto para servir de 25 a 35 hembras, lo que reduce la capacidad de tener animales por macho, en cambio si se realiza la IA se hace uso de la dotación de espermatozoides disponibles de un macho, de manera que se incrementa considerablemente el progreso genético y se mejora en muchas ocasiones la eficacia de la reproducción (Cevallos 2012).

La IA intravaginal es un método simple que no requiere de equipos especializados y que es relativamente fácil de realizar. En las ovejas sus resultados no son confiables, el número de IA que se realiza y la fertilidad alcanzada no son muy altos (Alcalde, 2013), y aparte el semen se deposita a la entrada del cérvix, donde los espermatozoides no tienen tanta facilidad para atravesar todo el cérvix como lo harían si fuera por medio de monta natural.

La supervivencia de los espermatozoides dentro del aparato genital no pasa de las 36 a 48 horas, esto varía dependiendo en el sitio donde se deposite el semen, reduciendo posiblemente su viabilidad y por esto al ser depositado en la entrada del cérvix no alcance a llegar en el tiempo necesario para su fecundación.

La utilización de un diluyente nos ayuda a proteger los espermatozoides para que permanezcan viables y capaces de fertilizar los óvulos durante el mayor tiempo posible propiciando un medio satisfactorio que mantenga su pH normal y lo provea de nutrientes (Hinojosa, 2006).

## JUSTIFICACIÓN

El ganado ovino tiene una mayor capacidad reproductiva, con un intervalo entre parto menor que la de los bovinos, se adaptan fácilmente a cualquier clima y altura. Son diversas las ventajas que se pueden encontrar en la producción de ovinos en comparación con la producción bovina y se deben tener en cuenta para el mejoramiento y la reactivación de la agricultura colombiana.

La reproducción ovina no se ha tenido en cuenta en Colombia como una forma de mejora de la genética ni de la producción. Los pocos productores que se encuentran tienen un solo macho reproductor disminuyendo así las posibilidades de tener diversidad de genes en su rebaño y que su producción sea mínima.

La práctica de la IA nos facilita tener constantemente un mejoramiento genético en la granja de producción, siendo cada vez un método más productivo.

Por medio de la IA con semen congelado diluido y con el TCM 199 como parte del diluyente, se pretende mejorar la viabilidad de los espermatozoides que quedan en la entrada del cérvix, ya que este nos ayuda a mantener la capacidad de fertilización del espermatozoide durante el mayor tiempo posible propiciando un medio satisfactorio. Si los espermatozoides son capaces de mantenerse vivos durante un periodo más largo mientras llegan al ovulo para la fecundación después de la IA los resultados reproductivos serán favorables para realizar un mejor manejo de la reproducción ovina.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Observar el porcentaje de preñez en ovejas por medio de inseminación artificial intravaginal con semen congelado frente al semen congelado diluido y con el TCM 199 como parte del diluyente.

### Objetivos específicos

- Evaluar la viabilidad del semen congelado diluido y con el TCM 199 como parte del diluyente.
- Analizar la función del TCM 199 como parte del diluyente, con el semen congelado para el mejoramiento del porcentaje de preñez en ovejas, al mantener un medio óptimo para que los espermatozoides puedan mantenerse vivos por más tiempo.
- Establecer las ventajas que tiene la inseminación con semen congelado diluido y con el TCM 199 como parte del diluyente, en comparación con el semen congelado sin ningún tipo de diluyente.

## HIPÓTESIS

La inseminación artificial en ovejas es una forma de generar un mejoramiento genético y de producción, pero esta práctica no ha tenido los resultados esperados porque el semen sólo llega hasta la entrada del cérvix, y el porcentaje de preñez no es el esperado.

Por medio de la inseminación con semen congelado con diluyente y con el TCM 199 como parte del diluyente, se pretende mejorara la viabilidad de los espermatozoides que quedan en la entrada el cérvix, ya que este diluyente ayuda a mantener la capacidad de fertilización del espermatozoide durante el mayor tiempo posible propiciando un medio satisfactorio que mantenga su pH normal y lo provea de nutrientes.

Al trabajar con dos grupos de ovejas, uno con semen congelado y el otro con semen congelado con diluyente y con el TCM 199 como parte de este, se demostrará la eficacia del diluyente en el porcentaje de preñez en ovejas en comparación con el método habitual, utilizando ovejas con características similares y con procedimientos iguales para cada uno de los grupos.

Al realizar la inseminación artificial por medio del semen congelado con diluyente y con el TCM 199 como parte del diluyente se espera que haya un aumento considerable en el porcentaje de preñez en comparación con el método habitual.

## MARCO TEÓRICO

### INSEMINACIÓN ARTIFICIAL OVINA

La Inseminación Artificial Ovina (IAO) es un pilar básico en el que se puede apoyar la mejora genética para la difusión entre rebaños de los caracteres sobresalientes de sementales de alto valor genético incrementándose la productividad de la descendencia (Rodríguez, 2004).

La IA cervical es a la fecha la más utilizada, la deposición del semen se realiza dentro de los primeros pliegues cervicales, los cuales son visibles con la ayuda de un espejo y fuente de luz, esta técnica se convierte en tras cervical o intrauterina cuando se logra atravesar por completo el cuerpo de la cervix y depositar el semen intrauterinamente, la técnica implica la sujeción y retracción del cervix por la vagina para permitir la introducción del instrumento inseminatorio en el canal cervical (Hinojosa, 2006).

La IA permite fundamentalmente la rápida y masiva difusión de las características deseables de los reproductores con alto potencial productivo, permite usar carneros viejos o lesionados u ovejas ubicadas en lugares distantes y, además, permite el control de algunas enfermedades de transmisión sexual. La IA con semen congelado tiene la ventaja adicional de poder conservar el semen por largos períodos previo a su uso. El uso de semen congelado en ovinos se inició sistemáticamente en 1972, utilizando esta técnica, llegaron a obtener por primera vez un 5% de fertilidad. A partir de entonces se han realizado numerosos ensayos usando semen congelado para evaluar componentes y concentraciones del diluyente a usar, los tipos de envasado, el método de congelación y descongelación, la técnica de inseminación más efectiva, etc. En el estado actual de

desarrollo de esta técnica se han obtenido resultados muy variables, con fertilidades que oscilan entre 0 a 60%, siendo en general, muy inferiores a los porcentajes de preñez logrados con semen fresco. La baja fertilidad obtenida al usar esta técnica se atribuye a un defectuoso transporte del semen a través del cérvix y a la viabilidad reducida que presentan los espermatozoides en el tracto genital de las ovejas. Adicionalmente, se mencionan como causas de los bajos rendimientos, la mortalidad embrionaria post-inseminación, reacciones inmunológicas en el canal cervical, características de la mucosa al momento de realizar la inseminación, o al estrés a que son sometidas las ovejas durante el proceso de inseminación. La técnica laparoscópica, en la cual el semen se deposita directamente dentro de los cuernos uterinos, es la que ha dado mejores resultados cuando se utiliza semen congelado. Sin embargo, esta técnica es cara y difícil de practicar a gran escala. Se requiere, por lo tanto, desarrollar una técnica intracervical (en la cual el semen se deposita dentro del cérvix mediante una técnica no invasiva) más eficiente, ya que es más económica al utilizar equipos de menor valor, y puede ser realizada por personal técnico adecuadamente capacitado, a una velocidad consistente con el manejo de rebaños de tamaño mediano a grande.

En Chile, la IA en ovinos ha sido utilizada usando semen fresco y semen congelado, tanto por vía laparoscópica como por vía intracervical (Muñoz, et al., 2002).

A diferencia del ganado, en ovejas el pasaje del cérvix es severamente restringido. La talla y la forma del extremo de la os cervical y la naturaleza tortuosa del canal cervical representan la mayor barrera física para usar la inseminación artificial transcervical y la transferencia de embriones en ovejas. Las condiciones anatómicas del cuello uterino no permiten la fácil exploración y desarrollo de la manipulación del equipo de inseminación. El cérvix de la oveja es más largo y más complejo



que el de otros rumiantes; mide aproximadamente 10 cm de longitud con 6 a 7 anillos dirigidos caudalmente (Rodríguez, 2004).

Analizando la fisiología de la reproducción, vemos que el celo en la oveja dura aproximadamente de 24 a 48 hs. En ese tiempo se produce la maduración folicular, presumiblemente de la mitad en adelante del estro, siendo, por lo tanto, el momento indicado para inseminar. En la práctica, es difícil hacer coincidir la siembra con el momento ideal del celo, especialmente, cuando ésta se realiza una sola vez por animal y por día (Inseminación artificial en ovinos).

La vida fértil del semen fresco está estimada entre 30 a 48 horas dentro del tracto reproductivo de la hembra, mientras para el semen congelado está estimado entre 18 a 35 horas; esto está asociado con las tasas de fertilidad poco aceptables realizando inseminación intrauterina con semen congelado y el momento de la inseminación, pues si se realiza antes de que comience la ovulación la capacidad fertilizante del esperma comenzará a declinar que si se insemina en el intermedio del inicio de la ovulación (Rodríguez, 2004).

La IA con semen fresco, es 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 reproducción de alto valor genético. Mediante el fraccionamiento del semen se obtiene un gran número de dosis de inseminación por eyaculado (Comunicación técnica producción animal 2004).

Con el uso de la inseminación artificial se puede incrementar el número de crías por semental al año. Utilizando un sistema de cruce convencional, en un rebaño normal puede ocurrir de 50 a 100 hembras por año. Cuando se utiliza semen fresco diluido, con inseminación cervical, un semental de ovino puede ser utilizado para inseminar más de 1000 hembras en un periodo de 2-3 semanas. Depositando intrauterinamente semen conservado mediante congelación se puede inseminar bastantes ovejas con el semen recogido de un solo semental, en un año. Aunque se tenga en cuenta la baja de fertilidad que se observa, en ocasiones, utilizando inseminación artificial, el número de crías por semental supera con creces al que se obtiene mediante la monta natural (Hinojosa, 2006).

La ventaja fundamental de la inseminación artificial (IA) es la posibilidad de incrementar notoriamente la cantidad de hembras que pueden ser cubiertas con un solo reproductor. En ovinos al utilizar IA con semen fresco es posible que un reproductor pueda cubrir más de 2.000 hembras por mes de trabajo y si se utiliza semen congelado esta cifra puede duplicarse. Desde el punto de vista zootécnico, las ventajas son aún mucho más importantes ya que permite a través del uso de reproductores seleccionados el mejoramiento de la calidad de los productos (lana, carne). También esta técnica puede ser de gran valor para introducir genotipos no existentes a través del uso de semen congelado.

El inconveniente de esta técnica está asociada a la labor y costo extra que se requiere en la sincronización, detección de celos en las ovejas y la utilización de semen congelado, ya que la técnica al utilizar semen fresco o refrigerado, en sí no presenta grandes dificultades (Sepúlveda, 2012).

Según Rodríguez (2004) el problema de la baja fertilidad realizando inseminación tras-cervical puede ser sobrepasado depositando el semen directamente sobre el útero realizando una laparotomía. La laparoscopia ha simplificado este proceso de la inseminación intrauterina generando un proceso menos invasivo sobre los animales.

La fertilidad esperada en ovejas adultas, el porcentaje de preñez mediante la inseminación artificial cervical con semen fresco varía entre el 60% y el 80% según las condiciones de trabajo el estado nutricional de las hembras. En la borregas, este porcentaje puede ser inferior (Comunicación técnica producción animal 2004).

Siempre que se desee realizar programas de inseminación artificial en ovinos debe considerarse la sincronización de celos. Sin ella la utilización de la IA se torna ineficiente. Hoy día los sistemas más comunes de sincronización de celos son los que utilizan hormonas, pero también existe la posibilidad de utilizar el efecto macho para sincronizar celo en ovejas (Sepúlveda, 2012).

Mediante la IA vía cervical, ya sea aplicada sobre celos sincronizados con esponjas intravaginales o mediante la dosis de prostaglandinas, se alcanza una eficiencia aceptable, lo que permite emplear esta técnica, evitando la detección diaria de estros y reduciendo el tiempo de trabajo y de encierro de la majada (Cueto & Gibbons, 2010).

Actualmente se realizan los procedimientos para la inseminación artificial en ovejas de forma quirúrgica (inseminación artificial por laparoscopia o por vía medio ventral laparotomía) estas son

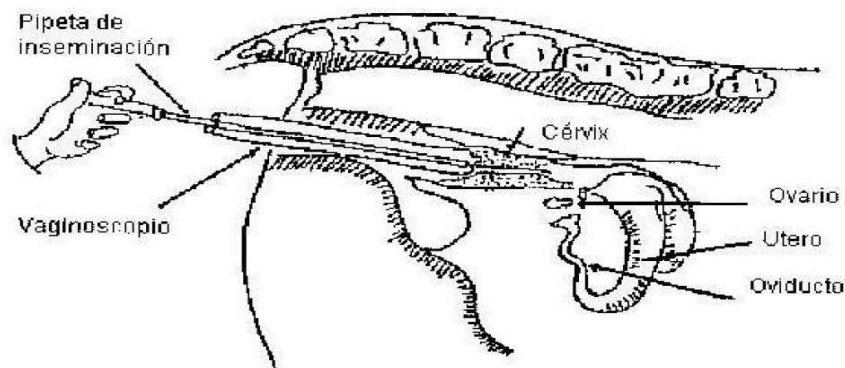
costosas, consume tiempo, requieren de una técnica profesional, limitan el número de veces que puede ser utilizado un animal para estos procedimientos y requieren anestesia (Rodríguez O. 2004). Por esta razón hay que buscar una alternativa diferente como la inseminación tras-cervical, que nos puede ayudar a tener una mayor eficacia en cuanto a la preñez ya además no es necesario manipular demasiado a los animales.

## TIPOS DE INSEMINACION

Inseminación artificial vaginal.

Consiste en el depósito del semen dentro de la vagina sin intento de localizar el cérvix, solamente se introduce la pistola de inseminación a través de la vagina de la oveja. La pipeta se debe introducir con sumo cuidado, lo más lejos posible de la vagina, deslizando su punta por la parte superior de esta, evitándose así su introducción accidental en la uretra, que está en el piso de la vagina. (Aguilar. 2010).

Figura 1. Inseminación artificial vaginal.

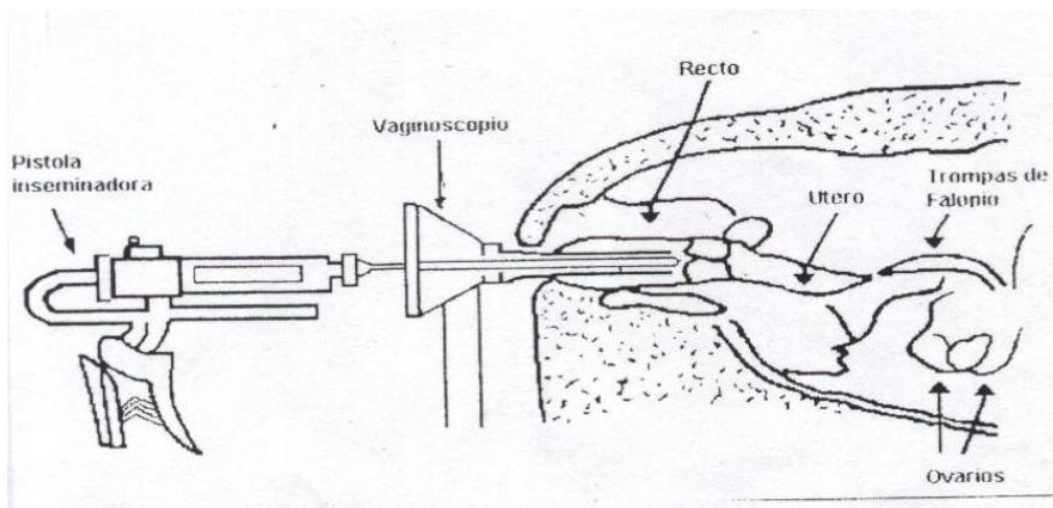


Inseminación artificial por vía vaginal. (Aguilar. 2010).

## Inseminación cervical.

La deposición del semen se realiza dentro de los primeros pliegues cervicales los cuales son visibles con la ayuda de un espejulo con fuente de luz. Es un método barato y relativamente fácil, regularmente utiliza semen fresco, el cual puede o no ser refrigerado. La inseminación puede llevarse a cabo mediante una pistola de inseminación multi-dosis, que permite mediante un embudo dentado, inseminar varias ovejas una vez cargado el semen, así como cargar el volumen de la dosis de la inseminación. Para realizar la inseminación las hembras se presentan inclinadas cabeza abajo, con los cuartos traseros montados sobre una baranda o riel, también podrá sujetarse mediante un brete giratorio situado a la salida de la manda (Aguilar. 2010).

Figura 2. Inseminación cervical.



Inseminación cervical. (Aguilar. 2010).

Inseminación intrauterina por laparotomía.

Inicialmente para depositar el semen directamente en el útero se realizaba una laparotomía medio-ventral. Lo anterior hacía que la técnica solo tuviera uso para propósito de investigación. El método se empezó a asociar con bajos índices de recuperación y sobrevivencia de embriones (Aguilar. 2010).

Inseminación transcervical o intracervical.

Debido a los bajos porcentajes de fertilidad obtenidos por la vía cervical, diversos autores han descrito técnicas de donde se utiliza una pipeta especial de inseminación y un fórceps para atravesar el tortuoso cérvix de la oveja y por último llegar al útero donde se deposita el semen. La técnica es dificultosa y no se llega a penetrar la totalidad de los animales. La técnica consiste en fijar con pinzas uno de los labios de la entrada del cuello uterino y retraerlo hacia la vagina con la finalidad de introducir un dispositivo a través del cérvix (Aguilar. 2010).

Inseminación intrauterina por el método de laparoscopia.

Se deposita el semen en el lumen de los cuernos uterinos, se puede llevar a cabo mediante una laparotomía medio ventral. En general la inseminación intrauterina ha mostrado ser más eficiente que el resto de las técnicas de inseminación, además que se permite hacer uso intensivo de sementales como valor genético (Aguilar. 2010).

## **CONCENTRACION ESPERMATICA**

Hay distintos métodos que permiten la determinación de la concentración espermática, entre ellos recuento en cámara de Neubauer o por fotocolorímetro. Ambos métodos son precisos; si bien el fotocolorímetro permite un recuento más rápido en comparación con la cámara de Neubauer (Cueto. et al., 2013).

El volumen y concentración espermática deben ser estimados antes de su utilización, para realizar una correcta dilución según el volumen y número de espermatozoides totales a inseminar por dosis. El volumen promedio del eyaculado del carnero es de 1ml (0.7 - 3 ml), y su concentración varía entre 2000 – 6000 millones/ml (Cueto. et al., 2013).

## **CICLO ESTRAL**

La actividad reproductiva en los ovinos, es definida como una serie de eventos fisiológicos de periodos diferentes que se presentan constantemente a través del año; es decir, en las ovejas se presenta una época reproductiva caracterizada los ciclos estrales, alternándose con una época de anestro, en la cual existe ausencia de ovulación. El ciclo estral de los ovinos tiene una duración promedio de 17 días. El periodo de receptividad es generalmente de 30 h; sin embargo, puede haber variaciones entre razas, de igual manera el momento de la ovulación ocurre entre las 24 y 27h posteriores al inicio del estro (Gallego. 2015).

El proestro, es un periodo de 2 a 3 días que se caracteriza por un rápido crecimiento folicular y secreción de estrógenos por la estimulación de las hormonas gonadotropicas (LH/FSH). Se incrementan progresivamente los niveles en sangre de  $17\beta$  estradiol ( $17\beta$ E) ejerciendo un mecanismo de retroacción a nivel hipotalámico e hipofisiario, controlando la secreción hormonal, lo cual provoca la descarga preovulatoria de GnRH/LH.

El estro, es un periodo de 24 a 27 h. Su detección en ovejas es difícil y está asociado a cambios en el comportamiento. Coincidiendo con el estro, el folículo preovulatorio alcanza su máximo tamaño y tiene una gran capacidad de síntesis de esteroides. El  $17\beta$ E, es el estrógeno más activo secretado por las células de la granulosa, alcanza al igual que la androstenediona su concentración máxima aproximadamente 24 horas antes del inicio del estro, lo cual, coincide con el incremento en los niveles de LH (retroacción positiva), cuyos pulsos aumenta su frecuencia a partir de la lisis del cuerpo lúteo (CL; luteolisis), y por la retroacción positiva a nivel hipotalámico provocan la descarga preovulatoria de GnRH/LH. Esta descarga aparece pocas horas después del inicio del estro, y es la responsable de la ovulación que ocurre entre veinte y veinticuatro horas después (Gallego. 2015).

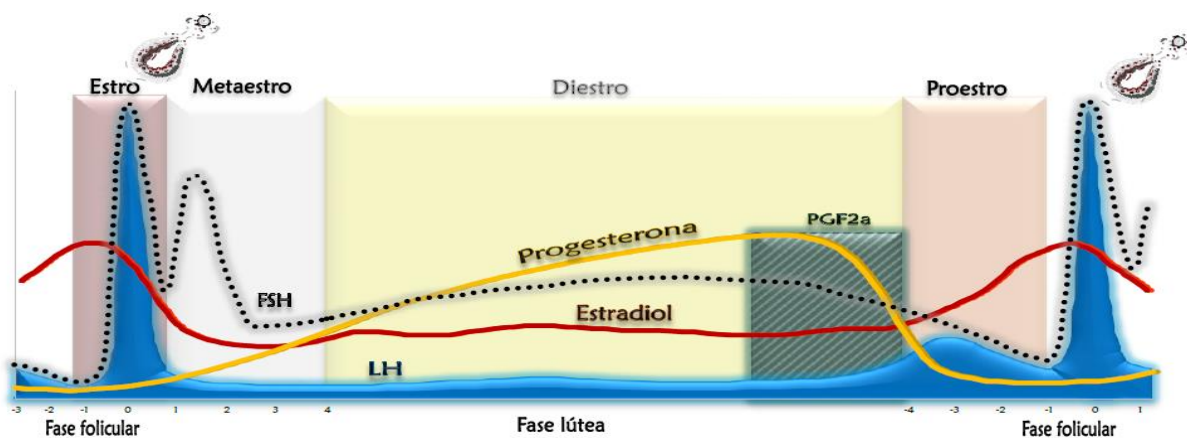
El metaestro, es el periodo de transición entre la ovulación y la formación del CL, en este periodo el ovario inhibe la secreción de estrógeno y se inicia la secreción de progesterona la cual va a dominar el ciclo.

El diestro, en esta etapa, el ciclo estral está dominado por la progesterona. La duración de esta fase, depende de que ocurra o no la gestación. En hembras no gestantes esta fase puede durar entre 13 y 16 días, de no haber gestación, inicia la lisis del CL para dar origen a un nuevo ciclo.



En la fase lútea (metaestro y diestro), el CL secreta progesterona, con la finalidad de mantener una posible gestación y la fase lútea del ciclo estral, inhibiendo una nueva ovulación, al disminuir la frecuencia de secreción de los pulsos de LH. Además, durante esta fase, y por efecto de la FSH, se estimula el desarrollo folicular responsables de producir estrógenos e inhibina. El  $17\beta\text{E}$  y la inhibina provocan un efecto negativo en la secreción de FSH. La secreción de prostaglandina  $\text{F2}\alpha$  ( $\text{PGF2}\alpha$ ) se produce en el endometrio provocando la lisis del CL y es inducida por la oxitocina secretada por el CL, y su secreción es estimulada por los estrógenos. La inhibición de la secreción de progesterona y el incremento del  $17\beta\text{E}$  estimulan la frecuencia de secreción de los pulsos de GnRH, aumentando la frecuencia de secreción de LH hasta un pulso cada hora, induciendo la descarga preovulatoria de LH entre 2 y 6 h después del inicio del estro. Los signos de estro se presentan por un incremento en los niveles de  $17\beta\text{E}$  y ausencia de progesterona. La ovulación dará lugar a un nuevo CL y se repetirá el proceso endocrino anterior, que estimula y controla el crecimiento y la dinámica folicular a nivel ovárico (Gallego. 2015).

Figura 3. Ciclo estral.



Perfiles hormonales (niveles relativos) de las hormonas que participan en el ciclo estral de la oveja y las diferentes fases (Estro, Metaestro, Diestro y Proestro) (Gallego. 2015).

## **SINCRONIZACIÓN**

La sincronización de los estros se realiza por medio de tratamientos con hormonas permitiendo concentrar un alto porcentaje de ovejas en celo pocos días, facilitando los trabajos de inseminación artificial (Comunicación técnica producción animal 2004).

Cuando el estro es sincronizado (inducido), uno de los factores más importantes que limitan los porcentajes de gestación es el apareamiento de las hembras fuera de la estación reproductiva; su repercusión se refleja en la libido de los machos, así como en la cantidad y calidad de la producción seminal, debido al daño que sufren los espermatozoides durante el transporte a través del cérvix, causado por el uso de esponjas intravaginales con progestágenos para sincronizar el estro. Recientemente se ha indicado que los estresores, a través de los componentes hormonales del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal, son capaces de alterar la interacción entre GnRH y síntesis de estradiol, cuya elevación está directamente relacionada con la oleada preovulatoria de LH y la ovulación (Córdova, et al., 2008).

La progesterona (FGA (acetato de fluorogestona) y MAP (acetato de medroxiprogesterona)) es la hormona más utilizada en protocolos de sincronización de celos en ovinos y caprinos. Entre alguno de los productos que se encuentran en el mercado son Prostal y Estrumate.

Los tratamientos desarrollados a partir de los primeros trabajos de T. J. Robinson en la década de los '60, consisten en 12- 14 días de exposición a progestágenos (progesterona y sus análogos) y

una dosis de 250 a 400 UI de eCG (gonadotrofina coriónica equina) al finalizar el tratamiento. Posteriormente se ha demostrado que estos tratamientos de 12-14 días predisponen a una baja concentración del progestágeno al final del tratamiento y que este hecho estaría afectando la fertilidad finalmente obtenida. El efecto perjudicial de los bajos niveles de progesterona en sangre sobre la fertilidad es debido a dos principales causas: a) una alteración sobre el transporte espermático y b) una alteración en el desarrollo folicular y la calidad del ovocito. En los últimos años se han propuesto tratamientos alternativos de corta duración que consisten en sólo 5-7 días de exposición a la progesterona (Tratamientos Cortos) asociado a una dosis de eCG. El objetivo central ha sido evitar concentraciones de progesterona subluteales por periodos prolongados y por el contrario asegurar niveles adecuados que nos permitan la ovulación de ovocitos fértiles. Estos tratamientos fueron evaluados en ovinos y caprinos, durante el anestro estacional y la estación reproductiva, asociados a monta natural e inseminación a celo detectado. Durante la estación reproductiva se administra una dosis de  $PGF2\alpha$  al momento de iniciar el tratamiento en caprinos y en ovinos la respuesta estral es superior cuando la  $PGF2\alpha$  se administra al retirar el dispositivo (datos no publicados).

Las esponjas intravaginales con progestágenos simulan la acción de un cuerpo lúteo mediante la liberación lenta de progesterona. Se colocan en la vagina por 12-14 días, período de tiempo que iguala o excede el tiempo de vida media del cuerpo lúteo (Cueto & Gibbons, 2010).

Durante la época reproductiva, la aplicación de PMSG (Gonadotropina de Suero de Yegua Preñada) o eCG (Gonadotropina Coriónica equina) al finalizar el tratamiento con progestágenos, favorece la ovulación sincronizada y permite realizar una IATF. Durante el *anestro estacional*, el empleo de las gonadotropinas induce la presentación de los estros y las ovulaciones, siendo necesaria su aplicación. Las dosis utilizadas de PMSG varían entre 200 y 400 UI, dependiendo fundamentalmente del peso corporal, de la raza y de la época del año, aconsejándose probar en principio las dosis menores

Dosis elevadas de PMSG ocasionan ovulaciones y gestaciones múltiples, pudiendo generar pérdidas de animales por toxemia de la preñez y mortalidad perinatal. Asimismo, los mayores niveles hormonales de PMSG producirían una alteración en la maduración del ovocito, que reduciría los porcentajes de preñez. Nosotros hemos obtenido tasas de fertilidad del 51 y 37% al realizar la IA con semen congelado luego de un tratamiento hormonal con progestágenos y con 200 o 300 UI de PMSG, respectivamente (Cueto & Gibbons, 2010).

El uso de protocolos con  $\text{PGF2}\alpha$  no había representado una alternativa eficaz para realizar IA en rumiantes debido a la dispersión en el inicio del celo y la ovulación. Recientemente se ha propuesto un nuevo protocolo para IA en ovinos mediante el uso de  $\text{PGF2}\alpha$ . El mismo surge a partir de nuevos conceptos en el control del cuerpo lúteo y el efecto que esto tiene sobre la dinámica folicular. Cuando aplicamos una dosis de  $\text{PGF2}\alpha$  sin conocer el momento del ciclo de la majada, una alta proporción de hembras ovulan entre los 2 a 4 días luego del tratamiento. Esta dispersión en el momento de la ovulación está determinada por la variabilidad del estatus folicular al

administrar la  $\text{PGF2}\alpha$ . Al momento de la ovulación ocurre la emergencia de la Onda 1 del próximo ciclo, en este caso 2 a 4 días de administrar la  $\text{PGF2}\alpha$ . A partir de entonces el folículo de mayor diámetro de la Onda 1 mantiene su desarrollo por unos 5 días. Si administramos una segunda dosis de  $\text{PGF2}\alpha$  en este momento – por ej. a los 7 días de la primera dosis - obtendremos una alta proporción de ovejas con un folículo grande y en fase de crecimiento resultando en un alto grado de sincronización de la ovulación (VII simposio internacional de reproducción animal 2007).

Los métodos farmacológicos se pueden dividir en dos tipos, basados en los diferentes principios fisiológicos. El primer tipo se basa en la administración de progestágenos sintéticos, para estimular la acción del cuerpo lúteo natural. El segundo tipo se basa en la administración de prostaglandina- $\text{F2}\alpha$  o prostaglandina sintética, para acortar la duración del cuerpo lúteo. Como este método de la prostaglandina depende de la presencia de un cuerpo lúteo, solo se puede utilizar en la época reproductora; sin embargo, el de los progestágenos se puede usar en cualquier época del año (Hinojosa, 2006).

## **DILUYENTES**

El diluyente es un agente que sirve para diluir sustancias que no son solubles en agua. Las propiedades que debe tener un diluyente para semen es ser isotónico con respecto al semen, tener capacidad buffer, proteger a los espermatozoides durante el enfriamiento desde temperatura corporal a  $5^{\circ}\text{C}$ , proveer una adecuada combinación de nutrientes para los espermatozoides y estar libre de microorganismos infecciosos.

La yema de huevo tiene propiedades protectoras durante el enfriamiento y la congelación del semen, además se proteger a los espermatozoides de condiciones ambientales desfavorables, con el choque de frío y mantener vivos a los espermatozoides.

#### ANDROMED ®

Es un concentrado estéril que se usa para la preparación de un diluyente libre de yema de huevo para eyaculados. Es apropiado para la congelación de semen y para la conservación de semen en fresco. Contiene fosfolípidos, TRIS, ácido cítrico, azúcares, antioxidantes, tampones, glicerina, agua de altísima pureza y antibióticos

Para la preparación se requiere añadir sólo 800 ml de agua destilada al contenido de 200 ml de un frasco de Andromed ®. La microscopía es más eficiente ya que es un medio altamente transparente que entrega imágenes de semen extremadamente claras bajo el microscopio. Los eyaculados de calidad cuestionable pueden ser detectados y evaluados fácilmente, en base a un estándar de selección definido. La eficiencia es alta dentro de las concentraciones estándar de dosis: la tasa de dilución de los eyaculados puede variarse en gran medida, manteniendo resultados sobresalientes.

Para lograr las propiedades óptimas de conservación, la cantidad requerida de agua debe agregarse al concentrado y no viceversa. El diluyente preparado debe temperarse antes de su uso en un baño-maría entre +30°C y +32°C. Inmediatamente tras su llegada al laboratorio, el eyaculado debe ser evaluado (concentración, motilidad) y entonces pre diluido 1+1. El eyaculado debiera mantenerse

en el baño-maría entre +30°C y +32°C. Al momento de la dilución, el diluyente debe tener la misma temperatura que el eyaculado (+/-1°C). El semen no debiera permanecer en el baño-maría por más de 10 minutos. Una vez evaluado debe efectuarse la dilución final. El eyaculado ha alcanzado hasta entonces la temperatura de laboratorio (+20°C a +23°C), y a esa temperatura es envasado en pajillas. En forma alternativa, este diluyente puede utilizarse para el envasado de las pajillas a +5°C. Para ello, el semen diluido debe ser equilibrado por al menos 2 a 3 horas a +5°C.

### TRILADYL®

Es un concentrado estéril para la preparación de un diluyente con yema de huevo para la congelación de semen bovino en un solo paso.

La composición es: TRIS, ácido cítrico, azúcar, tampones, glicerina, antibióticos, agua de extrema pureza, 100 ml del diluyente preparado contienen (unidades activas) Tilosina 5,7 mg, Gentamicina 28,6 mg, Espectinomicina 34,3 mg y Lincomicina 17,2 mg.

Para la preparación del diluyente se requiere de Triladyl ® concentrado, agua pura estéril, yema de huevo fresca, probeta graduada estéril o matraz de Erlenmeyer, papel filtro estéril, filtro-embudos estériles. El diluyente listo se compone de una parte de concentrado de Triladyl ®, tres partes de agua pura estéril y de una parte de yema de huevo, lo que equivale al 20% de su volumen final. La solución madre se prepara vertiendo primero un frasco completo de concentrado de Triladyl ® (250 g) en un matraz graduado, y agregando en varios pasos 750 ml de agua pura estéril. Esta solución madre es estable y puede mantenerse a +5°C por alrededor de una semana.

Para completar el diluyente, deben agregarse a la solución madre 250 ml de yema de huevo fresca. Es posible pesar 250 g de yema de huevo, por cuánto el volumen y peso son equivalentes. Una vez calculada la dilución final, el semen pre diluido es vertido a un envase temperado agregando el volumen de diluyente aún requerido. Después de la pre dilución, el semen puede ser retirado del baño maría, continuando el procesamiento a temperatura ambiente de laboratorio. (Minitüb GmbH. Manual).

#### 1.4.3 CONTINENTAL®

Está compuesto por tris, ácido cítrico, fructosa, glicerol y agua estéril des ionizada por osmosis reversa. Se adiciona la solución de Continental One Step® necesaria para la dosis de semen calculadas, siempre realizando una pre dilución 1:1 procurando siempre que la temperatura del semen y el diluyente fuese similar a fin de evitar el choque térmico, se envasan en pajillas de 0.5 ml utilizando una concentración de  $30 \times 10^6$  espermatozoides/pajilla, se sella y se deja enfriar y equilibrar por cuatro horas a  $+4 \text{ }^\circ\text{C}$  ( $+39.2 \text{ }^\circ\text{F}$ ), tiempo al cual, se deposita en las parrillas y se coloca en vapores de nitrógeno durante 10 minutos a cuatro centímetros de altura sobre el nivel del nitrógeno. Al cabo de los 10 minutos se agrupan en los goblets de a cinco pajillas por goblets y dos goblets por escalerilla y depositadas directamente en el termo con nitrógeno líquido (Núñez & Rubio, 2015).

#### NOVORMON ®

Dada su acción dual FSH/LH la eCG o PMSG (Novormon®) actúa estimulando en forma directa el desarrollo folicular y la ovulación en la mayoría 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 con lo cual 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.

#### TCM 199

Muchos medios de cultivo de tejidos temprano fueron formulados predominantemente para productos de origen animal o tejido. En 1950, Morgan y sus trabajadores, informó de sus esfuerzos para producir una fuente nutricional totalmente definido para cultivos celulares. Su experimento, llevado a cabo con varias combinaciones de vitaminas, aminoácidos y otros factores reveló que los tejidos crecen y podrían medirse en lo que se conoce como medio 199. El medio 199 tiene aplicabilidad amplia en las especies, particularmente para el cultivo de células no transformadas.

El medio de maduración TCM-199 (por sus siglas en inglés: *Tissue culture medium*), es un medio complejo que utiliza como *Buffer* al bicarbonato o a HEPES y es comúnmente suplementado con diferentes tipos de sueros, y/o hormonas (gonadotropinas y/o esteroides) (Gordon, 2003).

La reacción acrosómica para los espermatozoides en el medio TCM-199 está retrasada en el tiempo y no alcanza valores importantes hasta los 90-120 minutos de cultivo cuando esos valores son alcanzados en 60 minutos en los espermatozoides cultivados en medio TALP, como puede observarse al estudiar la proporción de espermatozoides vivos con reacción acrosómica.

Un factor a tener en cuenta es la compleja composición del medio TCM-199, que incluye una amplia variedad de aminoácidos, lípidos y vitaminas. Estos componentes podrían modular la biodisponibilidad de calcio. Del mismo modo, la albúmina sérica bovina adicionada a los medios puede ejercer un efecto directo sobre la membrana espermática, como la fijación del colesterol presente en la membrana modificando cambios en la arquitectura de la misma.

Al analizar el efecto de la dosis de inseminación sobre la eficiencia de preñez en la inseminación artificial con semen congelado con semen refrigerado durante el periodo de preservación de 12 horas, se observó que, mediante el empleo de la dosis seminal de 300 millones de espermatozoides, fue posible obtener una preñez aceptable (38%), al considerar el beneficio de poder transportar semen a largas distancias de bajo costo operativo para su implementación. Sin embargo, al reducir la dosis de inseminación a 150 millones de espermatozoides, se logró una menor eficiencia de preñez del 25%, la cual constituye un valor superior al 10.6%. La diferencia de preñez observada podría deberse a una mejor conservación de la capacidad fecundante del semen diluido en el diluyente comercial utilizado (Naim et al., 2009).

Durante las dos últimas décadas la comunidad global ha experimentado una creciente preocupación por el medioambiente y su impacto en el desarrollo local, regional y nacional. En el área de la producción animal los estudios ambientales se han centrado particularmente en la contaminación que estos generan al medioambiente, en especial aquellos que congregan cientos a miles de animales en superficies reducidas. Sin embargo, esta es tan solo una de las aristas de la compleja interacción animal-medioambiente. La temperatura ambiental es probablemente la variable más investigada y al mismo tiempo la más utilizada como indicador de estrés. Durante periodos de condiciones climáticas adversas se han reportado variaciones en el consumo de alimento, reducciones en las ganancias de peso y en casos más extremos la muerte del ganado (Arias, et al., 2008).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### LOCALIZACIÓN

El trabajo experimental se realizó en la finca CRIADERO LA FRONTERA ubicada en Tenjo, Cundinamarca ubicado en la Provincia de Sabana Centro a 37 km de Bogotá.

Extensión total: 108 Km<sup>2</sup>

Extensión área urbana: 2 Km<sup>2</sup>

Extensión área rural: 106 Km<sup>2</sup>

Altitud de la cabecera municipal (metros sobre el nivel del mar): 2587

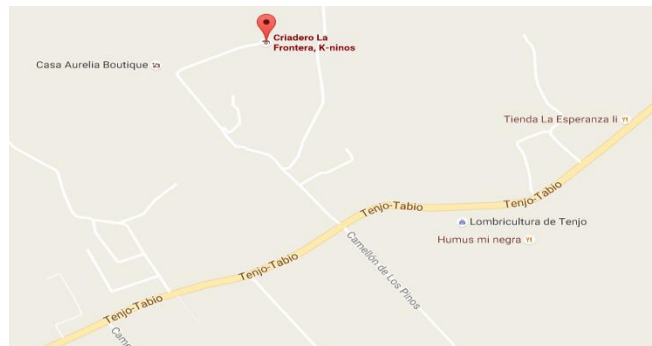
Temperatura media: 13° C

Figura 4. Logo.



La Frontera

Figura 5. Mapa.



Mapa Criadero la Frontera

### POBLACIÓN

Se trabajó con dos grupos de ovejas cruce entre criollas y Katahdin, cada una de 15 ovejas, para un total de 30 ovejas.

Las ovejas se encontraban entre los 10 meses y los 2 años, se alimentaban de pasto traído desde Bogotá, porque en la finca la temporada de sequía tenía los pastizales secos y les proporcionaban

concentrado, las comidas se daban por la mañana y por la tarde. En el día las ovejas se encontraban en potrero y en la noche y en las horas de comida se colocaban en pesebreras que se encontraban levantadas del piso y con techos de plástico.

Quince (15) ovejas se inseminaron por vía intravaginal con semen congelado y las otras quince (15) se inseminaron por vía intravaginal con semen congelado con diluyente y con el TCM 199 como parte del diluyente.

## **PROCEDIMIENTO**

Se utilizaron pajillas de un mismo donante para los dos grupos con el fin de obtener resultados más confiables. El donante fue un macho Katahdin que se le realizó la colecta de semen por medio de electro eyaculador, la colecta se realizó 24 horas antes de la inseminación.

Varias semanas antes de comenzar el programa de inseminación artificial se realizó un chequeo al estado de las hembras y su preparación para la inseminación por medio de ecografía tras - rectal. Se tuvo en cuenta que las ovejas no hubiesen tenido contacto con el semental y que los corderos tengan la edad apta para la montar. Si las ovejas están expuestas al macho es necesario separarlas mínimo 45 días antes de empezar la sincronización.

La inseminación artificial sólo tendrá éxito si se detecta correctamente el estro en las hembras, por esto es importante realizar la sincronización de las hembras para tener un mayor éxito en el momento de la inseminación.

Para la sincronización se realizó ecografía de las ovejas el día 0, en donde se determinaron qué ovejas eran aptas para realizar la inseminación, de donde salieron 30 ovejas a las cuales se les colocó la esponja intra vaginal que previamente había sido sumergida en Oxitetraciclina, luego el día 1 se le colocó Prostal ® (Cloprostenol) 1 ml IM., el día 2 se retiraron las esponjas y se les colocó 1.5 ml IM. de Novormon ® (Gonadotrofina Coriónica Equina) y el día 3 se realizó la inseminación.

El semen se preparó en un diluyente que contenía: Triladyl® concentrado, agua pura estéril, yema de huevo fresca, probeta graduada estéril o matraz de Erlenmeyer, papel filtro estéril, filtro-embudos estériles.

El semen se diluye en este medio y a la mitad de la dilución se le agrega el TCM 199, para así poder hacer y congelar las pajillas y tenerlas listas para la inseminación artificial.

La técnica de congelamiento del semen posibilita el mejor aprovechamiento y difusión de los genes, al tiempo que permite su conservación en nitrógeno líquido (a  $-196^{\circ}\text{C}$ ) por un tiempo ilimitado.

La descongelación del seme se realiza en baño de maría a  $37^{\circ}\text{C}$ .

- Se sacaron 0.5 ml de semen congelado y 0.5 ml de semen congelado con el TCM 199 como parte del diluyente.

Para la inseminación las ovejas se montaron en un cabestrillo en donde las patas traseras quedaban levantadas, facilitando la manipulación de los animales. Se les puso un especulo para poder visualizar la entrada del cérvix y así poder ubicar correctamente la punta de la pistola de inseminación y poder depositar el semen.

## MATERIALES

Los materiales que se usaron para la inseminación fueron:

- Espéculos vaginales de tipo pico de pato
- Fuente de luz
- Pistola de inseminación con vainas desechables
- Toallas desechables
- Alcohol
- 15 pajillas con semen congelado
- 15 pajillas con semen congelado diluido y con el TCM 199 como parte del diluyente.

Figura 6. Inseminación



Cabestrillos e inseminación tras vaginal. (González. 2016).

Figura 7. Materiales.



Materiales para inseminación (Gonzalez P. 2016).



## MÉTODO

Tabla 1

Inseminaron aleatoriamente.

<b>Semen Congelado</b>	<b>Semen Congelado Diluido Con TCM 199 como parte del diluyente</b>
2003	2009
2010	2024
2008	2011
2005	2012
2002	2004
2015	Blanca NN
2025	2039
2007	2006
2013	2016
2014	2017
2018	2020
2019	2022
2026	2028
2027	2032
2029	2034

Grupos de inseminación (Gonzalez P. y Martínez J.A. 2016)

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se utilizó el test exacto de Fisher que es una prueba de significación estadística utilizada en el análisis de tablas de contingencia, que se emplea cuando los tamaños de muestra son pequeños. Es una de una clase de pruebas exactas, llamadas así porque el significado de la desviación de la hipótesis nula se puede calcular con exactitud, en lugar de basarse en una aproximación que se hace exactamente en el límite el tamaño de la muestra crece hasta el infinito, como con muchos otros análisis estadísticos.

Tabla 2

Test exacto de Fisher (Pértega S. y Fernández S. 2004).

<b>Característica A</b>			
<b>Característica B</b>	Presente	Ausente	Total
Presente	a	b	a + b
Ausente	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	n

La probabilidad exacta de observar un conjunto concreto de frecuencias a, b, c y d en una tabla 2 x 2 cuando se asume independencia y los totales de filas y columnas se consideran fijos viene dada por la distribución hipergeométrica:

Figura 8. Formula del test exacto de Fisher (Pértega S. y Fernández S. 2004).

$$p = \frac{(a+b)!(c+d)!(a+c)!(b+d)!}{n!a!b!c!d!}$$

Esta fórmula se obtiene calculando todas las posibles formas en las que podemos disponer n sujetos en una tabla 2 x 2 de modo que los totales de filas y columnas sean siempre los mismos, (a+b), (c+d), (a+c) y (b+d).

La probabilidad anterior deberá calcularse para todas las tablas de contingencia que puedan formarse con los mismos totales marginales que la tabla observada. Posteriormente, estas probabilidades se usan para calcular valor de la p asociado al test exacto de Fisher. Este valor de p indicará la probabilidad de obtener una diferencia entre los grupos mayor o igual a la observada, bajo la hipótesis nula de independencia. Si esta probabilidad es pequeña ( $p < 0.05$ ) se deberá rechazar la hipótesis de partida y deberemos asumir que las dos variables no son independientes, sino que están asociadas. En caso contrario, se dirá que no existe evidencia estadística de asociación entre ambas variables (Pértega S. y Fernández S. 2004).

## RESULTADOS

Los resultados se obtuvieron por medio de ecografía que se realizó a los 54 días después de la inseminación. Los resultados fueron:

Tabla 3

# OVEJA	PREÑADA	VACIA	MUERTA
2002		X	
2003			X
2005		X	
2007		X	
2008		X	
2010			X
2013		X	
2014	X		
2015		X	
2018			X

Tabla 4

Grupo de ovejas con semen congelado

Grupo de ovejas con semen congelado.

diluido y con el TCM 199 como parte del diluyente.

# OVEJA	PREÑADA	VACIA	MUERTA
2004		X	
2006		X	
2009			X
2011		X	
2012		X	
2016	X		
2017		X	
2020			X
2022			X
2024	X		

2019		X		2028		X	
2025	X			2032	X		
2026		X		2034		X	
2027			X	2039		X	
2029		X		BLAN CA NN	X		
TOTA L	2	9	4	TOTA L	4	8	3

Para realizar el análisis estadístico utilizamos la prueba exacta de Fisher, porque los dos grupos no tienen la misma cantidad de animales vivos. Se calculó con un grupo de 11 animales (Grupo de ovejas con semen congelado) y el otro de 12 animales (Grupo de ovejas con semen congelado diluido y con el TCM 199 como parte del diluyente).

Tabla 5: Prueba de Fisher con los resultados reales.

	Semen		
	Congelado	TCM 199	Total
Preñada	2	4	6
Sin Preñar	9	8	17
Total	11	12	23

Probabilidad 0,270

Tabla 6 Prueba de Fisher con valores aleatorios.

	Semen		Total	Probabilidad
	Congelado	Experimento		
Preñada	0	6	6	0,009
Sin Preñar	11	6	17	
Total	11	12	23	

Tabla 7 Prueba de Fisher con valores aleatorios.

	Semen		Total	Probabilidad
	Congelado	Experimento		
Preñada	1	5	6	0,086
Sin Preñar	10	7	17	
Total	11	12	23	

Tabla 8 Prueba de Fisher con valores aleatorios.

	Semen		Total	Probabilidad
	Congelado	Experimento		
Preñada	2	4	6	0,270
Sin Preñar	9	8	17	
Total	11	12	23	

Tabla 9 Prueba de Fisher con valores aleatorios.

		Semen		
		Congelado	Experimento	Total
Preñada	3	3	6	Probabilidad 0,360
Sin Preñar	8	9	17	
Total	11	12	23	

Tabla 10 Prueba de Fisher con valores aleatorios.

		Semen		
		Congelado	Experimento	Total
Preñada	4	2	6	Probabilidad 0,216
Sin Preñar	7	10	17	
Total	11	12	23	

Tabla 11 Prueba de Fisher con valores aleatorios.

		Semen		
		Congelado	Experimento	Total
Preñada	5	1	6	Probabilidad 0,055
Sin Preñar	6	11	17	
Total	11	12	23	

Tabla 12 Prueba de Fisher con valores aleatorios.

	Semen		Total	Probabilidad 0,005
	Congelado	Experimento		
Preñada	6	0	6	
Sin Preñar	5	12	17	
Total	11	12	23	

Se quería comprobar cuando la proporción de ovejas del grupo TCM 199 que están preñadas es mayor al del grupo semen congelado y la probabilidad que nos dio fue de 0.365.



## DISCUSIÓN

La inseminación artificial en las ovejas no es un método muy común y no es muy utilizado para la reproducción ovina, el porcentaje de preñez que fue evaluado se dividió en dos grupos uno en el cual se usó semen congelado y en el otro semen congelado y con el TCM 199 como parte del diluyente.

La inseminación se realizó en el mes de febrero, después de realizar la ecografía y realizar la sincronización de las ovejas. La temperatura que encontramos en los meses posteriores a la inseminación fue de 23°C promedio, siendo esta una temperatura alta, generando estrés calórico, lo que afectó en los resultados obtenidos en el estudio.

En el grupo de ovejas que solo estuvieron con semen congelado encontramos 2 ovejas preñadas, 9 ovejas vacías y 4 ovejas muertas. El número de animales que murieron fue una variable que no teníamos en cuenta en ninguno de los dos grupos y que terminó siendo una variable importante para los resultados obtenidos.

Al realizar el análisis de los valores obtenidos por medio del análisis estadístico de la prueba exacta de Fisher, encontramos que la probabilidad fue de 0.365 siendo un resultado que se encuentra por encima de 0.005 que es el nivel de significancia con el que podríamos rechazar la hipótesis nula, por esto no se puede demostrar que exista un cambio significativo entre el grupo de ovejas con

semen congelado y el grupo con el TCM 199 como parte del diluyente, en cuanto al número de ovejas preñadas.

47

Una de las grandes variables que pudimos encontrar fue la muerte de los animales en los dos grupos. Esta variable se presentó por factores externos que fue el aumento de la temperatura y la falta de alimento.

La falta de alimento y el golpe de calor no solo nos puede generar la muerte de los animales, haciendo que exista una disminución en la condición corporal en la que deberían encontrarse para poder mantener una preñez. Los autores no muestran como la falta de alimento y el clima extremo puede afectar en los resultados de la inseminación artificial, pudimos observar que en nuestro estudio fue un factor que altero los resultados.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados no fueron los esperados ya que no se encontró ninguna diferencia significativa entre el grupo con semen congelado en comparación con el grupo de semen congelado diluido con el TCM 199 como parte del diluyente.

De acuerdo con los resultados obtenidos se determinó que los grupos experimentales son muy pequeños y sería recomendable realizar el estudio en un grupo de animales más grande.

Es importante tener en cuenta que si se logra obtener un mejor resultado con un grupo de animales más grande se tendría una mejoría genética y un posible aumento en el número de animales ya que no se tendría en cuenta solo el macho o los machos que se encuentran en la finca.

Se observó que los factores externos, como el clima, son variables que afectan los resultados ya que en la época en la que se desarrolló el proyecto la temperatura era demasiado alta y en la finca no se encontraba el suficiente alimento para todos los animales (los dueños de la finca fueron los que nos informaron sobre la falta de alimento por la época seca). Nos queda la duda si alguno de los animales que murieron pudiera o no estar preñado.

Se recomienda realizar el estudio en una época del año en donde la temporada seca no sea un factor que pueda alterar los valores reales.

## REFERENCIAS

Aguilar Z. (2010). Sincronización de celo e inseminación artificial en ovinos. Universidad autónoma agraria Antonio Narro, división de ciencia animal. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Ahumada C. (2009). Efecto de diferentes factores de crecimiento en el medio de cultivo sobre el desarrollo y la calidad de embriones de bovinos producidos in vitro en grupos reducidos (tesis de Master). Master interuniversitario en mejora genética animal y biotecnología de la reproducción. Universidad politécnica de valencia. España.

Alabart J., Andueza D., Castaño R., Delgado I., Echegoyen E., Fantova E., Feliz de Vargas V, Folch J., Garitano I., Jurado J.J., Langa E., Martí J.I., Muñoz F., Pardos L., Roche A., Sánchez P. (2007). Producción de ovino de Carne en medio Semiárido. Grupo consolidado de investigación aplicada sobre mejora de la producción ovina. TE-115. Gobierno de Aragón.

Alcalde M., Álvarez R., Villalba A., (2013). XXXVIII congreso nacional y XIV internacional de la sociedad española de ovinotecnia y caprinotecnia. España.

Amaya A.; Rodríguez C. (2007). Congelación de semen e inseminación artificial en ovinos. Tesis de Grado. Universidad de la Salle. Facultad de Medicina Veterinaria. Bogotá. Colombia.

50

Ambrosio A. (2012). Por qué criar ovejas. Una alternativa para los ganaderos. Asoovinos, Colombia. Recuperado de [http://www.asoovinos.org/archivos/articulos\\_tecnicos/porque\\_criar\\_ovejas.pdf](http://www.asoovinos.org/archivos/articulos_tecnicos/porque_criar_ovejas.pdf)

Arias RA., Mader TL., Escobar PC. (2008). Factores climáticos que afectan el desempeño productivo del ganado bovino de carne y leche. Vol. 4 n.1. Escuela de Agronomía, Facultad de Recursos Naturales, Universidad Católica de Temuco, Chile.

Barrios M. (2007). Guía práctica de ovicultura. Empresa del sector Agropecuario y Ambiental. BACOM Ltda. – Rancho de la Oveja. Bogotá Colombia.

Bedolla C. (2011). Técnica de inseminación artificial en ovinos. Monografías. Prensa. Recuperado de <http://www.monografias.com/trabajos44/inseminacion-ovinos/inseminacion-ovinos.shtml>

Beltran I., Arrese F., Mintegi L., Ugarte E. (2006). Inseminación artificial en ganado ovino. Ereiten. Suplemento de divulgación técnico-científica. España.

Castellanos J., Rodríguez J., Toro W., Luengas C. (2010). Agenda prospectiva de investigación y desarrollo tecnológico para la cadena productiva cárnica ovino-caprina en Colombia. Ministerio de agricultura y desarrollo rural. 7313-CO. Bogotá D.C. Colombia.

Cevallos P. (2012). Implementación de las técnicas de inseminación artificial laparoscópica y transcervical con semen fresco y congelado en ovinos de la hacienda “agrícola pura vida” ubicada en la provincia de Santa Elena”. Informe del proyecto de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de ingeniero agropecuario. Sangolqui, Ecuador.

Christie V. (2008). Manejo de inseminación artificial intra-cervical con semen fresco en ovinos de la región de Magallanes. Título de ingeniero agropecuario. Universidad de Magallanes, facultad de ciencias, ESC. CS. Y TEC. EN REC AGRIC Y ACUIC. Punta Arenas, Chile.

Comunicación técnica producción animal (2004). Jornadas de inseminación artificial con semen fresco en ovinos. Proyecto regional de mejoramiento genético ovino – caprino. Comunicación técnica producción animal 443. INTA Bariloche – grupo de reproducción.

Córdova A., Córdova M., Guerra J. (2008). Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras. Departamento de Producción Agrícola y Animal. *Rev. vet. 19: 1, 67–79*. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochim.

Coronel O. (2007). Manual para el manejo del ganado ovino. Inictel-Uni. Lacabamba, Perú. Recuperado de <http://infolactea.com/wp-content/uploads/2015/03/423.pdf>

Cueto M., Gibbons A. (2010). Conservación seminal e inseminación artificial en ovinos. Sitio Argentino de Producción Animal. *Actualización en Producción Ovina*. Memorias VIII Curso de Actualización en Producción Ovina. San Carlos de Bariloche Argentina.

52

Cueto M., Gibbons A.; García J.; Wolf M.; Arrigo J. (2013). Obtención, procesamiento y conservación del semen. Grupo de reproducción – INTA. San Carlos de Bariloche Argentina.

Figueredo L.; Iser del Toror M. (2005). Ovinos. Una producción de bajo insumo. REDVET. Revista electrónica de veterinaria, vol. VI. Núm. 9. Veterinaria organización. España.

Galora A. (2006). Sincronización de celo con el método Ov.Synch (GnRH mas prostaglandinas) e inseminación artificial con semen diluido en ovejas criollas en l unidad ovina-caprina de la FCP. Escuela superior politécnica de Chimborazo. Tesis ingeniero zootecnista. Facultad de ciencias pecuarias. Escuela de ingeniería zootécnica. Riobamba, Ecuador.

Gallego J. 2015. Manejo productivo del rebaño. 1 congreso internacional del borrego. 2 simposio nacional de la cabra. Pachuca, México.

Gardón J., Gadea J. (2003). Efecto del medio de fecundación in vitro sobre el patrón de reacción acrosómica en el espermatozoide bovino An Vet 17. Murcia, España.

Gibbons A., Cueto M. Manual de inseminación artificial en la especie ovina. Reproducción y genética. Instituto nacional de tecnología agropecuaria. Estación experimental agropecuaria

Bariloche. Centro regional Patagonia norte. Argentina. Recuperado de [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_caprina/inseminacion\\_transferencia\\_caprino/03-ia\\_cabras.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_caprina/inseminacion_transferencia_caprino/03-ia_cabras.pdf)

53

Gobierno de Aragón.- Grupo Consolidado de investigación Aplicada: *Mejora de la Producción Ovina. Aragón, España.*(2015). Recuperado de <http://www.oviespana.com/informacion-de-ovino/servicio-diario-de-noticias/noticias/el-grupo-mejora-de-la-produccion-ovina-de-aragon-hace-balance-de-sus-actividades>

Hinojosa G. (2006). Técnicas de inseminación artificial en ovinos. Universidad de Michoacán de San Nicolás de Hidalgo, facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Monografía. Morelia, Michoacán. Inseminación artificial en ovinos. Apuntes de inseminación artificial en ovinos.

Librado H. (2008). Inseminación artificial transcervical en ovinos, una herramienta para el mejoramiento genético. Universidad de Michoacán de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Morelia, Michoacán.

Minitüb GmbH. Manual recuperado de <http://www.perulactea.com/wp-content/uploads/2012/09/DILUYENTE-DE-SEMEN-BOVINO-TRILADYL.pdf>.

Mora J. (2010). Protocolo a seguir para la inseminación artificial en ovejas. Universidad autónoma del estado de México. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia. Gobierno del estado de México. Secretaría de desarrollo agropecuario. Asociación ganadera local especializada de ovinocultores del valle de Toluca. México.



Muñoz C., Parraguez V., Latorre E. (2002). Efecto del tiempo de inseminación artificial después de la detección de celo sobre la tasa de preñez en ovinos corriedale. Capítulo 2, modulo 2. Chile.

54

Naim P., Cueto M., Gibbons A. (2009). Inseminación artificial a tiempo fijo con semen ovino refrigerado. Instituto nacional de tecnología agropecuaria. Vol. 58 No. 223. Bariloche Argentina.

Nuñez A.; Rubio A.;(2015). Escuela agrícola panamericana. No 3. Zamora, Honduras.

Parraguez V., Blank O., Muñoz C., Latorre E. (2000). Inseminacion artificial en ovinos. Facultad de ciencias veterinarias y pecuarias Universidad de Chile. Monografías de medicina vetrinaria. Vol 20, No 2. Chile.

Pértega S.; Fernández S. (2004). Asociación de variables cualitativas: el test exacto de Fisher y el test de Mcnemar. Recuperado de <https://www.fisterra.com/mbe/investiga/fisher/fisher.asp>

Rebolledo A.; Navarrete L.; Cruz A.; Aguilar A.; Erosa S.; Bolio R.; Gonzalez E.; Paredes L.; Ramon J.; (2007). Fertilidad en ovejas de pelo inseminadas con semen congelado rediluido con plasma seminal. Centro de selección y reproducción ovina. Instituto tecnológico agropecuario. Vol. 17 No. 1 Yucatán, México.

Rodríguez O. (2004). Evaluación de dos metodologías de inseminación artificial utilizando semen congelado con un tratamiento para la sincronización de celo en ovinos de la raza criolla colombiana. Universidad Nacional de Colombia, facultad de zootecnia. No. 8. Bogotá, Colombia.

Ruiz I. (2012). Estudio molecular del reconocimiento material, adhesión y neovascularización en la peri-implantación ovina en dos tratamientos de sincronización del estro. Universidad de Madrid, facultad de veterinaria, departamento de medicina y cirugía animal. Grado de doctor, veterinario. Madrid, España.

Sepúlveda N. (2012). Inseminación artificial en ovinos. XVI congreso Venezolano de producción e industria animal. XVI Congreso. Venezuela.

Soberano A., Bravo A., Olivo I., Toscano I., Cajero M., Herrera J., Navarro M., Seguura J. (2011). Fertilización de ovocitos caprinos madurados en dos medios de cultivo. Tropical and subtropical agroecosystems. Vol. 14, No. 1. Yucatán México.

Sturzenbaum V., Fernández R., Rivera E., Mansilla J., Milicevic F., García Patella R. (2012). Inseminación Artificial de ovejas merino puro registrado Polled Merino con padres Dohne Merino - Ea. Coy Aike - Provincia de Santa Cruz. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Argentina.

Valdez D. (2013). Efectos del dodecil sulfato iónico adicionado a un diluyente libre de yema de huevo sobre la calidad del semen ovino congelado. Universidad de Cuenca. Facultad de ciencia agropecuarias. Centro de posgrado. Cuenca, Ecuador.

Valencia E. (2012). Maduración *in vitro* de ovocitos colectados *post mortem* de ovarios de vacas Holstein Friesian y Jersey. Universidad San Francisco De Quito. Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de BSc en Biotecnología. Quito Ecuador.

56

Viana J., Ferreira A., Rodrigues dos Santos R., Furtado S., Ribeiro A., Leal M., Porto V., Ricardo J. (2002). Degeneration rate of goat primordial follicles maintained in TCM 199 or PBS at different temperatures and incubation times. Vol. 33 No. 5. Brasil.

VII simposio internacional de reproducción animal. (2007). Instituto de reproducción animal Córdoba. Argentina.