

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL



Evaluación del efecto de la inseminación artificial a través del tiempo con cápsulas de semen
en borregas

Por:

CARINA HERRERA LUNA

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Junio 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL

Evaluación del efecto de la inseminación artificial a través del tiempo con cápsulas de semen
en borregas.

POR:

CARINA HERRERA LUNA

TESIS

Que somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito para obtener el título
de:

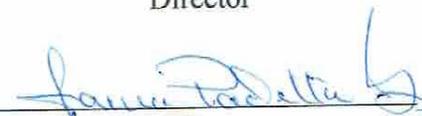
INGENIERO AGRÓNOMO ZOOTECNISTA



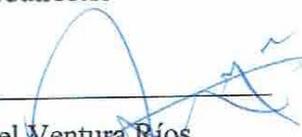
Dr. Alejandro García Salas
Director



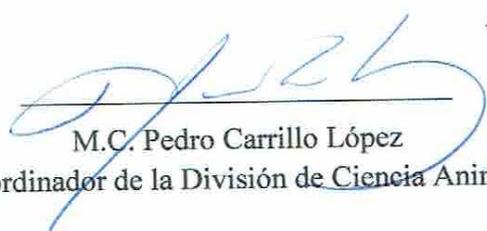
Dr. Vicente O. Mejía Villanueva
Codirector



Dra. Laura Padilla González
Asesor



Dr. Joel Ventura Ríos
Asesor



M.C. Pedro Carrillo López
Coordinador de la División de Ciencia Animal

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Junio 2023.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por acompañarme, brindarme salud, sabiduría, fortaleza, paciencia y permitirme lograr esta meta más en mi vida rodeada de mis seres queridos. Gracias Dios, por mi familia y amigos, por siempre poner a las personas adecuadas en mi camino para que pueda crecer tanto profesionalmente como personalmente.

A la Virgen de Guadalupe, por acompañarme cada día, cuidarme y protegerme de todo mal, ser mi guía y esperanza, mi refugio y consuelo en momentos difíciles, por siempre escucharme, gracias madre mía.

A mis Padres, por confiar en mí, brindarme su apoyo incondicional en cada una de mis decisiones, por esforzarse día a día para que lograra cumplir mis sueños. Gracias por enseñarme los valores de la vida y guiarme siempre a través de sus consejos.

A mi ALMA MATER, por abrirme sus puertas para formar parte de esta gran casa de estudios, por brindarme todas las herramientas necesarias para desarrollarme profesionalmente y permitirme cumplir este gran sueño en mi vida. Gracias por todas las experiencias y conocimientos adquiridos.

Al Dr. Octavio Mejía, por haber puesto su confianza en mí y brindarme la oportunidad de realizar un proyecto de investigación con él. Gracias por compartir sus conocimientos conmigo, pero, sobre todo, su apoyo, su tiempo, sus enseñanzas y paciencia.

Al Dr. Alejandro García Salas, por el apoyo, asesoramiento, gracias por compartir sus conocimientos conmigo y guiarme en este proyecto.

Al Dr. José de Jesús Núñez Saavedra, por abrirme las puertas del CEIEPO y brindarme la oportunidad de culminar una meta más en mis estudios profesionales.

A mis amigos, Nayeli Ramírez, Hiram Molina, Luis Barquera, Juana Velázquez, Damián Bernal, Arisbeth Nolasco, Sergio Esquivel, Shalma Montes, Yarabeth Ramos, gracias por brindarme su amistad, su apoyo, sus consejos, su tiempo, tantas experiencias dulces y amargas para cada una igual de importante para que haya logrado alcanzar esta meta, los llevaré siempre en el corazón.

DEDICATORIA

A Dios por acompañarme en todo momento y permitirme llegar hasta aquí.

A mis padres, Víctor Herrera Aguilar y Catalina Luna Moreno, por todo su apoyo y amor incondicional, este trabajo se los dedico de todo corazón, mostrando el fruto de sus grandes esfuerzos, puesto que todo lo que he logrado ha sido gracias a ustedes. Por confiar en mí y brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente, por acompañarme en todo momento, tanto en los días buenos como en los días difíciles, por brindarme esa seguridad para confiar en que puedo lograr todo aquello que me proponga, este logro es tanto mío como suyo.

A mis hermanas y hermano, por mostrarme el ejemplo de disciplina, compromiso, dedicación, por ser mi inspiración para lograr todos mis objetivos, por sus enseñanzas y apoyo incondicional, por cuidarme, aconsejarme y motivarme siempre, este logro es tanto mío como suyo.

DECLARATORIA DE NO PLAGIO

Saltillo, Coahuila, México, junio de 2023.

DECLARO QUE:

El trabajo de investigación titulado “Evaluación del efecto de la inseminación artificial a través del tiempo con cápsulas de semen en borregas” es una producción personal, donde no se ha copiado, replicado, utilizado ideas, citas integrales e ilustraciones diversas, obtenidas de cualquier tesis, obra intelectual, artículo, memoria, (en versión digital o impresa), sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor.

En este sentido, lo anterior puede ser confirmado por el lector, estando consciente de que en caso de comprobarse plagio en el texto o que no se respetaron los derechos de autor; esto será objeto de sanciones del Comité Editorial y/o legales a las que haya lugar; quedando, por tanto, anulado el presente documento académico sin derecho a la aprobación del mismo, ni a un nuevo envío.

Atentamente



Carina Herrera Luna

Evaluación del efecto de la inseminación artificial a través del tiempo con cápsulas de semen en borregas

Carina Herrera Luna

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del número de inseminaciones a diferentes horas sobre el porcentaje de fertilidad y prolificidad, un total de 56 ovejas de las razas Suffolk, Hampshire, Dorset, Katahdin y cruzas con diferentes proporciones de Katahdin, fueron inseminadas vaginalmente en múltiples ocasiones, utilizando cápsulas de semen refrigerado. El estudio fue realizado en la localidad de Tres Marías, Morelos, México, durante los meses de agosto-septiembre de 2022. Las hembras fueron divididas en tres tratamientos, se sincronizaron utilizando progesterona natural vía vaginal (CIDR), durante 12 días y a su retiro se aplicaron 200 UI de gonadotropina coriónica equina (eCG) por vía intramuscular. Tratamientos (T): (T1) = IA a 36 y 48 h; T2= IA a 36, 48 y 60 h y T3=IA a 36, 48, 60 y 72 h. El porcentaje de fertilidad fue numéricamente superior en el T3= 60%, comparado con T2= 32% y T1 = 36%. Al inseminar en cuatro ocasiones en el rango de tiempo adecuado se logró incrementar el porcentaje de fertilidad, sin embargo, la prolificidad no mostro respuesta al número de inseminaciones.

Palabras clave: Sincronización, Inseminación artificial, Fertilidad, Prolificidad.

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of the number of inseminations at different times on the percentage of fertility and prolificacy, a total of 56 ewes of the Suffolk, Hampshire, Dorset, Katahdin breeds and crosses with different proportions of Katahdin, were inseminated vaginally. on multiple occasions, using refrigerated semen capsules. The study was carried out in the town of Tres Marías, Morelos, Mexico, during the months of August-September 2022. The females were divided into three treatments, synchronized using vaginal natural progesterone (CIDR), for 12 days and upon removal 200 IU of equine chorionic gonadotropin (eCG) were applied intramuscularly. Treatments (T): (T1) = AI at 36 and 48 h; T2= AI at 36, 48 and 60 h and T3= AI at 36, 48, 60 and 72 h. The fertility percentage was numerically higher in T3= 60%, compared to T2= 32% and T1= 36%. By inseminating four times in the appropriate time range, the fertility percentage was increased, however, the prolificacy did not show a response to the number of inseminations.

Keywords: Synchronization, artificial insemination, Fertility, Prolificacy.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 OBJETIVOS	4
1.1.1 Objetivo general.....	4
1.1.2 Objetivos específicos	4
1.2 HIPÓTESIS.....	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1 Situación de la producción ovina en México.....	5
2.2 Principales razas explotadas en México	7
2.2.1 Rambouillet.....	7
2.2.2 Dorset.....	8
2.2.3 Hampshire	8
2.2.4 Suffolk.....	9
2.2.5 Katahdin.....	9
2.2.6 Pelibuey	9
2.2.7 Black Belly	10
2.2.8 Dorper	10
2.3 Aparato reproductor de la hembra	11
2.3.1 Ovarios.....	11

2.3.2 Oviductos	11
2.3.3 Útero	11
2.3.4 Cuello uterino o cérvix	12
2.3.5 Vagina.....	12
2.3.6 Vestíbulo y vulva	12
2.4 Características del ciclo estral del ovino.....	12
2.4.1 Fase folicular.....	13
2.4.2 Fase Lútea.....	14
2.5 Métodos de sincronización de estro.....	14
2.5.2 Métodos farmacológicos.....	15
2.5.2.1 Método de progestágenos o progesterona.....	15
2.5.2.2 Método de prostaglandinas	16
2.5.2.3 Administración de eCG	17
2.6 Métodos de recolección de semen.....	17
2.6.1 Vagina Artificial	17
2.6.2 Electroeyaculador	19
2.7 Requisitos necesarios de la muestra de semen para ser utilizada en inseminación artificial.....	20
2.8 Conservación de Semen.....	21
2.9 Principales diluyentes utilizados en inseminación artificial	22

2.9.1 AndroMed® (Minitube, Alemania)	22
2.9.2 BioXcell® (IMV Technologies, España)	23
2.9.3 INRA 96® (IMV Technologies, Francia).....	23
2.9.4 Piedra mora® (2008)	23
2.9.5 Triladyl® (Minitube, Alemania).....	23
2.10 Inseminación artificial en ovinos	24
2.10.1 Inseminación vaginal	25
2.10.2 Inseminación vaginal con cápsulas.....	26
2.10.3 Inseminación cervical	28
2.10.4 Inseminación transcervical	29
2.10.5 Inseminación intrauterina por laparoscopia	30
2.11 Tiempos y número de dosis recomendados para inseminación artificial en ovinos	31
III. MATERIALES Y MÉTODOS	32
3.1 Descripción del sitio experimental	32
3.2 Manejo de los animales.....	33
3.3 Grupos experimentales	38
3.4 Diagnóstico de gestación	39
3.5 Variables evaluadas	40
3.6 Análisis estadístico	40
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41

4.1 Fertilidad.....	41
4.2 Prolificidad.....	43
V. CONCLUSIONES	45
VII. LITERATURA CITADA.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Colecta de semen utilizando vagina artificial.	18
Figura 2. Componentes de una vagina artificial	18
Figura 3. Extracción de semen con vagina artificial y maniquí.	19
Figura 4. Esquema de inseminación cervical en ovinos. Fuente: Gutiérrez, 2006.....	29
Figura 5. Esquema inseminación intrauterina en ovinos. Fuente: Gutiérrez 2006.....	30
Figura 6. Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina.....	32
Figura 7. Inserción de dispositivo CIDR.	33
Figura 8. Detección de estros conductuales utilizando machos celadores.	34
Figura 9. Extracción de semen a carnero.....	35
Figura 10. Limpieza del área del prepucio a semental próximo para extracción de semen.	35
Figura 11. Conteo de espermatozoides cámara de Neubauer.	36
Figura 12. Evaluación de motilidad al semen extraído.....	36
Figura 13. Preparación de diluyente Triladyl.	36
Figura 14. Dilución de eyaculado.	36
Figura 15. Cápsulas de celulosa con capacidad de 1ml.....	37
Figura 16. Materiales necesarios para realizar inseminación artificial vaginal con cápsulas de semen.	37
Figura 17. Extracción de la dosis de semen utilizando jeringa de insulina.	38
Figura 18. Limpieza externa de la vulva y aplicación de lubricante.	38
Figura 19. Inserción del aplicador cargado en la vagina y descarga de la cápsula en la vagina	38
Figura 20. Colocación de la cápsula con semen en el aplicador.	38

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Inventario Ovino en México en los últimos 10 años.....	5
Gráfico 2. Porcentaje de incremento en el inventario ovino nacional.....	6
Gráfico 3. Principales estados con mayor inventario ovino.....	7
Gráfico 4. Efecto del número de inseminaciones sobre el porcentaje de fertilidad en ovejas inseminadas con cápsulas de semen.....	42
Gráfico 5. Efecto del número de inseminaciones sobre la prolificidad en ovejas inseminadas con cápsulas de semen.....	44

I. INTRODUCCIÓN

Los ovinos tiene una importancia económica considerable en México, la carne es el producto de mayor demanda en el mercado, sin embargo, la producción de carne no satisface el consumo nacional, por lo que es necesario importar carne de países como Nueva Zelanda, Australia y Estados Unidos (Hernández *et al.*, 2017). En México, en las regiones de climas templados, áridos y semiáridos predominan las razas ovinas de lana, mientras que el clima tropical favorece a las razas de pelo. Los sistemas de producción son mayormente llevados a cabo en condiciones de pastoreo extensivo, generalmente con alimentación errática, escasos programas de sanidad, baja o nula tecnología reproductiva y por lo tanto productividad limitada. Por ello, se busca mejorar las condiciones de los sistemas productivos, con la finalidad de incrementar la producción de carne nacional, siendo de gran importancia los factores reproductivos y genéticos (Hernández *et al.*, 2017; AMCO, 2007).

La Inseminación Artificial es la mejor herramienta utilizada por el hombre para implementar control sanitario y mejoramiento genético, puesto que hace posible la diseminación de reproductores sanos, calificados, y que han probado ser mejoradores. Esta técnica reproductiva consta de la recolección artificial del semen de los carneros para posteriormente ser depositado en el tracto reproductivo de las hembras y se pueda llevar a cabo la fecundación de los óvulos maduros. Utilizando la inseminación artificial para mejoramiento genético, aunado a prácticas adecuadas de manejo, nutrición y sanidad, se consigue mejorar los índices productivos en el rebaño, así como obtener productos con características de mayor calidad comercial (Latorre y Zlatar, 2000; Gibbons y Cueto, 1995).

De acuerdo a Balcázar y Porras (2009) en pequeños rumiantes, es necesario tomar en cuenta los diversos factores anatómicos que los caracterizan, puesto que algunos de ellos afectan directamente la factibilidad de la inseminación artificial. Uno de los factores más importantes a considerar es la anatomía de la hembra ovina, ya que, el cuello uterino tiene forma irregular, lo que dificulta el paso transcervical, de los instrumentos de inseminación. Con la finalidad de contrarrestar este tipo de dificultades, se han desarrollado diversos métodos para efectuar la IA,

los cuales se pueden clasificar de acuerdo a lugar dentro del tracto reproductivo de la hembra, donde será depositado el semen (Cáceres y Mogollón, 2017; Franco *et al.*, 2014;).

La inseminación artificial vaginal consiste en introducir la pistola de inseminación a través de la vagina y depositar el semen, sin realizar algún intento de localización del cérvix. Los porcentajes de fertilidad obtenidos con esta técnica son bajos independientemente del tipo de semen utilizado (Evans y Maxwell, 1990; Balcázar y Porras, 2009). Existe un método que ayuda a incrementar los porcentajes de fertilidad en la inseminación artificial, conocido como “Inseminación intrauterina”, mediante el cual, el semen es depositado directamente en los cuernos uterinos, se realiza empleando un laparoscopio a través de una cirugía menor, a pesar de demostrar mejores resultados respecto al resto de las técnicas de inseminación, este método requiere estricta capacitación del personal, además de involucrar costos muy elevados para su implementación (Balcázar y Porras, 2009; Aguilar, 2010).

En la actualidad la inseminación cervical es el método mayormente utilizado. Esta técnica consiste en depositar el semen en los primeros pliegues cervicales, para lo cual se requiere colocar a la hembra sobre un potro y con los miembros posteriores apoyados sobre una baranda o barra, lo que facilitará introducir un vaginoscopio y con una fuente de luz ubicar el cérvix, para efectuar esta técnica se requiere de mayor cantidad de personal y tiempo, en comparación con la IA vaginal, además de ello se considera una técnica estresante para el animal, debido a todo el manejo que requiere, por lo cual, se busca desarrollar técnicas de IA en ovinos que involucren menor estrés y porcentajes de fertilidad más elevados (Delgadillo, 2005; Gibbons y Cueto, 1995).

Por lo tanto, es necesario desarrollar una técnica de inseminación artificial menos invasiva como lo es la inseminación artificial con capsulas de semen depositadas vaginalmente, la cual está basada en un método sencillo y accesible a los productores.

Además del método a utilizar, para conseguir mejores porcentajes de fertilidad, es necesario tomar en cuenta otros aspectos claves, de entre los cuales destaca el tiempo de la inseminación. Evans y Maxwell (1990) señalan que, para obtener mejores resultados, cuando se

efectúa la inseminación vaginal o cervical, el tiempo óptimo para realizarla es antes de la ovulación, pero muy próxima a ella, para lo cual es de suma importancia detectar el estro conductual de la hembra, ya que éste dará una pauta para calcular el momento de la ovulación y efectuar la inseminación de manera más precisa. Tomando en cuenta las características del ciclo estral de la hembra, en condiciones de campo, por lo general se insemina una vez entre las 12 y 24 horas después del inicio del estro, si se desea aumentar la fertilidad se pueden practicar dos inseminaciones con un intervalo de 12 horas entre estas (Delgadillo, 2005).

Con la finalidad de determinar el rango de tiempo y número de inseminaciones más efectivo para implementar la inseminación artificial vaginal, en el presente estudio, serán evaluados tres lotes de borregas, inseminadas en dos, tres y cuatro ocasiones, a rangos de tiempo distintos. A fin de simplificar las actividades de las múltiples inseminaciones, éstas se realizarán de manera vaginal, utilizando semen diluido, refrigerado y envasado en cápsulas, que posteriormente se depositarán en la vagina de las borregas, sin utilizar algún tipo de equipo complejo, con el propósito de reducir el estrés generado a las ovejas durante el proceso.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la inseminación artificial vaginal a través del tiempo en borregas utilizando semen encapsulado.

1.1.2 Objetivos específicos

Evaluar el porcentaje de fertilidad y prolificidad en borregas inseminadas vaginalmente, utilizando cápsulas de semen refrigerado a 5°C.

Evaluar el rango de tiempo y número de inseminaciones más efectivo para implementar la inseminación artificial vaginal.

1.2 HIPÓTESIS

El porcentaje de fertilidad será superior en las borregas que tengan un mayor número de inseminaciones efectuadas en un rango de tiempo más amplio.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Situación de la producción ovina en México

De acuerdo al Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2022), para el año 2021 México contó con un total de 8,766,678 cabezas (Gráfico 1), distribuidas en las regiones Centro, Centro-Norte y Sur.



Gráfico 1. Inventario Ovino en México en los últimos 10 años.

El inventario ovino nacional de los años 2012 a 2017 registró un aumento de 8.4 a 8.9 millones de animales, sin embargo, en los años posteriores se registró un decrecimiento en la población (Gráfico 2). Para ese mismo año, el Estado de México, inventario un total de 1,365,816 cabezas de borregos, equivalente al 15.57% del total nacional, seguido de los estados de Hidalgo y Veracruz, con el 12.58% y 8.32% respectivamente (Gráfico 3) (SIAP, 2021).



Gráfico 2. Porcentaje de incremento en el inventario ovino nacional.

En función a el nivel tecnológico alcanzado, los sistemas de producción ovina clasifican en: intensivos, semi-intensivos y extensivos, además, existen sistemas que se asocian a la ganadería, como huertos frutales perennes y actividades silvopastoriles. De acuerdo al propósito de la producción, pueden clasificarse como: de carne, de carne-lana, únicamente de lana y de leche. La finalidad en los sistemas de producción ovina es el autoconsumo y la comercialización de los diversos productos y subproductos que ofrecen. Alrededor del 10% de la producción se destina para autoconsumo especialmente en festividades sociales y reuniones familiares (Pérez et al., 2011; Hernández et al., 2013).

El 79% de la comercialización del ganado ovino se lleva a cabo a través de intermediarios, generalmente como animales en pie, sin tomar en cuenta algún tipo de criterio de selección, minimizando la calidad y el peso del animal ofertado, generando desventaja económica para el productor, únicamente el 21% de la venta se efectúa directamente con el consumidor final (Hernández *et al.*, 2013).

La producción nacional de carne ovina para el año 2021 fue de 65,844.53 toneladas, registrando un aumento de 9,208.52 t. desde el año 2011, destacando el Estado de México con una producción de 9,183.85 t., seguido de los estados Hidalgo con 6,682.2 t. y Veracruz con 5,784.28 de toneladas (SIAP, 2021). De las razas predominantes en la zona, destacan las

Suffolk, Hampshire y cruza entre éstas, además también existe presencia de razas de pelo como Dorper, Pelibuey, Katahdin entre otras (Herrera *et al.*, 2019).

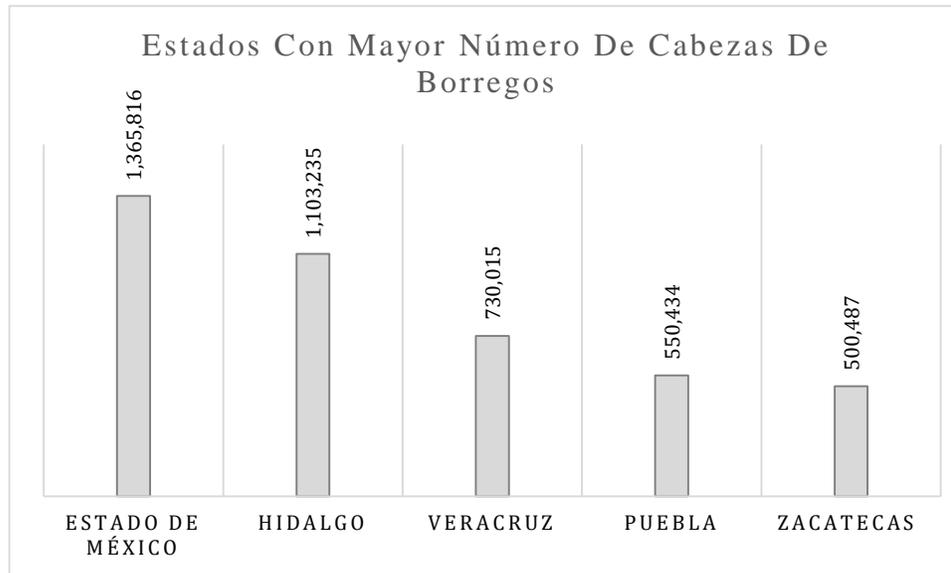


Gráfico 65. Principales estados con mayor inventario ovino.

El consumo nacional aparente (CNA) de carne de ovino en México para el año 2019 fue de 70,812 toneladas, mientras que el consumo *per cápita* estuvo entorno a los 567 gramos de carne por habitante, para el mismo año, las importaciones representaron el 9.6% del consumo nacional, equivalente a 6,782 toneladas (Bobadillo *et al.*, 2021).

2.2 Principales razas explotadas en México

En la actualidad la producción de carne es el principal objetivo de las explotaciones ovinas en México, debido a sus características productivas, las razas explotadas predominantes en el país son las siguientes (AMCO, 2007).

2.2.1 Rambouillet

Desarrollado en Francia, a partir de la mejora por selección del Merino español. Se adapta muy bien a condiciones áridas, sin embargo, no toleran la humedad. Son animales aptos para largas caminatas ya que su consumo de agua es muy reducido. Los ejemplares Rambouillet

tienen cara blanca y las patas cubiertas de lana. Los sementales tienen largos cuernos en espiral, mientras que las hembras no tienen cuernos. En condiciones adecuadas los machos pueden llegar a pesar de 100 a 120kg, mientras que las hembras alcanzan pesos de 70kg. Poseen una temporada reproductiva muy alargada, en algunos casos las hembras pueden presentar celo durante todo el año, pero poseen baja prolificidad. Considerada como raza productora de lana fina, este tipo de animales se explotan principalmente en los estados de Guanajuato, Hidalgo, San Luis Potosí, Zacatecas, Coahuila y Durango, conocida como región centro norte del país donde las precipitaciones se encuentran por debajo de los 600mm anuales (Ensminger, 1970; AMCO, 2007; Kirchner *et al.*, 2014).

2.2.2 Dorset

Originario del sur de Inglaterra. Cara, orejas y patas de color blanco y como la única raza de cara blanca en esa región. Se conocen dos variedades de Dorset, una presenta cuernos y la otra carece de ellos. Considerados de talla media a grande, la hembra adulta puede alcanzar pesos de 60-70kg, mientras que los machos alcanzan pesos de 120-160kg. Las hembras Dorset se caracterizan por su baja estacionalidad reproductiva, alta prolificidad y gran producción de leche, además de excelente instinto materno. Son excelente opción para cruzamiento, además de tener mediana producción de lana. En México es utilizada en los estados de México, Hidalgo, Chiapas, Aguascalientes, Tlaxcala, Jalisco y Guanajuato (Ross, 1989; AMCO, 2007).

2.2.3 Hampshire

Originada en el condado de Hampshire en la región centro-sur de Inglaterra. Orejas, cabeza y patas de color marrón oscuro cercano al negro, ambos sexos carecen de cuernos. Posee una conformación característica de un animal cárnico, además de una gran velocidad en ganancias de peso y excelente conversión alimenticia bajo condiciones de engordas intensivas con granos. Considerados de talla media, los machos adultos llegan a pesar de 110-140kg mientras que las hembras alcanzan pesos de 80-100kg. Son muy populares en la zona centro del país, tanto el animal puro como sus cruza. Son populares principalmente en los estados de Querétaro, Hidalgo, Estado de México, Ciudad de México, Puebla y Tlaxcala, también es

utilizado para cruzamientos terminales con razas de pelo en los estados de Jalisco, Tamaulipas y Yucatán (Ensminger, 1970; AMCO, 2007).

2.2.4 Suffolk

Raza originada en Reino Unido a partir del cruzamiento de carneros Southdown con hembras Norfolk. Existen líneas americanas, canadienses e inglesas. Dentro de sus características más sobresalientes destaca su cara, orejas y patas de color negro intenso y desprovistas de lana. Poseen conformación cárnica además de alta prolificidad y rápido crecimiento, alcanzando pesos similares a los de la raza Hampshire. En México se han utilizado las líneas americanas, canadienses y recientemente la inglesa, explotadas principalmente en los estados de México, Hidalgo, Querétaro, Morelos, Aguascalientes, Veracruz, Jalisco, Chihuahua y Ciudad de México (Ensminger, 1970; AMCO, 2007; Kirchner *et al.*, 2014).

2.2.5 Katahdin

Desarrollada en Estados Unidos en los años 1950-1980 a través de una hibridación múltiple entre un animal criollo procedente de las Islas Vírgenes Británicas con animales de las razas Dorset, Cheviot, Suffolk Down y Wiltshire Horn, dando como resultado un animal de pelo con gran adaptación a diversos tipos de climas y con excelente producción de carne magra, siendo permitidos tres clases de colores: canelo, blanco y pinto. Reconocidos como animales prolíficos, con buena producción de leche, excelente habilidad materna además de alta resistencia a parásitos. Los machos adultos alcanzan pesos de 120-130kg en condiciones óptimas, mientras que las hembras llegan a pesar de 60 a 70kg. Destacan por su rápida ganancia de peso en condiciones de engorda, así como por su precocidad y comportamiento. Ha ganado popularidad en México ya que es explotada en todos los climas, desde fríos, templados hasta tropicales (AMCO, 2007).

2.2.6 Pelibuey

Procedente de Cuba, ingresó a México entre los años 1930-1940. Inicialmente su distribución se limitaba a regiones tropicales, actualmente se encuentra extendida en todo el país. Ha cobrado gran importancia en México, debido a su amplia capacidad para adaptarse a

diferentes ambientes y climas, gracias a ello, esta raza de pelo se ha vuelto la principal representante del inventario ovino nacional, aceptándose en tres colores diferentes: canelo, blanco y pinto. Considerada raza de talla mediana a pequeña, la hembra adulta alcanza pesos de 50-60 kg., mientras que el macho llega a pesar de 85-100kg. De ciclo reproductivo abierto y buena prolificidad, se utiliza principalmente como raza materna en sistemas de cruzamiento (Aguilar, *et al.*, 2017; Aguilar, *et al.*, 2021).

2.2.7 Black Belly

También conocido como borrego de barbados o panza negra, esta raza de pelo tiene sus orígenes en la isla de barbados. En México se distribuye ampliamente en todas las regiones del país, desde el trópico hasta áreas templadas. Dentro de sus rasgos más característicos destaca su coloración, la cual debe ser específica y bien delimitada, permitiendo los colores marrón claro, marrón oscuro o marrón rojizo de fondo, combinado con negro, éste último presente únicamente abajo de la quijada, la barbilla, la garganta, el pecho, toda la panza, la parte interior de las piernas y se extiende como una línea angosta a lo largo de la parte inferior de la cola hasta cerca de su punta. Destacan por su alto índice de prolificidad, ya que pueden tener de 3 a 4 crías por parto; resistencia a enfermedades; rusticidad y excelente habilidad materna. De talla media a chica, los machos adultos alcanzan pesos de 60-80 kg., mientras que las hembras llegan a pesar de 40-45kg (AMCO, 2007; Voz Agraria, 2012; UNO, 2021).

2.2.8 Dorper

Desarrollada en Sudáfrica, apto para soportar climas extremos a pesar de ser una raza de pelo. Introducidos a México en 1990. Destaca por su excelente conformación, característica de una raza cárnica, principalmente de sus cuartos traseros. Las hembras poseen una amplia vida productiva además de excelente instinto maternal. Son de fácil manutención y fácil cuidado. En México ha generado buenos resultados principalmente en la región tropical y norte del país, utilizada generalmente como raza mejoradora en cruzamiento con razas criollas de pelo. Las hembras adultas alcanzan pesos de 80-95 kg., mientras que los machos pesos de 120-130 kg (Kirchner *et al.*, 2014).

2.3 Aparato reproductor de la hembra

Compuesto por: ovarios, oviductos, útero; vagina, vestíbulo y vulva (Hafez, 1969).

2.3.1 Ovarios

Son estructuras de forma almendrada pero irregular; conocidos como los órganos sexuales primarios o gónadas, miden de 1,5 a 2 cm de longitud y se sitúan en el borde del mesovario, en la cavidad abdominal (May, 1974). Cada hembra tiene dos ovarios generalmente igual de activos. Son los órganos esenciales para la reproducción de la hembra, considerados glándulas de secreción exocrina, puesto que, gracias a ellos, se lleva a cabo la producción de gametos, además de poseer también una función endocrina, ya que producen hormonas sexuales, predominando la progesterona y los estrógenos, necesarios para desarrollar y mantener las características reproductivas femeninas (Evans y Maxwell, 1990).

2.3.2 Oviductos

Son dos conductos más o menos flexuosos con una longitud alrededor de 10-20cm, que se extienden desde los ovarios hasta el útero. Dentro de las principales funciones se encuentra la captación del ovocito durante la ovulación, transporte del ovocito hasta el sitio de fecundación, transporte de espermatozoides y transporte del cigoto hasta el útero (Hafez, 1969).

2.3.3 Útero

Está compuesto por: dos cuernos, un cuerpo y el cuello (cérvix). El cuerpo uterino posee una longitud de 3-5 cm, para posteriormente dividirse cerca de la bifurcación, sitio de unión de los dos cuernos uterinos, en la oveja, éstos últimos tienen una longitud de entre 9-16 cm. El útero está compuesto de diferentes capas (epitelio, miometrio y endometrio), las cuales son necesarias para desempeñar de manera adecuada, cada una de las funciones del mismo, entre ellas: transporte de los espermatozoides al oviducto; secreción de nutrientes para la supervivencia del cigoto, implantación del embrión, desarrollo y expulsión del producto (Hafez, 1969; May, 1974).

2.3.4 Cuello uterino o cérvix

El cuello uterino o cérvix es una estructura que comunica el útero con la vagina, formado por tejido conjuntivo, músculo y glándulas secretoras, funciona como canal de parto, ya que por medio de éste será expulsado el producto al final de la gestación. Tiene una longitud de 4 a 7 cm y se proyecta en sentido caudal dentro de la cavidad de la vagina, formando uno o más pliegues de tejido fibroso, fácilmente distinguibles de la pared vaginal. Las paredes internas del cérvix se caracterizan por tener crestas y oquedades, que, en las ovejas, tienen la particularidad de encajar entre sí, cerrando el cuello uterino como efecto protector de agentes externos, dejando únicamente un paso muy pequeño, que es prácticamente imposible de penetrar por la pipeta de inseminar (Evans y Maxwell, 1990).

2.3.5 Vagina

Situada en la cavidad pélvica, entre el útero por delante y la vulva caudalmente. Forma parte del canal del parto, ya que es el conducto dilatado para el parto fetal y placentario, además es el órgano receptor del miembro del macho por lo cual, se convierte en el sitio donde se deposita el semen durante la copulación (Frandsen, 1976).

2.3.6 Vestíbulo y vulva

El vestíbulo se localiza entre la vagina y la vulva, considerado también como la parte más corta y estrecha de la vagina. La unión de vagina y el vestíbulo se marcan por la presencia del orificio uretral externo. Esta porción también contiene glándulas secretoras productoras de mucus para lubricar la vagina. La vulva es la porción externa de los genitales de la hembra, extendidos desde el vestíbulo al exterior, en la oveja y la cabra tiene forma triangular (Evans y Maxwell, 1990).

2.4 Características del ciclo estral del ovino

La especie ovina se caracteriza por su actividad reproductiva estacional, es decir, en determinadas épocas del año la mayoría de las hembras se encuentran sexualmente activas (presentan adecuadamente su ciclo estral), mientras que en la otra temporada del año se presenta

la inactividad sexual (anestro). Cabe mencionar que esto ocurre en determinado grupo de hembras, ya que varía dependiendo de la latitud donde se encuentran los animales o de donde son originarios. La mayor parte de la actividad sexual se presenta en el periodo otoño-invierno, ya que se efectúa una estimulación en los animales, producto del acortamiento de las horas luz, por lo cual son conocidas como animales de días cortos (Gibbons y Cueto, 1995).

La melatonina secretada por la glándula pineal en el cerebro controla la respuesta a los cambios de las horas-luz, es decir actúa como una señal para el eje neuroendocrino, desencadenando la acción gonadotropina en el hipotálamo. Durante el periodo de transición las ovejas responden fácilmente a la estimulación, ya sea por métodos naturales o farmacológicos (Aitken, 2007). El ciclo estral es un conjunto de eventos endocrinos que se repiten sucesivamente, cuyo objetivo principal, es la formación de gametos funcionales, además de establecer las condiciones necesarias para que pueda producirse la fecundación y desarrollarse la gestación. En la oveja tiene una duración promedio de 17 días, se repite siempre y cuando el animal no esté gestante. El ciclo estral puede dividirse en dos fases: Fase folicular y Fase lútea, el estro se presenta en la última parte de la fase folicular y es el único periodo en el que la hembra puede quedar gestante.

2.4.1 Fase folicular

La fase folicular tiene una duración relativamente corta de 3-4 días, comprende las etapas del proestro y el estro. Inicia con la regresión del cuerpo lúteo (CL) y finaliza con la ovulación. Debido a la regresión del cuerpo lúteo que posteriormente es seguido del crecimiento y desarrollo folicular, se efectúa un cambio en la dominancia hormonal de la progesterona para pasar a ser dominantes los estrógenos, alcanzando sus niveles máximos poco antes de la aparición del estro. Las principales hormonas que participan en el crecimiento y desarrollo folicular son la hormona FSH (Hormona folículo estimulante), la cual estimula el crecimiento temprano de los folículos y LH (hormona luteinizante) necesaria para completar el crecimiento de los mismo. Cuando hay niveles suficientes de estrógenos en la sangre, se dispara una oleada de LH, lo que produce cambios en las paredes del folículo que conducen a su rotura y liberación del ovum. La oleada preovulatoria de LH ocurre al principio del estro y alrededor de 18-24 horas posteriores la ovulación (Evans y Maxwell, 1990; Fernández *et al.*, 1998).

2.4.2 Fase Lútea

Méndez (2020) describe esta fase como el periodo más largo dentro del ciclo, ya que tiene una duración aproximada de 13 días, comprendiendo las etapas del metaestro y el diestro. Posterior a la ovulación, del folículo roto se forma un coágulo de sangre conocido como cuerpo hemorrágico, que aun por efecto de la oleada de LH, 4-5 días posteriores se transformará en un cuerpo lúteo, el cual secreta progesterona, que preparará el útero para recibir el embrión y mantener la gestación, en caso de que la hembra no quede gestante, el cuerpo lúteo disminuye de tamaño, por lo que la secreción de progesterona también disminuye, comienza una nueva onda de crecimiento folicular y el inicio de nuevo ciclo.

2.5 Métodos de sincronización de estro

La sincronización de celos es la modificación de ciclo estral normal, de modo que el estro de muchas hembras se presentara el mismo día o en un periodo de 2 a 3 días. Aporta grandes ventajas a un sistema de producción, principalmente permite tener el control de la época de pariciones y por lo tanto es más sencillo realizar las actividades de manejo en el rebaño, además facilita la implementación de técnicas reproductivas como inseminación artificial y mejoramiento genético (Hafez, 1969). Existen diversos métodos a través de los cuales se consigue tener control sobre la aparición del estro, principalmente pueden clasificarse en dos grupos, los naturales y los farmacológicos. Los métodos naturales presentan la ventaja de ser baratos, sin embargo, su eficacia se ve limitada a ciertas regiones y a determinadas épocas del año, además, la sincronización es más variable en comparación con los métodos farmacológicos, puesto que éstos últimos generan que el estro se presente casi a la vez en todas las hembras tratadas, sin embargo, generan costos más elevados y se requiere de mano de obra para aplicar los tratamientos (McDonald, 1969).

2.5.1 Métodos naturales

También conocido como efecto macho, este método consiste en inducir o sincronizar el estro por medio de la introducción de machos a grupos de hembras que se encuentran aisladas

de dichos animales y al final del anestro estacional. Por medio de la mezcla de secreciones de las glándulas sebáceas y odoríferas, que contienen feromonas, la presencia de los machos genera una respuesta en las hembras ayudando a inducir el celo y la ovulación, sin embargo, si las hembras se encuentran ciclando o en anestro profundo no se efectuará la sincronización (Fernández *et al.*, 1998).

2.5.2 Métodos farmacológicos

2.5.2.1 Método de progestágenos o progesterona

Este método consiste en administrar diariamente progestágenos o progesterona a las hembras por un periodo de 12-14 días, lo que evitará la aparición de estro y ovulación. Los progestágenos funcionan de igual manera que un cuerpo lúteo, suprimiendo la liberación de gonadotropinas hipofisarias, al eliminar el tratamiento de los progestágenos se produce la liberación de estas hormonas, lo cual estimulará el crecimiento y desarrollo folicular y por consiguiente la ovulación. El estro se presenta de 2 a 3 días después de haber suprimido el tratamiento. Existen diferentes presentaciones para los progestágenos que se pueden utilizar en la sincronización de celos, dentro de los más comunes podemos encontrar los pesarios o esponjas intravaginales, dispositivos CIDR e implantes subcutáneos (Evans y Maxwell, 1990).

Las esponjas intravaginales fueron desarrolladas en Australia y pueden estar impregnadas de dos tipos de progestágenos sintéticos: acetato de medroxiprogesterona o bien acetato de fluorogestona. Las esponjas se introducen en la vagina con ayuda de un aplicador. Antes de su colocación, las esponjas deben ser tratadas con antibióticos en polvo o crema y el aplicador también debe ser desinfectado con solución antiséptica. Las esponjas se retiran después de que haya transcurrido el tiempo recomendado, cada esponja intravaginal tiene incorporada una cuerda o hilo para tirar de ella y facilitar su extracción al finalizar el tratamiento (Aitken, 2007).

Los implantes subcutáneos impregnados con progestágenos (norgestomet), son también una buena opción para sincronizar estros, sin embargo, poseen algunas desventajas,

puesto que no es tan sencilla su adquisición. Por lo general se colocan bajo la piel, en la oreja, en el hoyuelo de la pata delantera (Aguilar, 2010; Hameed *et al.* 2021).

Actualmente **los dispositivos CIDR**, (Controlled Internal Drug Releasing) se consideran uno de los métodos más sencillos y eficientes a utilizar para la sincronización de estros, tanto en ovejas cíclicas, en transición y anoéstricas. Se trata de un elastómero de silicón, desarrollado en Nueva Zelanda, con un contenido de 300mg de progesterona natural. El dispositivo en forma de “T”, se inserta en la vagina de la hembra con ayuda de un aplicador, cada dispositivo posee una continuación de plástico que permanece de manera externa después de la aplicación, que una vez finalizado el tratamiento facilitará la extracción del dispositivo. Dentro de las principales ventajas que presentan este tipo de dispositivos, destaca una menor presencia de descargas vaginales y mayor facilidad de extracción (Swelum *et al.*, 2015; Swelum *et al.*, 2019; Hameed *et al.*, 2021).

2.5.2.2 Método de prostaglandinas

Las prostaglandinas pertenecen a un grupo de ácidos grasos poli-insaturados, cuyo precursor es el ácido araquidónico. Desde el punto de vista reproductivo las prostaglandinas de mayor importancia son: la $PGF_2\alpha$ y la prostaglandina E2. La $PGF_2\alpha$ es liberada por las células endometriales del útero, actuando sobre el cuerpo lúteo, provocando la luteólisis, lo que genera una reducción de progesterona, posteriormente incrementaran los niveles de estrógenos, produciendo los signos de celo y la ovulación. La prostaglandina se administra por vía intramuscular lo que facilita su metabolización y aplicación (Bottaro, 2009; Hernández y Cruz, 2020). Para que la prostaglandina pueda actuar sobre el cuerpo lúteo, este debe tener cierto estado de madurez, es por ello que en ocasiones una sola dosis de prostaglandinas, no es suficiente para efectuar la sincronización, ya que es posible que el cuerpo lúteo aun no haya alcanzado la madurez requerida, a fin de contrarrestar esta situación, algunos autores recomiendan utilizar dos dosis de $PGF_2\alpha$ con un intervalo de 9 a 14 días mejorando notablemente los resultados sobre la sincronización. Debido a su mecanismo de acción, para que la $PGF_2\alpha$ sea efectiva, es necesario que exista un cuerpo lúteo preexistente sobre el cual

pueda actuar, es por ello que únicamente es aplicable a hembras con ciclo sexual activo (Torres, 2013).

2.5.2.3 Administración de eCG

La gonadotropina coriónica equina (eCG) anteriormente conocida como PMSG, se utiliza ampliamente en protocolos de sincronización, puesto que posee funciones similares a las de las hormonas FSH y LH, su aplicación involucra respuesta en la estimulación y simultaneidad del crecimiento folicular, maduración de los folículos y ovulación (Hameed *et al.*, 2021). Su utilización está asociada a tratamientos con progestágenos, aplicándose por lo general al final del tratamiento. Los animales sincronizados con progestágenos y eCG, poseen una mayor respuesta ovulatoria (Gutiérrez, 2006).

2.6 Métodos de recolección de semen

Para efectuar la inseminación artificial es necesario disponer de un banco de semen, ya sea fresco, refrigerado o congelado, el cual puede ser obtenido por medio de un electroeyaculador o bien utilizando una vagina artificial, siendo ésta última la más recomendada, puesto que permite eyaculados con considerable concentración espermática y alta motilidad, además de no generar estrés considerable al animal (Cueto *et al.*, 2016).

2.6.1 Vagina Artificial

Para emplear este método es necesario que el semental tenga previo adiestramiento, ya que es necesario acostumbrarlo a saltar en la vagina artificial en presencia de un operador (figura 1). De lo contrario se dificultará la obtención del semen, para lo cual es necesaria la presencia de una hembra en celo o un maniquí (Cueto *et al.*, 2016).

La vagina artificial es un dispositivo que reúne características similares a las de la vagina de una hembra, principalmente las condiciones de temperatura y presión. Cueto *et al.*, (2016) mencionan que está compuesta por un cuerpo externo generalmente de plástico rígido, aunque en algunas ocasiones puede ser de metal, el cual posee una válvula de dos vías, una para

introducir aire y otra para introducir agua caliente; una funda interna de goma de látex (liner), que se asegura al cuerpo de la vagina por medio de ligas; un cono colector de plástico y un tubo de ensayo o de centrifuga, graduado para medir el volumen del eyaculado (figura 2).



Figura 3. Colecta de semen utilizando vagina artificial.



Figura 2. Componentes de una vagina artificial

Una vez conformada la vagina artificial, se carga con agua caliente alrededor de los 50°-40°C, dependiendo de las pérdidas de calor que se generen hasta el momento de su utilización, ya que al momento de realizar la colecta de semen es necesario que se encuentre entre los 42-45°C, finalmente se introduce el aire, para generar la presión requerida. (Evans y Maxwell, 1990).

Para efectuar la recolección de semen se debe contar con espacio limpio, libre de heces y polvo, inicialmente se realiza una desinfección del prepucio del semental, recortando lo pelos aledaños a la zona, con la finalidad de evitar la contaminación del semen.

El semental se acerca a la hembra en celo o al maniquí, una vez que ha alcanzado la erección y realice el salto sobre la hembra, el pene se desvía y se introduce a la vagina artificial donde ocurrirá la eyaculación (figura 3). Una vez el semen se encuentre dentro del tubo colector debe protegerse de la luz y llevarse a un lugar adecuado para su posterior evaluación (Parraguez *et al.*, 2000).



Figura 4. Extracción de semen con vagina artificial y maniquí.

2.6.2 Electroeyaculador

Se utiliza principalmente cuando no ha sido posible entrenar al carnero para recolección utilizando vagina artificial o se encuentran imposibilitados para utilizarla. Este método consiste aplicar estímulos eléctricos sobre el piso de la pelvis hasta generar la eyaculación, para lo cual se emplea un dispositivo electrónico compuesto por una fuente generadora de energía eléctrica, que a través de un transductor o sonda conduce impulsos eléctricos a una determinada frecuencia y voltaje (10-15 voltios), dicho transductor posee los electrodos que permitirán el paso de la energía eléctrica a el animal, se requiere también de un cono recolector del semen en el cual se recolectará el semen una vez se lleve a cabo la eyaculación (Yamasaki *et al.*, 2005).

Para efectuar el proceso de colección de semen se debe colocar al carnero en posición de decúbito lateral sobre una superficie limpia, realizar desinfección del área del prepucio; se agrega lubricante al transductor y se introduce en el recto a una profundidad de 15-20 cm; se exterioriza el pene a través del desdoblamiento de la flexura sigmoidea de tal manera que el glande del pene pueda sostenerse con las manos; se coloca una gasa por detrás del glande y se introduce junto con el proceso uretral dentro del cono recolector; se deben aplicar estímulos

cortos (3-8 segundos) a intervalos de 15-20 segundos, posterior a algunos estímulos fluirá en un inicio la secreción de las glándulas accesorias y posteriormente el semen (Evans y Maxwell, 1990). Generalmente el semen obtenido a través de este método suele ser de menor calidad, además de generar estrés a los carneros. (Parraguez *et al.*, 2000)

2.7 Requisitos necesarios de la muestra de semen para ser utilizada en inseminación artificial.

Antes de utilizar el semen de un eyaculado para inseminación artificial, este debe ser evaluado, con la finalidad de asegurar que cumpla con las características de calidad necesarias para su utilización. Una correcta evaluación de semen contempla los aspectos tanto macroscópicos como microscópicos (Gibbons y Cueto, 1995).

Macroscópicamente los principales elementos a evaluar son: **color**, debe ser blanco-lechoso o cremoso pálido, también conocido como aperlado, una coloración distinta significa que la muestra está contaminada y no se recomienda su utilización; **olor**, el semen debe tener un olor suigeneris, es decir, propio de sí (Parraguez *et al.*, 2000); **volumen**, en la especie ovina tiene una variación de 0.5 a 2ml por eyaculado, dependiendo de la edad, tamaño y condición corporal del carnero, un volumen promedio de 1.2ml por eyaculado, es considerado dentro del rango adecuado para la inseminación artificial (Hernández, 2018).

Microscópicamente los factores más importantes a considerar son: motilidad en masa, motilidad individual o progresiva y concentración. El movimiento espermático es un factor de suma importancia en la IA, ya que en base a él se determina la capacidad de los espermatozoides para transportarse a través del tracto genital de la hembra y conseguir la fecundación. El movimiento espermático de un eyaculado, se puede evaluar a través de la motilidad en masa y la motilidad individual o progresiva (Carvajal *et al.*, 2018).

La **motilidad en masa** se estima de manera subjetiva tomando en cuenta el vigor de las ondas espermáticas del semen sin diluir, su evaluación se realiza utilizando una escala de 0 a 5 (0, vigor mínimo; 5, vigor máximo). Para que un eyaculado sea considerado de calidad y apto para IA, la motilidad en masa debe encontrarse entre 4 y 5 (Cueto *et al.*, 2016).

La **motilidad individual o progresiva** se evalúa una vez el semen ha sido diluido, calculando el porcentaje de espermatozoides con movimiento progresivo, la valoración al igual que en el caso anterior, es subjetiva, tomando en cuenta aquellos espermatozoides que tienen un movimiento rápido y rectilíneo, es decir, hacia adelante, siendo estos los que atraviesan el campo de observación (Gómez y Migliorisi, 2007). Para considerar el semen de un eyaculado en IA, este debe tener una motilidad individual mayor del 70% (Ruiz *et al.*, 2015).

La concentración espermática se refiere al número de espermatozoides por unidad de volumen, uno de los métodos para determinarla es a través del recuento en cámara de Neubauer, para efectuar la dicha evaluación, es necesario diluir el semen a razón de 1:200 en solución salina formulada 2% o agua común, para después homogenizar la mezcla, con la finalidad de que los espermatozoides mueran y puedan contabilizarse fácilmente, una vez cargada la cámara y transcurrido el tiempo suficiente para que los espermatozoides decante, se coloca bajo el microscopio, para proceder a realizar el conteo. Esta técnica es considerada una de las más exactas para determinar la concentración espermática, pero posee la desventaja de requerir tiempo y dedicación para efectuar el conteo (Gómez y Migliorisi, 2007).

El semen de un carnero de buena calidad posee una concentración espermática de 3,5-6,0 mil millones de espermatozoides por mililitro. Según Gibbons y Cueto (1995) para efectuar la inseminación artificial se requiere de una concentración mínima de 100 a 150 millones de espermatozoides totales por dosis para inseminación cervical. Mientras que para la inseminación vaginal son necesarios de 300-350 millones de espermatozoides (Evans y Maxwell, 1990).

2.8 Conservación de Semen

La conservación del semen está sujeta al tiempo que transcurre desde que se obtiene hasta que se utiliza (Parraguez *et al.*, 2000). El semen fresco se preserva a una temperatura entre 17-21°C manteniendo su viabilidad por hasta 6 horas ya sea puro o diluido; el semen enfriado se preserva a 15°C conservando su viabilidad de 6 a 12 horas; el semen refrigerado podrá conservarse por el transcurso 12 a 24 horas a una temperatura de 5°C; el semen congelado se conserva, en termos de nitrógeno líquido a -196°C, por tiempo indefinido.

Cueto *et al.*, (2016) mencionan que cuando el semen se pretende enfriar, refrigerar o congelar para su posterior utilización, requiere ser diluido, proporcionando los medios necesarios para que su conservación sea adecuada, disminuyendo los riesgos de afección a la viabilidad del mismo, además de ello, el diluyente ayuda a incrementar el volumen del eyaculado con la finalidad de obtener las dosis necesarias para la IA.

Un buen diluyente de semen debe contener: al menos una fuente de energía, ya sea, citrato de sodio, fructosa, sacarosa, rafinosa, entre otras; capacidad buffer; debe ser isotónico; con pH neutro; debe brindar protección a los espermatozoides ante el daño criogénico, para lo cual se utilizan materiales como yema de huevo de gallina, glicerol, leche descremada; debe contener también antibióticos como lincomicina, estreptomycin, dihidroestreptomycin, penicilina sódica, polimixina B, que inhiban el crecimiento de posibles elementos bacterianos contaminantes (Parraguez *et al.*, 2000).

2.9 Principales diluyentes utilizados en inseminación artificial

Los extensores para semen fresco, enfriado, refrigerado y congelado, pueden ser sintéticos en base a TRIS o citrato, glucosa o fructosa y yema de huevo, o naturales en base a leche descremada en polvo (Cueto *et al.*, 2016). Dentro de los diluyentes comerciales para semen más comunes se encuentran.

2.9.1 AndroMed® (Minitube, Alemania)

Es un extensor de semen a base de lecitina de soya, libre de ingredientes de origen animal, compuesto de fosfolípidos, TRIS, ácido cítrico, azúcares, antioxidantes, tampones, glicerina, agua de altísima pureza y antibióticos, de acuerdo a la Directiva de la UE 88/407 (Tilosina, Gentamicina, Espectinomycin, Lincomicina). Para su preparación se utiliza únicamente agua bidestilada, siguiendo las instrucciones impresas en la botella. Es apto para utilizarse en diferentes tipos de rumiantes como el bovino, caprino y ovino (Carballo *et al.*, 2009).

2.9.2 BioXcell® (IMV Technologies, España)

Diluyente a base de proteína vegetal, para semen bovino, utilizable también en caprinos y ovinos. Gracias a que se encuentra libre de proteínas de origen animal, reduce los riesgos metabólicos y sanitarios producidos por el uso de leche y/o yema de huevo. Para su preparación se requiere de agua bidestilada, siguiendo las instrucciones impresas en la etiqueta del producto. Contiene una mezcla antibiótica de lincomicina, espectinomicina, gentamicina y tilosina, respetando la Directiva de la UE 88/407 (Cessa, 2014).

2.9.3 INRA 96® (IMV Technologies, Francia)

Diluyente de semen equino, también utilizable en ovinos, fabricado a partir de fracciones purificadas de la leche, formulado con compoentes como sales de Hanks, glucosa, lactosa, rafinosa, fosfocaseína, citrato sódico, citrato potásico y leche desnatada, contiene antibióticos (penicilina y gentamicina) y un fungicida (anfotericina B). Es un producto estéril que posee la ventaja de estar formulado y listo para utilizarse directamente, sin la necesidad de recurrir a una preparación previa anterior a la dilución con el semen (Restrepo *et al.*, 2014; Val, 2012).

2.9.4 Piedra mora® (2008)

Extensor de semen ovino, elaborado en base a leche descremada UTH, 5% agregado de yema de huevo fresco de gallina, 2% de glicerol, y antibióticos (100.000 UI de penicilina G sódica y 0,1 gr. de dihidroestreptomomicina en 100. ml. También representado como “UHT-5Y-2G, debido a su composición (Olivera *et al.*, 2007; Bottaro, 2009).

2.9.5 Triladyl® (Minitube, Alemania)

Lanzado al mercado en 1974, este extensor es ampliamente utilizado para diluir semen de bovino, aunque también es útil en ovinos, caprinos, camélidos y caninos. Se trata de un concentrado formulado a base de TRIS (hidroxi-metil aminometano), amortiguador sintético, además de contener glicerol, agua bidestilada, citrato de sodio, fructosa, ácido cítrico y antibióticos (por cada 100 ml contiene: tilosina 5mg, gentamicina 25mg, espectinomicina 30 mg y lincomicina 15mg), respetando la Directiva de la UE 88/407. Para su preparación se

requiere agregar tres partes de agua bidestilada, una parte de yema de huevo fresco de gallina, y una parte del concentrado comercial (Triladyl®) (Carballo, 2009).

Cruz (2014), en su “estudio comparativo de 3 diluyentes (Tris, Citrato de sodio y Triladyl) en el procesamiento de semen bovino”, menciona que existe una diferencia significativa positiva respecto a la motilidad inicial y motilidad post-descongelamiento en el Triladyl comparado con el citrato de sodio y el Tris, concluyendo, por lo tanto, que es el mejor de los tratamientos.

Carballo (2009) en el trabajo de investigación “Comparación de dos diluyentes comerciales para criopreservar semen de bovino bajo condiciones de campo en el trópico húmedo”, concluye que el semen congelado de bovino diluido con Triladyl produce una motilidad espermática post-descongelación mayor que el semen congelado diluido con Andromed.

Pérez (2019) en su estudio comparativo de tres diluyentes de semen bovino (Triladyl, Andromed y Optidyl) para su criopreservación, infiere que numéricamente y tendencialmente el Triladyl presentó mejor respuesta en el porcentaje de recuperación de motilidad espermática

2.10 Inseminación artificial en ovinos

Es una técnica reproductiva que consta de la recolección artificial del semen del carnero, para posteriormente ser depositado en el tracto reproductivo de las hembras, mediante algún método distintivo a la copula y se pueda llevar a cabo la fecundación de los óvulos maduros. El aprovechamiento de los reproductores se incrementa de manera notable por medio de la inseminación artificial, puesto que, permite difundir las características productivas deseables, ya que, un correcto fraccionamiento del semen permite obtener considerables cantidades de dosis por eyaculado, lo cual, hace posible obtener del mismo progenitor un gran número de crías (Gibbons y Cueto, 1995; Gibbons y Cueto, 2007).

La Inseminación Artificial (IA) es la mejor herramienta utilizada por el hombre para implementar control sanitario y mejoramiento genético, puesto que hace posible la diseminación de reproductores sanos, calificados, y que han probado ser mejoradores, de manera eficiente y rápida (Latorre y Sales, 2000).

Es necesario considerar diversos factores característicos de los ovinos, puesto que algunos de ellos afectan directamente la fertilidad e incluso la factibilidad de la inseminación artificial. Cáceres y Mogollón (2017) mencionan que, los principales factores que afectan los porcentajes de preñez en borregas inseminadas artificialmente son: la morfología del cérvix, calidad del semen, la edad de los animales y el tipo de técnica implementado para la IA, por ello, además de poner especial atención en los métodos de dilución y conservación de semen, se debe considerar las características anatómicas complejas del cuello uterino de la hembra, ya que éste dificulta el paso transcervical constante de los instrumentos de inseminación (Halbert *et al.*, 1990).

Con la finalidad de contrarrestar este tipo de dificultades, se han desarrollado diversas técnicas para efectuar la IA, las cuales según Bottaro (2009) pueden clasificarse de acuerdo a lugar donde será depositado el semen, contemplando la IA vaginal, cervical e intrauterina. Franco *et al.*, (2014) mencionan que cuando el semen es depositado a mayor profundidad dentro del tracto reproductivo, mayor serán las tasas de fertilidad obtenidas. Desafortunadamente la IA en los ovinos no esta tan extendida como en otras especies, principalmente porque los resultados en la fertilidad además de ser bajos son irregulares, esto se debe a factores tanto propios de la hembra y el semental, como a aquellos relacionados con el ambiente en el que se encuentren (Anel *et al.*, 2006).

2.10.1 Inseminación vaginal

El equipo requerido para la IA vaginal consta de: una pipeta de plástico con la punta rígida, conectada a una jeringa con capacidad de 1.0ml, que permiten la fácil extracción y expulsión del semen. La inseminación artificial vaginal es un proceso simple que consiste en: colocar a la hembra en una prensa de manejo, en caso de no contar con una se sujeta a la oveja

de pie y se recarga contra un muro o valla, con la finalidad de inmovilizarla durante el proceso; se debe limpiar la vulva del animal con papel, gasa o algodón impregnado con solución antiséptica, para evitar que se contamine la vagina al introducir la pipeta, la cual debe ser cargada inicialmente con aire hasta la marca de 0.2ml y posteriormente con la dosis de semen determinada, la función del aire es ayudar a expulsar completamente el semen de la jeringa (Maxwell y Hewitt, 1986; Oviedo, 2009).

La pipeta de inseminación se introduce cuidadosamente deslizando la punta a través de la pared superior de la vagina, ya que podría introducirse accidentalmente en la uretra si se desliza por la parte inferior o piso de la vagina, se procura alcanzar la mayor profundidad posible para finalmente depositar el semen presionando el embolo de la jeringa y una vez expulsado completamente retirar la pipeta. Se efectúa sin realizar algún intento de localizar el cérvix y generalmente no se utiliza espejo o vaginoscopio, es por ello que también se le conoce como disparo en la oscuridad (Evans y Maxwell, 1990).

De acuerdo a Bottaro (2009) dentro de las ventajas de utilizar esta técnica de IA destaca, ser un método sencillo, ya que requiere menor cantidad de equipo y habilidad por parte del personal a inseminar, además de ser recomendable para hembras vírgenes o para aquellas que su estrechez no permita el paso de un vaginoscopio. Las desventajas más importantes a considerar son: los porcentajes de fertilidad obtenidos con esta técnica son bajos independientemente del tipo de semen utilizado, además de requerir dosis de semen más elevadas en comparación con otros métodos de IA.

2.10.2 Inseminación vaginal con cápsulas

Con la finalidad de desarrollar métodos de inseminación efectivos, de operación sencilla, que reduzcan el estrés al que son sometidos los animales durante el proceso, cuyos materiales, equipo y costos de ejecución sean accesibles y que además generen porcentajes de fertilidad aceptables, se han realizado diversos estudios que involucran la implementación de técnicas y materiales no tan conocidos en el ámbito.

En 1957, TMS Chang informa por primera vez sobre la micro-encapsulación de material biológicamente activo. En 1964 describe los métodos más efectivos que encontró para realizar las micro-cápsulas, reportando los resultados que obtuvo, para 1966 reporta la utilización de proteínas reticuladas para encapsular células vivas, proponiendo su utilización para los hepatocitos y las células de los islotes pancreáticos (Nebel *et al.*, 1996; Chang, 1998).

Ante la necesidad de extender el tiempo de viabilidad de los espermatozoides una vez dentro del tracto reproductivo de la hembra, con la finalidad de disminuir su susceptibilidad a la fagocitosis por los leucocitos y a la acción retrograda del útero, siguiendo la misma ideología propuesta por Chang, el procedimiento de microencapsulación para células de los islotes pancreáticos, fue adaptado para células espermáticas del semen bovino, reportando insignificantes lesiones provocadas a la encapsulación. En un estudio sobre micro-encapsulación de espermatozoides bovinos para uso en inseminación artificial se menciona que los espermatozoides encapsulados son capaces de fertilizar *in vivo*, pero pueden estar en desventaja con los espermatozoides no encapsulados, cuando las hembras son inseminadas en tiempos convencionales en relación con el estro y la ovulación (Nebel *et al.*, 1993; Nebel *et al.*, 1996).

Además de las micro-cápsulas de espermatozoides, se han realizado diversos estudios enfocados en la prolongación de la vida útil del semen. Thanawala *et al.*, (1988) encontraron que las cápsulas de gelatina dura resultaron ideales para envasar y dosificar semen de toro, sin embargo, reportan que dichas cápsulas requieren algunas mejoras adicionales, puesto que se encontró que la tapa de las cápsulas no tenía función hermética, lo que genera que, después de la inmersión en el nitrógeno líquido el semen quede expuesto a la contaminación.

Tayupanta y Villafuerte (2022), mencionan la utilización de cápsulas elaboradas con almidón de yuca polimerizadas, como alternativa para envasar el contenido seminal durante el proceso de crio-preservación de semen equino, reportando resultados satisfactorios, puesto que la estructura morfológica de la cápsula se mantuvo estable en condiciones de crio-preservación, a temperaturas de -196°C , por un periodo de 6 semanas, además el contenido de las cápsulas se mantuvo aislado e inocuo, ya que ninguna cápsula presentó algún tipo de fuga, mencionan

también que tanto las características microscópicas como macroscópicas del semen diluido, se mantuvieron dentro de parámetros aceptables y sin perder la capacidad de fertilización.

Davis *et al.*, (1940) describen un método de inseminación artificial vaginal en bovinos mediante la utilización de cápsulas de gel para envasar el semen, posteriormente con ayuda de una pistola de inseminación accionada desde un extremo descargar la cápsula en la vagina de la hembra, sin embargo, este estudio reportó porcentajes de concepción menos eficientes utilizando IA vaginal con cápsulas de semen en comparación con la inseminación cervical.

2.10.3 Inseminación cervical

La inseminación cervical es el método mayormente utilizado gracias a los bajos costos que representa, también conocido como método tradicional de inseminación artificial en cabras y ovejas, generalmente se efectúa con semen fresco, el cual puede o no ser diluido. (Evans y Maxwell, 1990).

A través de éste método, el semen se pretende depositar hasta 3 cm dentro del cérvix, para lo cual es necesario colocar a la hembra sobre un potro o barra, con el tren posterior elevado y los miembros posteriores apoyados sobre la barra. Se procede a limpiar la vulva con papel o algodón impregnados con solución antiséptica, posteriormente se aplica lubricante tanto en la vulva como en el vaginoscopio, lo que facilitará la introducción lenta y cuidadosa del mismo, hasta el fondo de la vagina, si se observa algún tipo de material extraño, éste debe eliminarse antes de efectuar la IA, utilizando la fuente de luz se ubica el orificio de entrada al cérvix. La pipeta de inseminación debe estar previamente cargada por el personal auxiliar, dejando una cámara de aire de 0,2ml, para garantizar la expulsión del semen, una vez lista, el inseminador conducirá cuidadosamente la pipeta hasta el orificio cervical, donde la introducirá mediante suaves movimientos giratorios, lo más profundamente posible, hasta donde presente resistencia (figura 4). A continuación, se deposita el semen presionando el émbolo de la jeringa, ya que el semen ha sido depositado se retira en primer lugar la pipeta de inseminación y posteriormente el vaginoscopio (Evans y Maxwell, 1990; Gibbons y Cueto, 1995; Maxwell y Hewitt, 1986). Cabe destacar que las ovejas deben manipularse rápida y cuidadosamente, procurando causar el menor grado de estrés posible (Gibbons y Cueto, 1995).

Según Evans y Maxwell (1990) con el uso de ésta técnica, cuanto mayor sea la profundidad a la que es depositado el semen, mayor será la tasa de fertilidad. Eppleston *et al.*, (1994) reportan un aumento en la fertilidad del 7 a 12% por cada centímetro añadido en la profundidad de la inseminación. Gibbons y Cueto (1995) manejan porcentajes de preñez alcanzados entre 60 y 70%. Gutiérrez (2006) menciona porcentajes de fertilidad entre el 40 a 70% utilizando semen fresco en la IA cervical. Naim *et al.*, (2009) reportan porcentajes de preñez del 32% con semen refrigerado durante 12h y 11% de preñez en ovejas inseminadas con semen preservado durante 24h.

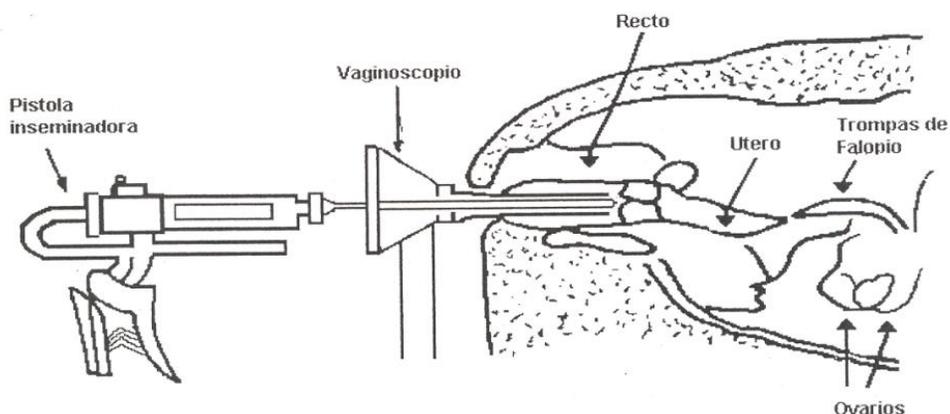


Figura 5.Esquema de inseminación cervical en ovinos. Fuente: Gutiérrez, 2006.

2.10.4 Inseminación transcervical

Según Halbert (1990), la inseminación intrauterina transcervical, es un método no comercial, mediante el cual se coloca a la hembra en decúbito dorsal, con ayuda un espejulo se dilata la vagina, utilizando un fórceps o pinzas se sujeta el cuello uterino y se retrae, posteriormente se introducen los instrumentos de inseminación en el canal cervical y se deposita el semen. Desafortunadamente las tasas de fertilidad se ven negativamente afectadas por el estrés generado durante el proceso de sujeción y manejo de las hembras, además, de no realizarse cuidadosamente, se puede ver comprometida la capacidad reproductiva del animal en el futuro.

2.10.5 Inseminación intrauterina por laparoscopia

De acuerdo a Hidalgo *et al.*, (2015) con la finalidad de obtener tasas de fertilidad más elevadas, se desarrolló el método de inseminación artificial intrauterina por laparoscopia (IAL), el cual consiste en depositar el semen directamente en el lumen de los cuernos uterinos, mediante una cirugía menor conocida como laparoscopia medio-ventral (figura 5). Dicha técnica favorece la utilización de sementales con alto valor genético, puesto que requiere dosis más reducidas de semen en comparación con otras técnicas de IA, además de mostrar resultados satisfactorios tanto en semen congelado como en semen fresco.

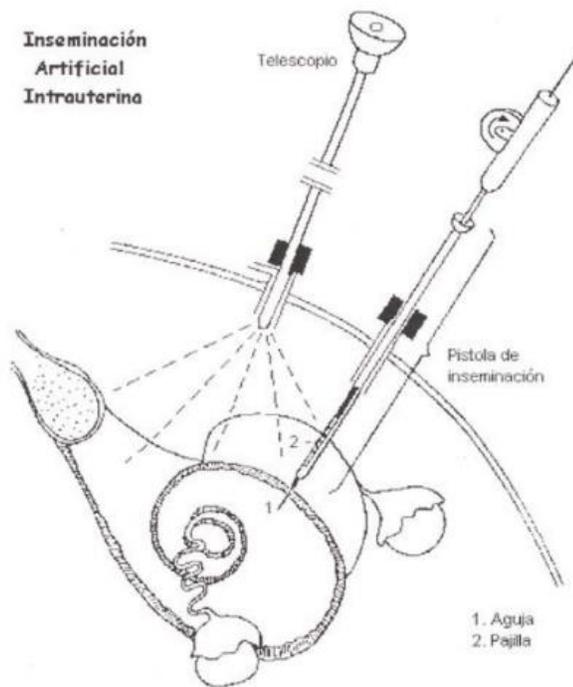


Figura 6. Esquema inseminación intrauterina en ovinos. Fuente: Gutiérrez 2006.

Esta técnica de inseminación posee la desventaja de generar costos más elevados en comparación con las otras técnicas, ya que requiere de material especializado y personal con alta capacitación, puesto que es una cirugía, de no realizarse adecuadamente, se pone en riesgo tanto la efectividad de la técnica como la seguridad del animal (Gibbons y Cueto, 1995).

2.11 Tiempos y número de dosis recomendados para inseminación artificial en ovinos

Para obtener buenos resultados con la inseminación artificial, es necesario tener en cuenta la duración de del estro y el momento de la ovulación, con la finalidad de planificar la IA lo más acertadamente posible. Normalmente el estro tiene una duración de 24-42 horas y la ovulación por lo general se presenta 25-30 horas después de la aparición del estro. En hembras con estro largo la ovulación se presenta antes del final del estro, en hembras con estro corto la ovulación puede aparecer hasta el final de este. Los cambios físicos y de volumen del mucus vagino-cervical, pueden ayudar para orientarse respecto al estadio del estro en el que se encuentra la hembra (Evans y Maxwell, 1990).

Además de ello, el momento de inseminación varía según el método de inseminación que se pretenda utilizar, cuando el método de inseminación se efectuara por vía vaginal, es recomendable realizarla 12-18 horas después del inicio del estro; para la inseminación cervical si previamente se realizó la sincronización de estros con presarios vaginales y suplementación de eCG, la ovulación se presentará en la mayor parte de las hembras alrededor de las 60 horas posteriores al retiro de los presarios, es importante realizar la inseminación antes de la ovulación pero muy próxima a ella, por lo que de 48-58 horas posteriores al retiro del presario es considerado el momento óptimo para la IAC; la inseminación intrauterina suele realizarse utilizando dosis reducidas de semen congelado, el tiempo recomendable para efectuarla es alrededor de las 60-66 horas después de retirar el presario. En condiciones de campo se suele inseminar en una sola ocasión, con la finalidad de incrementar los porcentajes de fertilidad su puede inseminar una segunda ocasión 8-12 horas después. El número mínimo de espermatozoides móviles para inseminación vaginal es de 300-350 millones de espermatozoides por dosis; para inseminación cervical es recomienda de 100-150 espermatozoides móviles por dosis, mientras que para la inseminación intrauterina vía laparoscópica es necesario un mínimo de 20 millones de espermatozoides móviles (Evans y Maxwell, 1990).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción del sitio experimental

El estudio se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina (CEIEPO), perteneciente a Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM (figura 6). Situado en el Km 53.1 de la Carretera Federal México-Cuernavaca, en el poblado de Tres Marías, Municipio de Huitzilac, Estado de Morelos, cuyas coordenadas geográficas son 19°02' de latitud norte y 99°16' longitud oeste, con una altitud de 2810 msnm.

El clima de la región es Cb (m)(w)ig, correspondiente a templado semifrío con verano fresco y largo, la temperatura media anual es de 9.9°C, el periodo de lluvias comprende los meses de mayo a octubre, con una precipitación pluvial de 1725 mm anuales (García, 2004; Acevedo, 2006)



Figura 7. Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina.

3.2 Manejo de los animales

Sincronización del ciclo estral

Durante los meses de agosto a septiembre (época de empadre en el centro), un total de 56 hembras ovinas sanas, de las razas Hampshire, Suffolk, Dorset, Katahdin y cruza con diferentes proporciones de Katahdin, en edades de entre 2 y 8 años, distribuidas en 3 grupos experimentales, fueron sincronizadas con dispositivos de liberación interna controlada de progesterona (CIDR[®], Zoetis, Nueva Zelanda), con un contenido de 300 mg de progesterona natural, dichos dispositivos se colocaron vaginalmente durante 12 días y a su retiro se administraron 200 UI de eCG por vía intramuscular (Novormon[®] 5000, Zoetis).

Inserción del CIDR

Se utilizó un aplicador desinfectado con solución antiséptica para facilitar el proceso, previo a introducir los CIDR, estos se desinfectaron con nitrofurazol en pomada (Furacin[®]), una vez colocado en el aplicador, este se coloca vaginalmente introduciéndolo inicialmente en un ángulo de 40° y después de manera recta, posterior a la aplicación, se verifico la posición del dispositivo y se monitoreo en los días posteriores (figura 7).



Figura 8. Inserción de dispositivo CIDR.

Retiro del CIDR

Transcurridos 12 días de tratamiento con los dispositivos CIDR, estos se retiraron de manera manual, ejerciendo tracción por la parte de plástico del dispositivo ubicada externa a el animal, posterior al retiro se suministraron 200 UI de gonadotropina coriónica equina por vía intramuscular.

Detección de estros

La detección de estros conductuales se efectuó 24 horas después de suprimir el tratamiento de sincronización, para lo cual se introdujo machos celadores a los lotes de borregas (figura 8). Aquellas hembras que manifestaron inmovilidad al ser montadas por alguno de los machos celadores, se les consideró en celo, se les colocó una marca y se registró el número de identificación.



Figura 9. Detección de estros conductuales utilizando machos celadores.

Manejo del semen.

Durante los meses de agosto a septiembre (época de empadre en el centro), se utilizaron 6 machos adultos de las razas Hampshire, Suffolk, Katahdin y Dorset. La recolección de semen se efectuó utilizando una vagina artificial, con ayuda de un maniquí o una hembra en celo.

La vagina utilizada fue tipo francesa, compuesta por un cuerpo rígido con dos válvulas, liner o funda interna, cono y tubo recolector. La funda interna se fijó al cuerpo utilizando ligas,

una vez conformada se añadió agua caliente y aire. Se realizó limpieza en el área del prepucio a el animal, utilizando papel toalla y solución desinfectante (figura 10), posteriormente se efectuó la colecta del semen (figura 9).



Figura 11. Limpieza del área del prepucio a semental próximo para extracción de semen.



Figura 10. Extracción de semen a carnero.

Una vez obtenido el semen, se procedió a la evaluación macroscópica y microscópica del mismo, tomando en cuenta principalmente, el volumen, el cual fue medido directamente desde el tubo colector; motilidad (figura 11), evaluada subjetivamente y concentración espermática, determinada a través de recuento en cámara de Neubauer (figura 12). Los valores promedio de las variables evaluadas en los diferentes carneros fueron los siguientes: volumen de eyaculado de 1.83ml; motilidad progresiva del 86% y concentración espermática de 319 espermatozoides por dosis.

El extensor Triladyl® (Minitube, Alemania), diluyente comercial, se preparó con anticipación a la recolección del semen (figura 13). Para lo cual se utilizó 1 parte del diluyente comercial, 3 partes de agua bidestilada y una parte de yema de huevo fresco, una vez listo se colocó a baño maría hasta el momento de su utilización, con la finalidad de mantenerlo a una temperatura similar a la del semen recolectado y evitar un shock de temperatura, lo que reduciría la fertilidad.



Figura 12. Evaluación de motilidad al semen extraído.

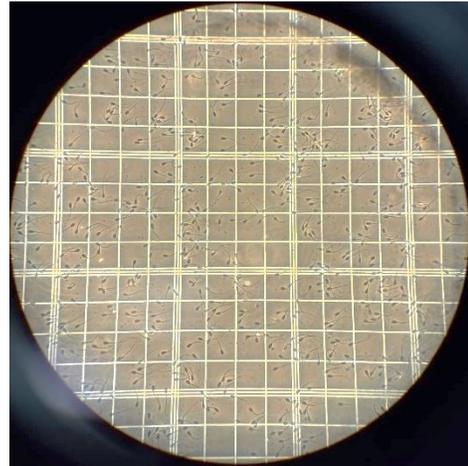


Figura 13. Conteo de espermatozoides cámara de Neubauer.

Posterior a su evaluación, el semen de cada colecta fue diluido en el extensor previamente preparado, hasta conseguir un volumen final de 7ml (figura 14), necesario para obtener las dosis requeridas, finalmente, el semen diluido se colocó en un refrigerador doméstico a 5°C por un periodo de 2 horas, hasta el momento de la inseminación, donde éste se envasó en cápsulas de celulosa con capacidad de 1ml.



Figura 17. Preparación de diluyente Triladyl.



Figura 14. Dilución de eyaculado.

Técnica de inseminación

Los materiales necesarios para efectuar la IA, constan de: cápsulas de celulosa con capacidad de 1ml (figura 15), una hielera y refrigerantes, necesarios para trasladar el semen al lugar donde se llevará a cabo la IA y mantenerlo a la temperatura adecuada; tubos colectores

con el semen previamente diluido y refrigerado; aplicadores, uno por cada hembra (se utilizaron aplicadores de cremas vaginales limpios y desinfectados, adecuados al tamaño de las cápsulas); lubricante, jeringas de insulina, sanitas o papel toalla, bandeja para colocar los aplicadores usados (figura 16). Además, se utilizó también cloruro de benzalconio diluido con agua como solución desinfectante.



Figura 21. Materiales necesarios para realizar inseminación artificial vaginal con cápsulas de semen.



Figura 20. Cápsulas de celulosa con capacidad de 1ml.

Una vez transcurrido el tiempo necesario para efectuar la IA, los materiales fueron trasladados a un lugar limpio donde se llevó a cabo el proceso, iniciando con la sujeción e inmovilización de la hembra, con papel toalla impregnado de solución desinfectante se realizó la limpieza de la vulva y se colocó lubricante sobre la parte externa de la misma (figura 17).

Con ayuda de la jeringa de insulina se succionó del tubo colector 0.7ml de semen (figura 18), el cual fue envasado en la cápsula de celulosa, que posteriormente se colocó en un extremo del aplicador (figura19), este se introdujo en la vagina de la oveja y se acciono presionando el embolo para depositar la cápsula (figura 20), una vez aplicada la cápsula el aplicador fue colocado en una bandeja con solución desinfectante y se aplicó una marca a la hembra, dicho proceso se realizó con el resto de las hembras.



Figura 25. Limpieza externa de la vulva y aplicación de lubricante.



Figura 24. Extracción de la dosis de semen utilizando jeringa de insulina.



Figura 23. Inserción del aplicador cargado en la vagina y descarga de la cápsula en la vagina.



Figura 22. Colocación de la cápsula con semen en el aplicador.

Se procuró que el tiempo transcurrido entre la colocación del semen en la cápsula y la inserción de esta en la vagina de la hembra fuese lo más corto posible, puesto que de lo contrario se vería comprometida la integridad de la cápsula.

3.3 Grupos experimentales

Tratamiento 1 (IVACAP2): 19 hembras ovinas, de las razas Katahdin y cruza con diferentes proporciones de Katahdin, en edades de entre 2 y 5 años se utilizaron. Se inseminaron vaginalmente con cápsulas de semen refrigerado, en dos ocasiones, la primera en torno a las 36 horas posteriores al retiro del CIDR y aplicada la eCG y la segunda alrededor de las 48 horas posteriores al retiro del CIDR y aplicada la eCG.

Tratamiento 2 (IVACAP3): 22 hembras ovinas de las razas Hampshire, Suffolk, Katahdin y Dorset, en edades de entre 3 y 6 años se utilizaron. Se inseminaron vaginalmente con cápsulas de semen refrigerado, en tres ocasiones, la primera en torno a las 36 horas posteriores al retiro del CIDR y aplicada la eCG, la segunda alrededor de las 48 horas y tercera 60 horas posteriores al retiro del CIDR y aplicada la eCG

Tratamiento 3 (IVACAP4): 15 hembras ovinas de las razas Katahdin y Dorset, en edades de entre 2 y 8 años se utilizaron. Se inseminaron vaginalmente con cápsulas de semen refrigerado, en cuatro ocasiones, la primera en torno a las 36 horas posteriores al retiro del CIDR y aplicada la eCG, la segunda a las 48 horas, tercera a las 60 horas y cuarta a las 72 horas posteriores al retiro del CIDR y aplicada la eCG.

3.4 Diagnóstico de gestación

Se realizó alrededor de los 15 a 19 días posteriores a la inseminación, llevando a cabo la detección de no retorno a celo, mediante el uso de machos celadores. En torno a los 65-70 días posteriores a la inseminación, se efectuó una ultrasonografía de imagen en tiempo real (DRAMÍŃSKI iScan), utilizando un transductor lineal, colocado abdominalmente a las hembras que no presentaron retorno a celo, se consideró gestantes a aquellas que en las que el útero se observó ocupado, mostrando imágenes correspondientes a gestaciones tempranas, confirmando el estado de gestación.

3.5 Variables evaluadas

La variable evaluada fue el porcentaje de fertilidad.

Fertilidad

La fertilidad se determinó a partir del número de ovejas paridas entre el número de ovejas inseminadas multiplicado por 100, puesto que su valor se expresa en porcentaje.

- Porcentaje de fertilidad $\frac{\text{número de ovejas paridas}}{\text{número de ovejas inseminadas}} \times 100$

Prolificidad

Se determinó a partir del número de corderos nacidos entre el número de ovejas paridas.

- Prolificidad $\frac{\text{número de corderos nacidos}}{\text{número de ovejas paridas}}$

3.6 Análisis estadístico

El porcentaje de la fertilidad (%FERT), entre grupos se analizó mediante la Prueba de Chi-cuadrada. El número de crías por oveja inseminada (PROLIF), se comparó mediante la Prueba de pseudoanálisis de varianza de Kruskal-Wallis (Flores *et al.*, 2017).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La inseminación artificial con cápsulas en los diferentes tratamientos (T1, T2 y T3) arrojó los siguientes resultados.

4.1 Fertilidad

La variable porcentaje de fertilidad, no mostró diferencia estadística significativa entre los grupos analizados ($p = 0.33$). Sin embargo, el tratamiento de 4 inseminaciones (T3) registró el 60% de fertilidad, comparado con los tratamientos de tres (T2) y dos (T1) inseminaciones que reportaron porcentajes de fertilidad menores, 36% y 32% respectivamente (Gráfico 4).

Maxwell y Hewitt (1986) obtuvieron 64% de fertilidad utilizando semen fresco y 17.6% para semen congelado, en ovejas inseminadas vaginalmente en una ocasión, realizada alrededor de las 55 horas después de eliminar el tratamiento de sincronización. Al respecto, Paulenz *et al.* (2003) obtuvieron el 51% de fertilidad para un grupo de ovejas inseminadas en una sola ocasión entre las 12 y 24 horas posteriores a la detección del estro, mientras que en otro grupo obtuvieron el 59% realizando dos inseminaciones, la primera entre las 12 y 24 horas después de la detección de celo y la segunda 24 horas después de la primera, en ambos casos se utilizó semen refrigerado a 5°C a una concentración de 150×10^6 de espermatozoides. Por su parte, Anel *et al.* (2005) reportan un porcentaje de fertilidad de 31.3% en ovejas inseminadas vaginalmente en una sola ocasión, efectuada alrededor de las 55 horas después de suprimir el tratamiento de sincronización, utilizando semen refrigerado a una concentración de 400 millones de espermatozoides, por dosis. En el mismo estudio obtuvieron el 44.9% de fertilidad para ovejas inseminadas por vía laparoscópica efectuada entre las 54 y 64 horas posteriores a la eliminación del tratamiento de sincronización. Por otro lado, Paulenz *et al.* (2009) en su estudio de campo reportan una variación de 35,7% al 90,9%, en las tasas de fertilidad obtenidas entre diferentes grupos de ovejas inseminadas en una única ocasión entre las 12 y 24 horas después de la detección de estro conductual.

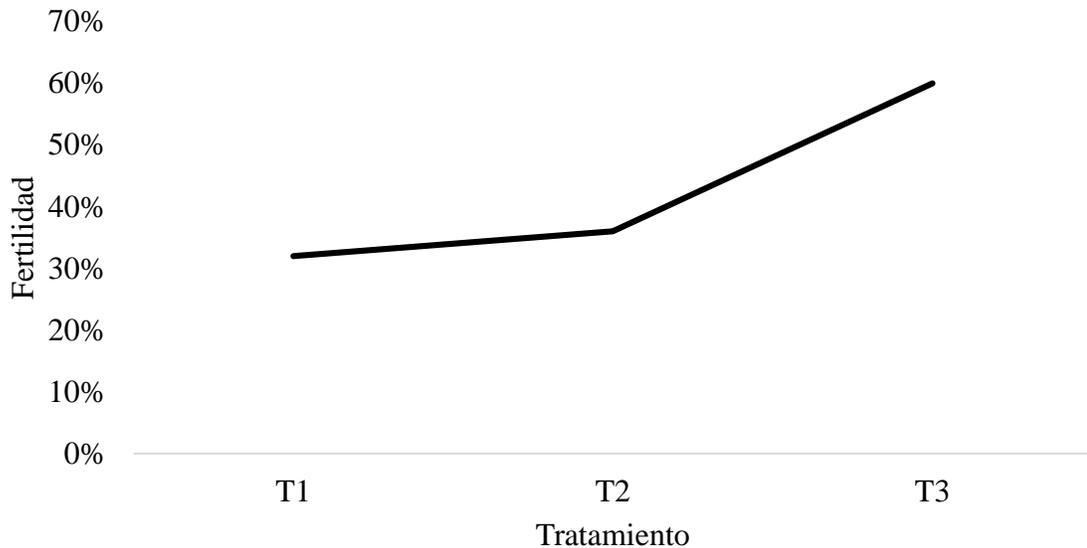


Gráfico 4. Efecto del número de inseminaciones sobre el porcentaje de fertilidad en ovejas inseminadas con cápsulas de semen.

La fertilidad obtenida, fue mayor en el grupo de cuatro inseminaciones, dicho grupo tuvo un rango de tiempo más amplio para efectuar las inseminaciones, además de tener una carga espermática mayor en comparación con el resto de los grupos. Si bien, es de suma importancia efectuar una adecuada detección de estros conductuales y en base a ello programar las inseminaciones, puesto que el momento de la ovulación en relación al inicio del estro es bastante preciso, mientras que la presentación del estro en relación al retiro de la progesterona y administrada la eCG, no lo es.

La implementación de técnicas de inseminación artificial cervical o laparoscópica a pesar de demostrar porcentajes de fertilidad más elevados en comparación con la inseminación vaginal (Gutiérrez, 2006), poseen algunas desventajas que requieren ser consideradas. La inseminación cervical necesita de personal suficiente para inmovilizar y mantener a la borrega en la posición adecuada, además de generar incomodidad y estrés a el animal, presenta porcentajes de fertilidad inferiores a los obtenidos por el método de inseminación laparoscópica, el cual, a su vez, requiere de personal altamente capacitado, materiales y equipo especializado, asimismo,

su implementación genera costos más elevados, por lo cual, es considerado como un método poco práctico y su utilización está limitada a producciones con los recursos suficientes para implementarlo. Por otro lado, con la utilización de la inseminación artificial vaginal con cápsulas, en el rango de tiempo adecuado, utilizando las dosis idóneas, se alcanzan porcentajes de fertilidad de hasta el 60%, similares a los obtenidos por Maxwell y Hewitt (1986) con inseminación intrauterina (55.6% y 64.6%) y superiores a los obtenidos por Macías *et al.* (2017), reportando el 49.60% de fertilidad utilizando inseminación cervical, por su parte la inseminación vaginal con cápsulas posee la ventaja de ser una técnica sencilla y fácil de implementar, además de realizarse con materiales accesibles a los productores, requiere capacitación mínima y el estrés que se genera a los animales durante el proceso es menor.

4.2 Prolificidad

La respuesta de la variable prolificidad al número de inseminaciones no mostró diferencia estadística ($p = 0.30$) entre tratamientos (Gráfico 5). El tratamiento uno (T1) registró una prolificidad de 1.667, siendo superior a la del resto de los grupos, seguido del tratamiento tres (T3) con 1.556, mientras que en el tratamiento dos (T2) fue de 1.375.

Horta *et al.* (2010) obtuvieron una prolificidad de 1.63, en ovejas inseminadas vaginalmente en una sola ocasión, con semen refrigerado a 5°C a una concentración promedio de 300 millones de espermatozoides por dosis. Por su parte, Langford *et al.* (1979) reportan 2.2 de prolificidad en ovejas inseminadas en dos ocasiones, a las 54 y 60 horas después de finalizar el tratamiento de sincronización, utilizando semen fresco a una temperatura de 16°C, por 12 horas, con una concentración de 360 millones de espermatozoides, por dosis de inseminación. En un estudio realizado con ovejas de la raza Merino Húngaro, Kukovics *et al.* (2011) alcanzaron una prolificidad de 1.6 inseminando vaginalmente en una sola ocasión.

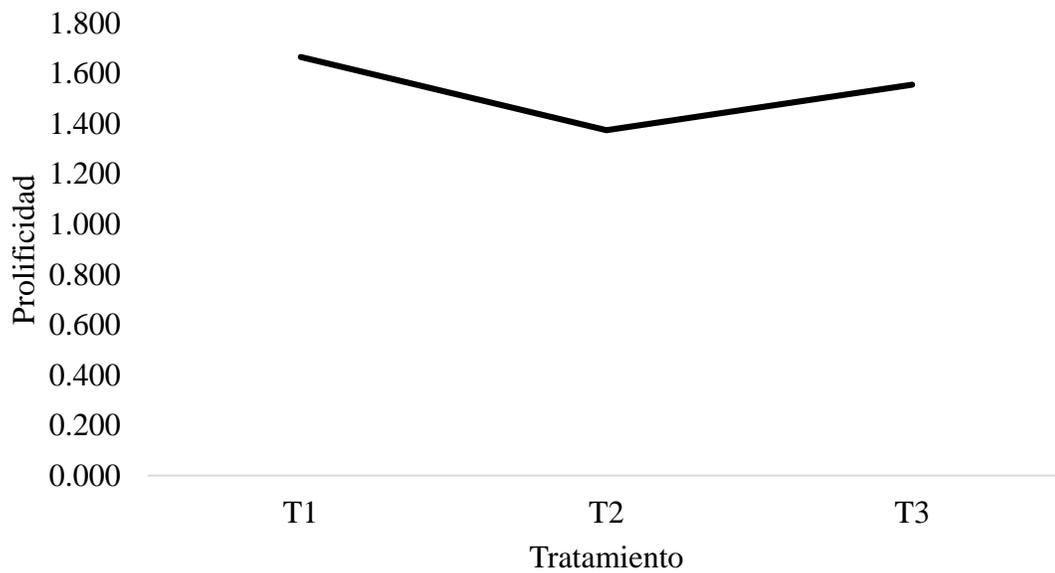


Gráfico 5. Efecto del número de inseminaciones sobre la prolificidad en ovejas inseminadas con cápsulas de semen.

La prolificidad, fue superior en los grupos de dos y cuatro inseminaciones, cabe destacar que, estos grupos estaban conformados principalmente por animales de la raza Katahdin, la cual posee como característica distintiva, alcanzar niveles altos de prolificidad, con un manejo adecuado esta raza puede llegar a producir hasta un %200 de crías (Lucio *et al.*, 2018).

V. CONCLUSIONES

El número de inseminaciones tuvo un efecto positivo sobre los porcentajes de fertilidad, a pesar de no mostrar diferencias estadísticas entre tratamiento, si se observaron diferencias numéricas, puesto que las ovejas inseminadas en cuatro ocasiones mostraron porcentajes de fertilidad superiores al resto de los grupos.

No se existió efecto del número de inseminaciones sobre la prolificidad.

El método de inseminación vaginal con cápsulas, es una técnica sencilla, fácil de realizar, no requiere de personal ni equipo especializado y el estrés que genera a el animal es mínimo, por lo cual, es factible realizar cuatro inseminaciones con la finalidad de incrementar los porcentajes de fertilidad en las ovejas.

VII. LITERATURA CITADA

- Acevedo, P. M. (2006). *Epidemiología de nematodos gastrointestinales de ovinos del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Ovina (CEIEPO), Tres Marías, Morelos*. Ciudad de México: UNAM.
- Aguilar, Z. (2010). *Sincronización de celo e inseminación artificial en ovinos*. Saltillo, Coahuila: UAAAN.
- Aguilar, C. U., Espinoza, B., Segura, J. C., Berruecos, J. M., Valencia, J., y Roldan, A. (2021). Caracterización genética de la oveja Pelibuey de México usando marcadores microsatélites. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 36-57.
- Aguilar, C. U., Espinoza, B., Segura, J. C., Berruecos, J. M., Valencia, J., y Roldán, A. (2017). Origen, historia y situación actual de la oveja pelibuey en México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 429-439.
- Aitken, I. (2007). *Diseases of sheep*. Blackwell Publishing .
- AMCO. (2007). *Razas de ovinos en México*.
- Anel, L., Kaabi, M., Abroug, B., Alvarez, M., Anel, E., Boixo, J. C., . . . De Paz, P. (2005). Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. *Theriogenology*, V (63) 1235-1247.
- Anel, L., Alvarez, M., Martinez, F., Garcia, V., Anel, E., y De Paz, P. (2006). Improvement Strategies in ovine Artificial . *Reproduction in Domestic Animals* , 30-42.
- Balcázar, J. A., y Porras, A. (2013). *Manual de Prácticas en Manejo Reproductivo de Ovinos y Caprinos* . Ciudad de México, México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bobadillo, E. E., Ochoa, F., y Perea, M. (2021). Dinámica de la producción y consumo de carne ovina en México 1970-2019. *Agronomía Mesoamericana*, 32(3) 963-982.

- Bottaro, J. M. (2009). *IATF En Ovinos con Semen Refrigerado: Importancia del Momento de Inseminación en un Protocolo en base a PGF2a en Ovejas Merino Australiano* .
Montevideo, Uruguay: Universidad de la República.
- Cáceres , D., y Mogollón, E. M. (2017). Factores que dificultan la inseminación artificial en ovinos, y su impacto en las tasas de fertilidad, preñez y parto : Revisión sistemática de literatura. *Spei Domus*, 26-27.
- Carballo , D. M., Canseco, R., García , R., y Montiel, F. (2009). *Comparación de dos diluyentes comerciales para criopreservar semen de bovino bajo condiciones de campo en el trópico húmedo*. Veracruz, México: Avances en la investigación Agrícola, Pecuaria, Forestal y Acuicola en el Trópico Mexicano 2009.
- Carvajal, M., Cortés, H. A., Manrique, C., y Grajales, H. (2018). Evaluación de los parámetros de calidad seminal y cinemática espermática en tres razas ovinas de lana en condiciones de trópico alto colombiano. *Revista de Medicina Veterinaria*, 49-61.
- Cessa, V. (2014). *Diluyentes y curvas de congelamiento para conservar semen de venado cola blanca (Odocoileus virginianus)*. Montecillo, Texcoco, Edo. México: Colegio de Postgraduados.
- Chang, T. M. (1998). Pharmaceutical and therapeutic applications of artificial cells including microencapsulation. *Revista europea de productos farmacéuticos y biofarmacéuticos*, 3-8.
- CNOG, C. N. (2012). *Estudios Económicos. Indicadores Económicos*. Boletín Económico 21.
- Cruz, D. (2014). *Estudio comparativo de 3 diluyentes (Tris, Citrato de Sodio y Triladyl) en el procesamiento de semen bovino*. Saltillo, Coahuila: UAAAN .

- Cueto, M., Gibbons, A., Bruno, M. M., y Fernández, J. (2016). *Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino*. Ediciones INTA.
- Davis, H. P., Underbjerg, G. L., y Trimberger, G. W. (1940). An Improved Method for Artificial Insemination of the Bovine by Vaginal Deposition of the Semen . *Journal of Animal Science*, Vol. 1940 (1), 221-223.
- Delgadillo, J. A. (2005). *inseminación artificial en caprinos*. México: Trillas.
- Ensminger, M. (1970). *Sheep and wool science*. Danville, Illinois: The Interstate Printers y publisher, INC. .
- Eppleston, J., Salomon, S., Moore, N. W., y Evans, G. (1994). The depth of cervical insemination and site of intrauterine insemination and their relation in sheep to the fertility of frozen thawed ram semen. *Anim. Reprod. Sci.*, 211-225.
- Evans, G., y Maxwell, W. (1990). *Inseminacion artificial de ovejas y cabras* . Zaragoza, España: Acribia.
- Fernández, M., Giráldez, F. J., y Ruíz, Á. (1998). Bases Anatómo-Fisiológicas. En C. Buxadé , *Ovino de carne: aspectos claves* (págs. 141-163). España: Mundi-prensa.
- Flores, E., Miranda, M. G., y Villasis, M. Á. (2017). El protocolo de investigación VI: cómo elegir la prueba estadística adecuada. *Estadística inferencial. Rev Alerg Mex.*, 64(3):364-370.
- Franco, M. C., Dos Santos, J. F., Maciel, T. A., Neto, P. J., y Oliveira , D. (2014). Morfología del cérvix de ovejas Santa Inés adultas en las fases luteínica y folicular . *Ciencia Animal Brasileña*, 495-501.
- Frandsen, R. (1976). *Anatomía y Fisiología de los Animales domesticos* . Ciudad de México, México: Interamericana.

- Gibbons, A., y Cueto, M. (1995). Manual de inseminación artificial en la especie ovina. *INTA EEA Bariloche*.
- Gibbons, A., y Cueto, M. (2007). Inseminación Artificial con semen Fresco de Ovinos. *Presencia*, 8-12.
- Gómez, M. V., y Migliorisi, A. L. (2007). Cátedra Reproduccion Animal Facultad de Cs. Veterinarias. *Protocolo para la evaluación de semen en rumiantes*. Buenos Aires, Argentina: UNPL.
- Gutiérrez, J. (2006). *Inseminación artificial en ovinos: Aplicación intrauterina por laparoscopia de semen refrigerado*. Saltillo, Coahuila, México: UAAAN.
- Hafez, E. S. (1969). *Reproduction in Farm Animals*. Philadelphia, USA.: Lea y Febiger.
- Halbert, G. W., Dobson, H., Walton, J. S., y Buckrell, B. C. (1990). A technique for transcervical intrauterine insemination of ewe. *Theriogenology*, 993-1010.
- Halbert, G., Dobson, H., Walton, J., y Buckrell, B. (1990). The structure of the cervical canal of the ewe. *Teriogenologia*, 977-992.
- Hameed, N., Khan, M. I.-R., Zubair, M., y Andrabi, S. M. (2021). Approaches of estrous synchronization in sheep: developments during the last two decades: a review. *Tropical Animal Health and Production*, 53: 485.
- Hernandez, G. F., y Cruz, S. (Marzo de 2020). Sincronización de Estros con CIDR Reutilizados a Periodo Corto y la Aplicación de Prostaglandinas (PGf α), con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) en Borregas Multíparas. Huejutla de Reyes, Hidalgo, Mexico: Tecnológico Nacional de México.

- Hernández, J., Ortiz, M. I., Rebollar, S., Guzmán, E., y González, F. d. (2013). Comercialización de ovinos de pelo en los municipios de Tejupilco y Amatepec del Estado de México. *Agronomía Mesoamericana*, 195-201.
- Hernández, J., Valencia, M., Ruiz, J., Mireles, A., Cortez, C., y Gallegos, J. (2017). Contribución de la ovinocultura al sector pecuario en México. *Agro Productividad*, 87-93.
- Hernández, R. (2018). *Efecto del ritmo y frecuencia del eyaculado, sobre las características seminales en ovinos de raza Katahdin*. Tuxtepec, Oaxaca: UNPA.
- Herrera, J., Álvarez, G., Bárcena, R., y Núñez, J. M. (2019). Caracterización de los rebaños ovinos en el sur de Ciudad de México, México. *Acta Universitaria*, 1-15.
- Hidalgo, G., Rodríguez, J., Chango, R., Mavares, M., Morales, R., Rodríguez, M., y Aranguren, J. A. (2015). Inseminación intrauterina por laparoscopia en ovejas mestizas West African utilizando semen dorper congelado en pajuelas y pellets. *Revista Científica*, 395-401.
- Horta, A. E., Barbas, J. P., Marques, C. C., Baptista, M. C., Vasques, M. I., Pereira, R. M., . . . Cavaco-Gonçalves, S. (2010). Improvement of Fertility in Artificially Inseminated Ewes Following Vaginal. *Reproduction in Domestic Animals Treatment with Misoprostol Plus Terbutaline Sulphate*, V45 e412-e416.
- Kerton, D. J., McPhee, S. R., Davis, I. F., White, M. B., Banfield, J. C., y Cahill, L. P. (1984). A comparison of insemination techniques in Corriedale ewes. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, V(15) 701.
- Kirchner, F., Orozco, A., Acosta, M., Solís, G., Alanís, A., y Spross, A. (2014). *Ovinos*. México: Trillas.

- Kukovics, S., Gyoker, E., Nemeth, T., y Gergatz, E. (2011). *Artificial Insemination of Sheep – Possibilities, Realities and Techniques at the Farm Level* . Hungría: IntechOpen.
- Langford, G. A., Marcus, G. J., Hackett, A. J., Ainsworth, L., Wolynetz, M. S., y Peters, H. F. (1979). A comparison of Fresh and Frozen semen in the Insemination of confined sheep. *Canadian Journal of Animal Science*, V(59) 685-691.
- Latorre, E. L., y Sales, F. A. (2000). *Inseminación Artificial ovina en la XII región - I Parte* . Punta Arenas, Chile: INIA- Kampenaiké.
- Lucio, R., Sesento, L., Bedolla, J. L., y Cruz, A. (2018). Parámetros genéticos para pie de cría en ovinos de la raza katahdin. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias*, 5-16: 1-5.
- Macías , A., Ferrer, L. M., Ramos, J. J., Lidón, I., Rebollar, R., Lacasta, D., y Tejedor, M. T. (2017). Technical Note: A new device for cervical insemination of sheep - design and field test. *Journal of Animal Science*, 95(12) 5263-5269.
- Maxwell, W., y Hewitt, L. (1986). A comparison of vaginal, cervical and intrauterine insemination of sheep. *Revista de Ciencias Agrícolas* , 191-193.
- May, N. D. (1974). *Anatomía del ovino. Manual de disección*. Buenos Aires, Argentina: Hemisferio Sur .
- McDonald, L. (1969). *Veterinary Endocrinology and Reproduction*. Philadelphia, USA.: Lea y Febiger.
- Mendez, S. C. (2020). *Sincronización de Estros con CIDR Reutilizados a Periodo Corto y la Aplicación de Prostaglandinas (PGf₂α), con Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) en Borregas Multíparas*.

- Moore, R. W., Lynch, P. R., y Miller, C. M. (1987). Effect of steroid immunisation and vaginal artificial insemination on the fertility of synchronised ewes . *New Zealand Society of Animal Production* , V (47) 147-149.
- Naim, P., Cueto, M., y Gibbons, A. (2009). Inseminación artificial a tiempo fijo con semen ovino refrigerado. *Archivos de Ciencia Animal*, 435-440.
- Nebel , R. L., Vishwanath, R., McMillan, W. H., y Pitt, C. J. (1996). Microencapsulation of bovine spermatozoa: effect of capsule membrane thickness on spermatozoal viability and fertility . *Animal Reproduction Science*, 79-89.
- Nebel, R. L., Vishwanath, R., McMillan, W. H., y Saacke , R. G. (1993). Microencapsulation of Bovine Spermatozoa for Use in Artificial Insemination: a Review . *Reproducción, Fertilidad y Desarrollo*, 701-712.
- Olivera, J., Gil, J., y Fierro, S. (2007). La preservación de semen de carnero en forma líquida y su potencial de uso en los servicios de nuestras majadas. *Cangüe* , 32-37.
- Oviedo, E. S. (2009). *Inseminación artificial en ovinos* . Torreon, Coahuila, México: UAAAN .
- Parraguez, V. H., Blank, O., Muñoz, C., y Latorre, E. (2000). Inseminación artificial en ovinos. *Monografías de Medicina Veterinaria*.
- Paulenz, H., A°dnøy, T., Fossen , O., y So°derquist, L. (2009). Effect on Field Fertility of Addition of Gelatine, Different Dilution Rates and Storage Times of Cooled Ram Semen After Vaginal Insemination. *Reproduction in Domestic Animals*, V(45) 706-710.

- Paulenz, H., Soñderquist, L., A° dnøy, T., Fossen, O. H., y Berg, K. A. (2003). Effect of milk- and TRIS-based extenders on the fertility of sheep inseminated vaginally once or twice with liquid semen. *Theriogenologia*, V(60) 759-766.
- Pérez, I. J. (2019). *Estudio comparativo de tres diluyentes de semen bovino (Triladyl, Andromed y Optidyl) para su criopreservación*. Saltillo, Coahuila: UAAAN.
- Pérez, P., Vilaboa, J., Chalate, H., Martínez, C., Díaz, P., y López, S. (2011). Análisis descriptivo de los sistemas de producción con ovinos en el estado de Veracruz, México. *Revista científica FCV-LUZ*, 327-334.
- Restrepo, G., Usuga, A., Montoya, J. D., Celis, Á. D., y Henao, A. A. (2014). Evaluación de dos diluyentes para la criopreservación de semen de caballos de la raza criollo colombiano. *Revista Lasallista de investigación*, 63-70.
- Ross, C. (1989). *Sheep Production and Management*. New Jersey: PRENTICE HALL.
- Ruiz, L., Sandoval, R., y Santiani, A. (2015). Evaluación de la Calidad Espermática del Semen Ovino Posdescongelación al Emplear Dos Fuentes Energéticas y Dos Crioprotectores. *Revista Investigaciones Veterinarias del Perú*, 49-56.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2021). Producción Agropecuaria y Pesquera .
- SIAP, S. d. (2014). Produccion Agropecuaria y Pesquera. *Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta SIACON*. Programa informatico, version 2014.
- Swelum, A. A., Alowaimer, A. N., y Abouheif, M. A. (2015). Use of fluorogestone acetate sponges or controlled internal drug release for estrus synchronization in ewes: Effects of hormonal profiles and reproductive performance. *Theriogenology*, 84(4) 498-503.

- Swelum, A. A., Saadeldin, I. M., Moumen, A. F., Ali, M., Ba-Awadh, H., y Alowaimer, A. N. (2019). Effects of long-term controlled internal drug release reuse on reproductive performance, hormone profiles, and economic profit of sheep. *Revista Brasileira de Zootecnia*, V(48) 1- 8.
- Tayupanta, J. E., y Villafuerte, J. F. (2022). Cápsulas biodegradables e hidrosolubles como una alternativa de envase del contenido seminal durante el proceso de criopreservación de semen equino . *Revista Recursos Naturales Producción y Sostenibilidad* , 19-34.
- Thanawala, A. J., Sonawane, S. A., y Sane, C. R. (1988). Feasibility of using hard gelating capsules for the packaging and deep-freezing of bull semen. *Theriogenology*, 29, 921-929.
- Torres, F. M. (2013). *Influencia del aporte de progesterona exogena (CIDR) post-inseminación sobre la fertilidad de ovinos de las razas cruza Suffolk-Dorset*. Texcoco, Estado de México: COLPOS.
- UNO. (2021). Ovinos Black Belly, Origen y Características. *Agroregión*.
- Val, V. (2012). *Efecto del diluyente seminal sobre la dinámica de fragmentación del ADN espermático y otros parámetros de calidad seminal en morueco* . Huesca, España: Universidad de Zaragoza.
- Voz Agraria. (Junio de 2012). Black Belly. Trujillo, Perú: Gobierno regional de la libertad .
- Yamasaki , A., Pedraza, P., Peralta, M. M., Yong, A. G., Rothschuh, J. E., y Yamasaki , D. L. (2005). Diseño y construcción de electroeyaculador para ovinos y caprinos. *Revista Electrónica de Veterinaria*, V(8) 1-23.