

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
(Segunda Universidad fundada en el Perú)

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE MEDICINA
VETERINARIA



**“EVALUACIÓN DE LA TASA DE PREÑEZ UTILIZANDO DIFERENTE
DOSIS DE GONADOTROFINA CORIONICA EQUINA (ECG) POR
INSEMINACIÓN INTRAUTERINA VÍA LAPAROSCOPIA CON SEMEN
FRESCO EN BORREGAS DE LA RAZA CORRIEDALE”**

Tesis para obtener el Título Profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

Presentado por:

FREDY RETAMOZO LOZANO

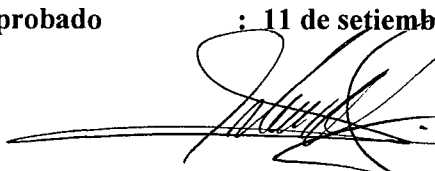
Ayacucho – Perú

2015

**"EVALUACIÓN DE LA TASA DE PREÑEZ UTILIZANDO DIFERENTE
DOSIS DE GONADOTROFINA CORIONICA EQUINA (ECG) POR
INSEMINACIÓN INTRAUTERINA VÍA LAPAROSCOPIA CON SEMEN
FRESCO EN BORREGAS DE LA RAZA CORRIEDALE"**

Recomendado : 17 de agosto del 2015

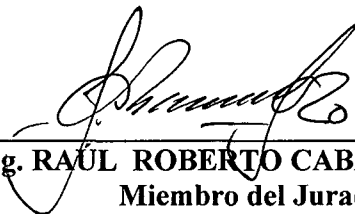
Aprobado : 11 de setiembre del 2015



Dr. LUIS ARTURO RODRIGUEZ ZAMORA
Presidente del Jurado



Mg. Sc. CÉSAR AUGUSTO OLAGUIVEL FLORES
Miembro del Jurado



Ing. RAÚL ROBERTO CABALLA LEÓN
Miembro del Jurado



Mg. JULIO CÉSAR SOTO PALACIOS
Miembro del Jurado



Dr. ANTONIO JERÍ CHÁVEZ
Decano de la Facultad de Ciencias Agrarias

DEDICATORIA

A Dios por brindarme la sabiduría y fuerzas para afrontar toda esta etapa de mi vida.

A mis padres Ordilia Maximiliana Lozano Rojas y Honorato Retamozo Mendoza por el apoyo incondicional, por estar conmigo siempre en los momentos más difíciles y felices de mi vida, que con mucho esfuerzo y sacrificio me ayudo a logro alcanzar uno de mis objetivos en la vida, la de ser un profesional.

A mis hermanos Willy, Jhonny, Gladys, Nelly, Graciela y Jhimmy, por todo el apoyo, que me han brindado siempre en el trayecto de mi vida.

A mis mejores amigos, Yuly, Mari Carmen C., Norman, Luis Miguel, Noe, Henry, Denis por su apoyo y amistad han significado mucho en esta etapa de mi vida, aun en la distancia siempre contare con ellos.

Y una persona muy especial que significa mucho para mí, Arletty Y. Cotaquispe Garibay.

AGRADECIMIENTO

A la Escuela de Formación Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por brindarme la oportunidad de superarme académicamente.

Al personal administrativo del Centro Experimental y Producción de Chuquibambilla (CIP- CH) de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno (UNA-PUNO). En especial al doctor Juan Zevallos Arango por las facilidades y apoyo brindado para la ejecución de este estudio.

A mi asesor Mg. Sc. Cesar Augusto Olaguivel Flores por su valiosa colaboración y apoyo para la realización de este trabajo A los doctores Rolando Alencastre y Hugo W. Deza Calsin por su valiosa colaboración como co-asesores de esta tesis.

A mis amigos Rassiel y Darwin quienes amablemente y desinteresadamente brindaron su apoyo y su gran amistad.

A mi amiga y Colega Yuly Vedia T. por brindarme su incomparable cariño, amistad y sus invaluable consejos.

ÍNDICE

RESUMEN	i
INTRODUCCIÓN	iii
OBJETIVOS	v
CAPITULO I	
I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
1.1. POBLACIÓN OVINA	12
1.1.1. A nivel mundial.	12
1.1.2. Ovinos en el Perú.	12
1.1.3. Población de ovinos a nivel departamental.	13
1.2. FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN EN OVEJAS	13
1.2.1. Definición.	13
1.2.2. Estacionalidad.	15
1.2.3. Mecanismos de acción del fotoperiodo.	16
1.2.4. Efecto melatonina.	17
1.2.5. Ciclo estral.	17
1.2.6. Fisiología del ciclo estral.	18
1.2.7. Fases y duración del ciclo estral en el ovino.	19
1.2.8. Influencia del macho en el estro.	20
1.2.9. Ovulación.	20
1.3. INSEMINACIÓN ARTIFICIAL	20
1.3.1. Definición.	20
1.3.2. Métodos de inseminación.	21

1.3.2.1. Inseminación artificial vaginal	21
1.3.2.2. Inseminación artificial intracervical	21
1.3.2.3. Inseminación artificial trans-cervical	22
1.3.2.4. Inseminación artificial intrauterina.....	22
1.3.3. Selección de Borregas a inseminar.....	22
1.3.4. Sincronización de estros.....	23
1.3.4.1. Esponjas Intravaginales con Progestágenos.....	23
1.3.4.2. Colocación y retiro de las esponjas.....	24
1.3.5. Inseminación Intrauterina vía Laparoscopia.....	25
1.3.5.1. Sincronización de estro.....	26
1.4. ANTECEDENTES DE TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN REALIZADOS EN INSEMINACIÓN ARTIFICIAL POR VÍA LAPAROSCOPIA.	27

CAPITULO II

II. MATERIALES Y MÉTODO

2.1. UBICACIÓN	32
2.2. DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	32
2.3. MATERIAL EXPERIMENTAL.....	33
2.3.1. Animales.....	33
2.3.2. Instalaciones.....	33
2.3.3. Materiales y equipos.....	33
2.3.4. Hormonas utilizadas para la sincronización de celo.....	34
2.4. METODOLOGÍA.....	34
2.4.1. Selección de las borregas.....	34

2.4.2. Preparación de borregas y alimentación.....	35
2.4.3. Protocolo de sincronización de celo.....	35
a. Colocación del dispositivo intravaginal.....	36
b. Retiro del dispositivo intravaginal.....	36
c. Administración de eCG post retiro del dispositivo.....	37
2.4.4. Determinación de celo en las borregas sincronizadas.....	37
2.4.5. Colección de semen por vagina artificial.....	38
a. Evaluación del semen.....	39
b. Dilución del semen.....	39
2.4.6. Inseminación artificial laparoscópica intrauterina.....	40
a. Preparación de las borregas a inseminar.....	40
b. Inseminación artificial laparoscópica en las borregas.....	41
2.4.7. Diagnóstico de gestación por ecografía transrectal.....	42
2.4.8. Determinación del porcentaje de fertilidad.....	43
2.5. DISEÑO ESTADÍSTICO.....	43

CAPITULO III

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Tasa de presentación de celo.....	44
3.2. Porcentaje de fertilidad obtenido en borregas.....	46

CAPITULO IV

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... 51

V. BIBLIOGRAFÍA

ANEXO

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Centro de Investigación y Producción de Chuquibambilla (CIP-CH), del programa de ovinos, (sector de Buena Vista), pertenece a la Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia, de la Universidad Nacional Altiplano- Puno. Este centro se encuentra ubicado en el Distrito de Umachiri, Provincia de Melgar, Departamento de Puno entre los meses de diciembre 2014 a febrero del 2015. El objetivo del trabajo fue determinar la tasa de preñez mediante la inseminación intrauterina vía laparoscopía con semen fresco en borregas de la raza Corriedale. Para el presente trabajo se utilizaron 25 borregas de la categoría 2 a 6 dientes, de la raza corriedale, estas se seleccionaron de acuerdo a su condición corporal y solamente fueron admitidos para el presente estudio, borregas con una condición corporal de 2.5 del lote de animales que no quedaron preñadas en la época reproductiva (mayo - julio), a los que se realizó protocolo de sincronización del estro mediante la utilización de esponjas vaginales con 60mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 14 días, inmediatamente

después de la remoción se aplicó gonadotropina corionica equina (eCG) de acuerdo a los siguientes tratamientos T1= 300UI, T2= 400UI y T3= 500UI. Se obtuvo los siguientes resultados de presentación de celo 100%, 87.5% y 100% respectivamente. A si mismo la tasa de preñez se diagnosticó mediante el uso de la ecografía a los 26 días, según los tratamientos fue 25%, 57.1% y 62.5% respectivamente.

Concluyendo que a dosis mayor de gonadotropina corionica equina (eCG) eleva la tasa de preñez en borregas corriedale.

Palabras claves: Laparoscópia, Esponjas Intravaginales, Acetato de Medroxiprogesterona (MAP), Gonadotropina Gorionica Equina (eCG).

INTRODUCCIÓN

La crianza ovina en el Perú tiene importancia económica, social y esta radica en la población ovina nacional actual de 9 523,2 mostrando un descenso de 21,2% con respecto al censo agropecuario de 1994.

La raza que concentra la mayor población es la de Criollos y representa el 81,0% del total. Le sigue en orden de importancia la raza Corriedale con el 11,4%, Hampshire Down 2,6%, Black Belly 0,9% y otras razas 4,1% respectivamente.

La población de ganado ovino se concentra en la Sierra con 8 972,2 cabezas, que representa el 94.2% del total. Considerando las razas, son los Criollos los que tienen mayor participación 80,5%, seguido por Corriedale 11, 3%. En la Costa, la raza predominante es criollos con 79,8%. La Sierra cuenta con una mayor proporción de ovinos de la raza criollos 80,6% y finalmente en la Selva la raza predominante es criollos con 71,3%.

El hombre aplica técnicas sobre el proceso reproductivo, manejándolo de acuerdo a objetivos de producción. Fundamentalmente, se emplea para

multiplicar las características productivas deseables de reproductores de alto valor genético.

La inseminación artificial incrementa notablemente el aprovechamiento de un reproductor, al permitir obtener un gran número de crías del mismo padre. Esto es posible debido a que mantiene un adecuado fraccionamiento del semen y se obtiene un número importante de dosis por eyaculado.

El empleo del semen fresco posibilita aún más la multiplicación. La inseminación artificial (IA) con semen fresco juega un rol muy importante en los programas de mejoramiento genético, por acelerar el flujo de material genético superior hacia sectores de inferiores características productivas. No obstante, para poder cumplir con el mejoramiento genético, es fundamental que la técnica reproductiva garantice adecuadas tasas de preñez.

En borregas, la IA se realiza mayormente con semen fresco o refrigerado, debido a los pobres resultados de fertilidad que se obtienen al usar semen congelado y a la reducción de la viabilidad espermática producida por el proceso de congelamiento y descongelamiento. A esto, se suma la dificultad de transponer la cérvix de la oveja con la pipeta de inseminación y los efectos secundarios de la sincronización del estro utilizando esponjas intravaginales. Hoy en día estos problemas pueden ser superados usando un método alternativo de inseminación intrauterina vía laparoscópica con semen fresco. A pesar de las reconocidas bondades de la inseminación intrauterina vía laparoscópica en borregas, la técnica ha tenido una aplicación bastante limitada en el Perú debido a la falta de técnicos calificados y a la difusión inadecuada de sus ventajas. El presente experimento pretende evaluar la tasa de preñez en borregas de la raza Corriedale inseminadas

con semen fresco utilizando la inseminación artificial intrauterina vía laparoscopia.

OBJETIVOS

Basado en lo mencionado, nos planteamos los siguientes objetivos en la ejecución del presente trabajo de investigación:

a) Objetivo general.

- Determinar la tasa de preñez mediante la inseminación intrauterina vía laparoscopia con semen fresco en borregas de la raza Corriedale, utilizando diferentes dosis de Gonadotrofina Corionica Equina.

b) Objetivos específicos.

- Determinar el porcentaje de presentación de celo en borregas de la raza Corriedale.
- Evaluar diferentes dosis de Gonadotrofina Corionica Equina (eCG), post retiro de la esponja de acetato de medroxiprogesterona (MAP).

CAPITULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 POBLACIÓN OVINA.

1.1.1. A nivel mundial.

La población mundial de ovinos llega a 1083 millones de cabezas a nivel de los cinco continentes, donde Asia es el primer productor con 415 millones, Europa sin URSS con 163 millones, América del sur tiene 105 millones de ovinos, Norte y centro América con 16 millones. China es el primer productor con un población de 269.9 millones seguidos de la India con 181.2 millones; los países del medio Oriente con 171.6 millones de ovinos y Australia con 113 millones (**Fuente FAO, 1999**).

1.1.2. Ovinos en el Perú.

La población de ovinos es de 9 523,2 mostrando un descenso de 21,2% con respecto al censo agropecuario de 1994. La raza que concentra la mayor población es la de Criollos y representa el 81,0% del total. Le sigue en orden de importancia la raza Corriedale con el 11,4%, Hampshire Down 2,6%,

Black Belly 0,9% y otras razas 4,1% respectivamente (INEI - IV Censo Nacional Agropecuario 2012).

La población de ganado ovino se concentra en la Sierra con 8 972,2 cabezas, que representa el 94.2% del total. Considerando las razas, son los Criollos los que tienen mayor participación 80,5%, seguido por Corriedale 11, 3%. En la Costa, la raza predominante es criollos con 79,8%. La Sierra cuenta con una mayor proporción de ovinos de la raza criollos 80,6% y finalmente en la Selva la raza predominante es criollos con 71,3% (INEI - IV Censo Nacional Agropecuario 2012).

1.1.3. Población de ovinos a nivel departamental.

Según el censo agropecuario 2012, la distribución en porcentaje de la población de ovinos a nivel departamental se reportan estos porcentajes: Puno posee la mayor cantidad con 21.9 % de la población nacional, Cusco 13.1 %, Junín 8.2 %, Huánuco 7.4 %, Ancash 7.1 % Huancavelica 6.7 %, Ayacucho 6.5 %, y Pasco con 5.8 % y el 23.3% otros departamentos (INEI - IV Censo Nacional Agropecuario 2012).

1.2. FISIOLÓGÍA DE LA REPRODUCCIÓN EN OVEJAS

1.2.1 Definición.

La actividad reproductiva de la especie ovina es poliéstrica estacional, caracterizado por una época del año en que la mayoría de las hembras presenta cíclicamente estros o celos (estación sexual), y otra época del año en que un porcentaje variable de las mismas según la raza presenta inactividad sexual (anestro) (Cueto, et. al. 1993).

La mayor actividad reproductiva se presenta en el periodo otoño-invernal,

estimulada por el acortamiento del periodo diario de luz solar (**Hafez y Hafez, 2000**).

Durante el verano, los ovarios de las ovejas en anestro desarrollan folículos y secretan estradiol si reciben estimulación con LH. La actividad folicular cambia durante todo el año en sincronía con los patrones circanales de secreción de prolactina y la duración del día, pero al parecer las fluctuaciones en la prolactina no se relacionan con la estacionalidad del apareamiento de la oveja. La baja concentración de progesterona (P4) aumenta el tamaño de los folículos grandes y la edad de los folículos ovulatorios más viejos. Los embriones formados por la ovulación de folículos más viejos y más jóvenes en la misma oveja no difieren en su capacidad de sobrevivir (**Hafez y Hafez, 2000**).

La frecuencia de las descargas de LH dependen de la respuesta al efecto de retroalimentación negativa del estradiol; tal respuesta es baja durante la estación de actividad sexual, aumenta en la transición al anestro y permanece elevada hasta el inicio de la siguiente temporada reproductiva, cuando vuelve a disminuir la melatonina, una hormona pineal, modula la respuesta a los cambios en el fotoperiodo en ovejas (**Hafez y Hafez, 2000**).

Las concentraciones de esa hormona son altas durante periodos de oscuridad y bajas durante periodos de luz; es probable que estas diferencias en el patrón de secreción de melatonina actúen como la señal que indica la duración del día al eje neuroendocrino. Hay evidencia que sugiere que el área premamilar del hipotálamo es un blanco importante para que la melatonina regule la actividad reproductiva (**Hafez y Hafez, 2000**).

1.2.2 Estacionalidad

Hafez, en 1952 describía ampliamente las características estacionales de la reproducción de la oveja, con periodos de actividad sexual que abarcaban desde el momento de la transición de los días largos hacia cortos, (verano-otoño), hasta el comienzo de un nuevo periodo de incremento de horas de luz diarias (López, et al. 1993).

Esta característica, junto con el control específico del fotoperiodo sobre la actividad sexual de los pequeños rumiantes domésticos, ha sido objeto de numerosos estudios (López, et al. 1993).

Se entiende como anoestro estacional el periodo de no receptividad sexual, inhibición de la ovulación, y por ello, incapacidad de desarrollo embrionario, provocado por la evolución del fotoperiodo. Como principales factores de evolución se encuentran la latitud geográfica y la raza, ambos deben considerarse juntos, ya que en un alto porcentaje, la producción ovina se realiza con razas autóctonas adaptadas a un medio determinado (López, et al. 1993).

Uno de los rasgos más importantes de la reproducción ovina es la estacionalidad, aunque, por supuesto, esto no es algo exclusivo de las ovejas. En las ovejas, la reproducción sigue un patrón estacional: es decir, existe una alternancia entre los periodos de anestro y de actividad sexual. Las ovejas se consideran, pues, reproductoras “de días cortos” (López, et al. 1993).

Las ovejas son capaces de “monitorizar” los cambios en el fotoperiodo diario mediante la secreción circadiana de melatonina por parte de la glándula pineal. La producción de melatonina está regulada por el fotoperiodo y se

encuentran concentraciones elevadas en sangre sólo durante las horas de oscuridad (López, et al. 1993).

Las características del patrón circadiano de la secreción de la melatonina varían con los cambios en el ciclo de luz-oscuridad a lo largo del año, lo que permite que el animal “reconozca” los cambios en la proporción de luz/oscuridad. La melatonina tiene un profundo efecto sobre la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) del hipotálamo, que modula la liberación de gonadotropinas hipofisarias y éstas, a su vez, controlan la actividad reproductora estacional (López, et al. 1993).

1.2.3 Mecanismos de acción del fotoperiodo.

La acción del fotoperiodo sobre el ciclo reproductivo, y la vía a través de la que se condiciona la actividad hipotálamo-hipófisis no son suficientemente conocidas (López, et al. 1993).

Atribuía un efecto inhibitorio de las concentraciones plasmáticas de prolactina sobre la liberación de gonadotrofinas, dado que los mayores niveles coinciden con periodos de anovulación, sin embargo, los trabajos más recientes han demostrado que, si bien la evolución de las concentraciones plasmáticas de prolactina con la evolución de horas luz (López, et al. 1993).

En algunos estudios relativos a la variación de los niveles de cortisol en sangre se ha podido apreciar, en la oveja, algunas relaciones con la época del año la evolución de esta hormona es bastante similar a la de la prolactina, aumentado sus niveles durante la época de luz creciente (López, et al. 1993).

Se han demostrado que la glándula pineal tiene un papel fundamental en el cortisol de la actividad reproductiva. Su acción se ejerce a través de la

secreción de melatonina, que sigue un ritmo circadiano, con niveles máximos por la noche y basales durante el día. Esta característica hace que sea variable con el fotoperiodo, aumentando la duración de sus niveles en días más cortos (López, et al. 1993).

1.2.4 Efecto melatonina

Durante el periodo de anoestro el hipotálamo mantiene una gran sensibilidad frente a los esteroides gonadales, fundamentalmente estradiol, y las pequeñas ondas de desarrollo folicular, con pequeños incrementos en la concentración plasmática de esta hormona, son suficientes para limitar la frecuencia pulsátil de la secreción de LH por la hipófisis a un nivel inferior a las tres horas. Los cambios en el fotoperiodo, y por ello, en la secreción de melatonina deben inducir una disminución en la sensibilidad del hipotálamo, con lo cual, una disminución del feed-back negativo del estradiol se traduce en un mayor actividad del generador de pulsos hipotalámicos, con incrementos en la frecuencia de pulsatilidad de la LH, y por tanto un mayor grado de desarrollo folicular (López, et al. 1993).

1.2.5 Ciclo estral

Como otras especies domésticas, el ovino experimenta una serie de procesos regidos por el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas que hacen posible que se lleve a cabo su reproducción. Existen considerables variaciones debidas a diferencias de raza, etapa de la estación reproductiva y estrés ambiental (Hafez y Hafez, 1989).

El celo o estro es el periodo fértil que se presenta en la oveja a intervalos regulares de 17+/-1 días, a menos que haya quedado preñada (Cueto, 1993)

1.2.6 Fisiología del ciclo estral

La regulación hormonal del ciclo estral, como se ha mencionado involucra al hipotálamo-hipófisis-gónadas, el hipotálamo secreta la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). La secreción de GnRH estimula la liberación hipofisaria de la hormona folículo estimulante (FSH) y de la hormona luteinizante (LH). La FSH se encarga de provocar el crecimiento de los folículos en el ovario y la hormona LH estimula la maduración de los folículos en desarrollo y la ovulación. Así mismo estas hormonas (FSH y LH) son las encargadas de estimular la producción de los esteroides ováricos **(Hafez y Hafez, 2002)**.

Las hormonas LH y FSH se liberan en forma tónica, pero existen un segundo tipo de liberación llamada cíclica o preovulatoria, que se hace evidente en las hembras antes de la ovulación y dura de 6 a 12 horas en casi todas las especies **(Hafez y Hafez, 2002)**.

La elevación de la concentración sérica de estrógenos produce retroalimentación positiva en el hipotálamo induciendo la secreción hipofisaria de LH, cuya función será la de producir la ovulación **(Jesús, R. 2000)**.

Una vez realizada la ovulación, los folículos rotos se convierten rápidamente en cuerpos lúteos (CL) a través de la luteinización de sus células e inician su secreción de progesterona, la cual ocasiona cambios en el tracto reproductivo favorables para la implantación de los embriones. Después de aproximadamente 13-14 días, en caso de no haber gestado, los CL se lisan por acción de la prostaglandina (PGF 2α), producida en el endometrio bajo la

influencia de la progesterona, el estradiol y la oxitocina; y se inicia otra vez el ciclo (Jesús, R. 2000).

1.2.7 Fases y duración del ciclo estral en el ovino.

- a). **Proestro.**- El proestro empieza con la regresión del CL y el descenso de la concentración de progesterona. La principal característica que distingue al proestro es el rápido crecimiento folicular causado por la estimulación de la FSH procedentes de la hipófisis anterior, la duración de esta fase en la oveja es de aproximadamente 2 días (Jesús, R. 2000).
- b). **Estro.**- Se define como el periodo en que la hembra es receptiva al macho y aceptara la cópula. La oveja en estro puede buscar al carnero, pero su deseo sexual se manifiesta solamente por su tolerancia para que el macho la cubra, ya que los cambios físicos que acompañan al estro como son: inquietud, disminución del apetito, producción láctea, micción frecuente, edematización de la vulva; el comportamiento homosexual, es poco perceptible en las borregas, por esta razón sin la presencia de un macho, el estro puede pasar desapercibido. La duración del estro va de 24 a 36 horas y la ovulación ocurre al final de esta fase (Jesús, R. 2000).
- c). **Metaestro.** Después de la ovulación comienza el metaestro que dura dos días. Durante este tiempo se inicia el desarrollo y función del cuerpo lúteo el cual inicia su secreción de progesterona y esta se incrementa rápidamente (Jesús, R. 2000).
- d). **Diestro.** Se caracteriza como el periodo del ciclo donde el CL es totalmente funcional y produce grandes cantidades de progesterona. En el caso de que llega un cigoto al útero el CL permanecerá durante toda la

gestación, pero si el óvulo no es fecundado el CL solo permanecerá funcional durante 11-12 días, después de este tiempo el CL se lisa por acción de la PGF2 α producida en el endometrio y se reinicia el ciclo (Jesús, R. 2000).

El estro dura 24 a 36 h. esta duración es influida por la raza, edad, la estación del año y la presencia del macho (Hafez y Hafez, 2000).

El estro es relativamente poco notable, y no se observa en ausencia del macho. Es posible que la vulva este edematosa, y que sea evidente una secreción de moco por la vagina (Hafez y Hafez, 2000).

1.2.8 Influencia del macho en el estro

La presentación de carneros a ovejas durante la transición de la estación de anestro a la temporada reproductiva las estimula a ovular en tres a seis días, y la actividad estral ocurre 17 a 24 días después (Hafez y Hafez, 2002).

1.2.9 Ovulación

La oveja es de ovulación espontánea. Normalmente ovula hacia el final del estro, unas 24 a 27 h después del inicio de éste. En muchas razas de ovejas se liberan dos o más óvulos durante el estro (Hafez y Hafez, 2000).

1.3 INSEMINACIÓN ARTIFICIAL

1.3.1 Concepto. La inseminación artificial (IA) es una técnica de reproducción asistida, donde espermatozoides viables son depositados, dentro del aparato reproductor de la oveja en el lugar y momento adecuados, con la finalidad de fertilizar el óvulo y lograr gestación. Esta técnica tiene como ventaja principal, el mejoramiento genético del rebaño en corto tiempo y a bajo costo, y no tiene desventajas cuando, se realiza adecuadamente. Los objetivos de

esta revisión son abordar: técnicas actuales de IA en ovinos en el Perú; la selección de reproductores, la colecta, evaluación y dilución del semen; la detección de ovejas en celo; la sujeción de ovejas y equipo para la inseminación artificial (Rodríguez, F. 2013).

1.3.2 Métodos de inseminación

Existen cuatro métodos para inseminar a las ovejas de manera artificial: el vaginal (VAI), el cervical (CAI), el transcervical (TAI), y el laparoscópico (LAI) o intrauterino. Cada método tiene sus ventajas y desventajas. En 1936 se realizó la primera inseminación artificial con éxito de una oveja. En la actualidad, la AI en ovinos se utiliza ampliamente alrededor del mundo (Hafez y Hafez, 2000).

Procedimientos:

1.3.2.1 Inseminación artificial vaginal (VAI).

La inseminación vaginal consiste en la deposición del semen fresco diluido dentro de la vagina anterior sin el uso del espéculo ni el intento de localizar el cérvix. Con frecuencia se hace referencia a esta técnica como disparo en la oscuridad (Hafez y Hafez, 2000).

El procedimiento es sencillo; se requiere poco adiestramiento, sólo se utiliza semen fresco o semen fresco diluido (0.2ml). La oveja debe estar de pie y el índice de concepción es de 40 a 65% (Hafez y Hafez, 2000).

1.3.2.2 . Inseminación artificial intracervical (CAI).

La deposición del semen se realiza dentro de los primeros pliegues cervicales, los cuales son visibles con la ayuda de un espéculo con fuente de luz. El método, barato y relativamente fácil, regularmente utiliza semen fresco el

cual puede o no ser refrigerado. La utilización de semen congelado ha resultado en rangos poco aceptables de fertilización, pudiendo ser de hasta 30 a 35% en ovejas. Se precisa más adiestramiento que en la VAI y menos semen, los índices de concepción son más elevados. Puede utilizarse semen enfriado. El índice de concepción es de 60 a 70% (Hafez y Hafez, 2000).

1.3.2.3 Inseminación artificial trans-cervical (TAI).

Es una técnica no quirúrgica, entrando en el útero pasando por la vagina y la cervix. Puede hacerse con la hembra permaneciendo levantada o en una posición inclinada, Puede utilizarse semen criopreservado, los índices de concepción son de 22 a 51 %, con semen fresco tiene el índice de concepción es de 90%, para esta técnica se requieren vaginoscopio. En 70-90% de las ovejas se logra la penetración cervical, se recomienda para ovejas grandes de varios propósitos 4 meses después del parto (Hafez y Hafez, 2000).

1.3.2.4 Inseminación artificial intrauterina o vía laparoscopia (LAI).

La deposición del semen directamente dentro del lumen uterino, evitando la barrera natural del cervix, ha mejorado de una forma radical la fertilidad. Puede usarse semen criopreservado, el índice de concepción es de 65 a 80% con semen criopreservado, luego de realizar la inseminación no se proporciona alimento ni agua durante 18 horas (Hafez y Hafez, 2000).

1.3.3 Selección de borregas a inseminar

Los programas de inseminación artificial (IA) y mejoramiento genético están normalmente destinados a las borregas de alto valor genético del establecimiento (Gibbons y Cueto, 1993).

- Antes de incorporar los animales a un programa de inseminación, es necesario tener en cuenta los siguientes aspectos de nutrición, sanidad y reproductivo: Las hembras deben alcanzar 2.5-3 puntos de condición corporal un mes antes de la inseminación. La condición corporal es un valor subjetivo o índice de la gordura de los animales. Consiste en medir la deposición de grasa de los músculos lumbares, situados por debajo de las apófisis transversas de las vértebras lumbares (Gibbons y Cueto, 1993).

1.3.4 Sincronización de estro

Los métodos de sincronización de estro constituyen una herramienta de gran utilidad en los programas de IA, ya que facilitan el manejo de los animales al evitarse el encierro diario para la detección de celos naturales. Se pueden dividir en: farmacológicos y naturales (Gibbons y Cueto, 2007).

El Métodos farmacológicos tiene la ventaja de concentrar un alto porcentaje de celos en un periodo corto de tiempo, lo que facilita la programación y realización de los trabajos de inseminación artificial (Gibbons y Cueto, 2007).

1.3.4.1 Esponjas Intravaginales con Progestágenos

Simula la acción de un cuerpo lúteo mediante la liberación lenta de progesterona. Se coloca en la vagina de la hembra por 12-14 días, periodo de tiempo que iguala o excede el tiempo de vida media del cuerpo lúteo (Gibbons y Cueto, 2007).

Este método permite alcanzar una elevada concentración de celos y llevar a cabo la IA a un tiempo fijo luego del finalizado el tratamiento hormonal

(Gibbons y Cueto, 2007).

Debido a que hay un porcentaje variable de ovejas que no responden al tratamiento o que no presentaron la ovulación sincronizada con el resto, como así también a la alteración del transporte espermático producida por efecto de los progestágenos, es aconseja la utilización de progestágenos en forma combinada con una dosis de gonadotrofina de suero de yegua preñada (PMSG) **(Gibbons y Cueto, 2009).**

La PMSG se administra por inyección intramuscular al momento de retirar las esponjas, en la estación reproductiva; o 48 horas antes del retiro, en el anestro estacional. La PMSG provoca un pico importante de estrógenos, induciendo la aparición de un pico preovulatorio de LH y la ovulación, al mismo tiempo que mejora la sincronía de los celos. Las dosis utilizadas de PMSG varían entre 200 y 400UI, dependiendo fundamentalmente del peso corporal, de la raza y de la época del año **(Gibbons y Cueto, 2009).**

1.3.4.2 Colocación y retiro de las esponjas

- La esponja se comprime e introduce en el extremo biselado del aplicador, cuidando que el hilo cuelgue hacia fuera **(Cueto, et al. 1993).**
- El vástago se coloca dentro del aplicador por el extremo libre hasta que haya contacto con la esponja **(Cueto, et al. 1993).**
- El aplicador es humedecido externamente con vaselina **(Cueto, et al. 1993).**
- Para facilitar la maniobra de colocación de la esponja es conveniente que la hembra esté parada en posición natural. El aplicador y vástago son introducidos suavemente hasta el fondo de la vagina **(Cueto, et al. 1993).**

- El tubo aplicador se retira unos 3-4 cm manteniendo el vástago en su sitio, hasta liberar la esponja (Cueto, et al. 1993).
- Para retirar la esponja, se tira firme pero suavemente del hilo hacia atrás, manteniendo una leve inclinación hacia abajo (Cueto, et al. 1993).
- Si algún animal no presentase el hilo visible, será aconsejable verificar por medio de un vaginoscopio, que la esponja no se encuentre en el interior de la vagina (Cueto, et al. 1993).

1.3.5 Inseminación Intrauterina vía Laparoscopia

La IA es una técnica apropiada para la dispersión genética, y es una poderosa herramienta para incrementar el número de genotipos superiores en forma rápida. Existen varios métodos de IA en ovejas, entre ellos la IA vía laparoscópica (IAL), la cual involucra una cirugía menor (laparoscopia) donde el semen es depositado dentro de los cuernos úterinos, dando resultados satisfactorios, y flexibiliza la selección de sementales, especialmente por uso de semen congelado. La IAL tiene un porcentaje de efectividad entre el 50-80% al usar semen congelado (Rodríguez, et al. 2007).

Procedimiento:

La deposición del semen directamente dentro del lumen uterino, evitando la barrera natural del cérvix, ha mejorado de una forma radical la fertilidad. Se les suprime el agua y alimento por 12-16 horas, antes de practicar la operación esta medida reduce el contenido de la vejiga y el rumen, lo que da por resultado una más fácil localización del útero y evita asimismo, la regurgitación del contenido ruminal durante la laparoscopia, se rasura y

esteriliza la piel del área anterior de la ubre, se anestesia localmente en un espacio de 5-7 cm. delante de la ubre y 3-4 cm. de cada lado de esa línea **(Hafez y Hafez, 2000)**.

A continuación se anestesia localmente por ejemplo 2-4 ml de clorhidrato de lidocaína al 2% inyectada por vía subcutánea, 5-7 cm. anteriores a la ubre y 3-4 cm. laterales a la línea alba. Poner especial cuidado para evitar lesionar vasos sanguíneos al poner la anestesia. Se hacen dos pequeñas incisiones para permitir la entrada de las cánulas **(Hafez y Hafez, 2000)**.

La cavidad es insuflada con oxígeno o gas para facilitar la localización y manipulación del útero al que se le encuentra anterior a la vejiga. La pipeta inseminatoria (aguja hipodérmica) es introducida vía una segunda cánula y se inserta en la pared del útero hasta el lumen liberándose el semen **(Hafez y Hafez, 2000)**.

Normalmente se inseminan ambos cuernos uterinos antes de retirar el aparato. El tiempo tomado por hembra para la inseminación con esta técnica es de 1-2 minutos dependiendo de la habilidad del operador. Cuando se utiliza semen fresco con este método se logran fertilizaciones mayores del 80%, con semen congelado los rangos alcanzados van desde 50 hasta 80% de concepción **(Hafez y Hafez, 2000)**.

1.3.5.1 Sincronización de estro

Las borregas serán sincronizadas el estro con esponjas intravaginales (Las esponjas intravaginales Syntex® son esponjas de poliuretano con 60mg de acetato de Medroxiprogesterona (PROGESPON®), insertadas en la vagina por un periodo de 14 días y al final del tratamiento progestacional se aplicará

NOVORMON® es una preparación altamente purificada de Gonadotropina Coriónica Equina (eCG o PMSG) producida por SYNTEX ® S.A. similar al protocolo utilizado por (Mellisho, *et al.*, 2006).

1.4 Antecedentes de trabajos de investigación realizados en inseminación artificial por vía laparoscopia.

1.4.1 MELLISHO, et al. 2006. “Inseminación intrauterina vía laparoscópica de ovejas Black Belly con semen congelado”.

El estudio tuvo por objetivo evaluar la tasa de preñez de ovejas Black Belly criadas de forma estabulada en la costa peruana y que fueron inseminadas intrauterinamente vía laparoscópica con semen congelado.

Los animales fueron divididos de acuerdo a su edad e historia reproductiva en borreguillas (n = 21) y ovejas (n = 17). La sincronización del estro se realizó con esponjas intravaginales (60mg de acetato de medroxiprogesterona) por 13 días y la aplicación de 300 UI de gonadotropina coriónica equina al retiro de las esponjas.

La inseminación se realizó a tiempo fijo (62-65 h del retiro de la esponja intravaginal) usando un pellet de semen congelado (0.4ml con 40 x 10⁶ espermatozoides) en el lumen de cada cuerno uterino. No se utilizaron sedantes ni tranquilizantes.

El diagnóstico de preñez por ecografía transrectal se hizo 35 días después de la inseminación artificial. No se encontraron diferencias significativas en la tasa de preñez a los 35 días después de la inseminación laparoscópica entre las borreguillas (71.4%) y las ovejas (64.7%). Las altas tasas de preñez

obtenidas al inseminar ovejas vía laparoscópica con semen congelado hacen elegible esta técnica para reproducir carneros élite.

1.4.2 DEPAZ, et al. 2011. “Efecto del tratamiento corto de progesterona en la fertilidad de ovinos pelibuey inseminado vía laparoscopia con semen congelado”.

Los resultados obtenidos de parición en el estudio, siendo un 70% para ovejas y 66.66% para borreguillas. El momento de la inseminación con respecto a la ovulación es fundamental para lograr el éxito de la IA y, para esto, es determinante el método de sincronización del estro y la respuesta ovulatoria de las hembras.

Como resultados del tratamiento, un alto porcentajes de ovejas muestran estro, pero la fertilidad es inferior a la del celo natural. Esta baja fertilidad posiblemente debido a los cambios hormonales, dando como resultado una asincronía entre el estro, la ovulación y el transporte espermático. En condiciones de trópico las ovejas pelibuey reproducidos en monta natural presentan 1.3 crías/parto. Sin embargo, en el tratamiento corto de progesterona del experimento la respuesta a la parición fue de 1.88 crías/parto (188% de prolificidad), siendo partos 10/25 simples, 10/25 dobles, 3/25 triples, 2/25 cuádruples.

En conclusión es viable el uso de un tratamiento de progestágeno corto (6 días) para sincronizar celo de ovejas y obtener muy buena fertilidad y prolificidad.

1.4.3 RODRÍGUEZ-MÁRQUEZ, et al. 2007. “Inseminación Artificial Intrauterina en Ovejas Vía Laparoscópica con Semen Congelado en Pajuelas y Pellets”.

Se utilizaron veintisiete (27) ovejas mestizas West African, divididas en dos grupos (G1: n=13, inseminadas con semen congelado en Pajuelas; G2: n=14, inseminadas con semen congelado en Pellets). Los animales se sincronizaron con esponjas intravaginales impregnadas con 60 mg de acetato de Medroxiprogesterona (MAP), fueron IA vía laparoscópica con semen de carneros de la Raza Dorper.

Se realizó una estadística descriptiva y pruebas de t-Student. El 95% de los animales retuvieron las esponjas en la vagina, y el 100% presentaron celo dentro de las 36 horas siguientes al retiro de las esponjas; demostrando que la sincronización del estro en la oveja es un método efectivo el cual puede ser utilizado a gran escala en las explotaciones ovinas de la región.

La tasa de preñez para el G1 y para el G2 fue del 71,4% y 38,5% respectivamente. Bajo las condiciones del presente estudio los resultados obtenidos dan muestra de una mayor efectividad de la técnica de IA vía laparoscópica en ovejas al utilizar semen congelado en pajuelas respecto al semen en pellets.

El peso promedio al nacimiento de estos mestizos ½ sangre Dorper fue de 3,367 (0.321) kg y 3,97 (0.618) kg para las hembras y machos respectivamente.

Conclusiones: La sincronización en la oveja utilizando esponjas intravaginales impregnadas con MAP es un método efectivo. Así mismo hubo

mayor efectividad de la técnica de IA vía laparoscópica en ovejas al utilizar semen congelado en pajuelas respecto al semen en pellets, y al introducir la raza Dorper en nuestros rebaños se logran pesos al nacer superiores al de nuestras ovejas criollas.

1.4.4 MELLISHO, E., TERREL, W. 2007. “Tasa de no retorno después de inseminación intrauterina vía laparoscópica con semen congelado de carneros australianos”.

El trabajo fue realizado en la Unidad de Producción Corpacancha de la SAIS Pachacutec, Junín, Sierra central del Perú a 4100 m.s.n.m. El objetivo fue evaluar la tasa de no retorno (36 días) después de la inseminación intrauterina vía laparoscópica con semen congelado de carneros australianos.

Se utilizaron 187 ovejas adultas (2 a 5 años) de tres razas Corriedale (n=125), Merino (n=30) y Hampshire Down (n=32) criadas en forma extensiva en pastos naturales y cultivados. La sincronización de estros se realizó con esponjas intravaginales (60 mg de Acetato de Medroxiprogesterona, MAP) insertadas por un periodo de 13 días y la aplicación de 333 UI de eCG (gonadotropina coriónica equina) al final del tratamiento progestacional.

La inseminación intrauterina vía laparoscópica se realizó a tiempo fijo (62-65h post retiro de la esponja intravaginal) depositando el contenido de una pajilla de 0,25 ml de semen de carnero Australiano en ambos cuernos del útero.

La tasa de no retorno al celo antes de los 36 días (posible preñez) fue de 54,7%, 58,8% y 44,4% en ovejas Corriedale, Merino y Hampshire Down,

respectivamente, mostrando diferencias estadísticas ($p>0,05$) entre la raza Hampshire Down con respecto a las razas Corriedale y Merino.

En conclusión, la inseminación intrauterina vía laparoscópica utilizando semen congelado, es una herramienta muy útil para poner en marcha programas de mejoramiento genético a gran escala en ovinos.

1.4.5 GARCÍA, et al. 2000. “Inseminación Artificial Intrauterina Vía Laparoscópica en ovejas de raza Castellana”

Para la difusión del material genético se ha utilizado la inseminación artificial intrauterina por vía laparoscópica con semen descongelado (7 ganaderías). En este trabajo, se ha evaluado por primera vez dicha técnica en esta raza obteniéndose una fertilidad media del 60,97% ($n=638$).

Analizando algunos factores de variación de la fertilidad se observaron diferencias significativas ($p<0,05$) en distintas épocas del año, (mejor en otoño que en primavera), en las diferentes ganaderías y en los distintos años (1998: 70,00%, 1999: 43,79% y 2000: 68,71%) en que se realizaron las inseminaciones.

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. UBICACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Centro de Investigación y Producción de Chuquibambilla (CIP-CH), del programa de ovinos, (sector de Buena Vista), pertenece a la Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia, de la Universidad Nacional Altiplano- Puno. Este centro se encuentra ubicado en el Distrito de Umachiri, Provincia de Melgar, Departamento de Puno, a una altitud aproximadamente de 3874 m.s.n.m. comprendido entre las coordenadas 14° 47'35" latitud sur, 70° 43'50" longitud oeste. A 156 Km de la carretera Puno – Cusco, Km 1235 de la panamericana sur. Caracterizándose por presentar dos épocas bien definidas, una lluviosa (noviembre-abril) y la otra seca (mayo-octubre).

2.2. DURACIÓN DEL EXPERIMENTO

El presente trabajo tuvo una duración de 3 meses, iniciando con la selección de las borregas y culminando con la evaluación de preñez mediante

ecografía.

2.3 MATERIAL EXPERIMENTAL

2.3.1 Animales

- Para el presente trabajo se utilizaron 25 borregas de la categoría 2 a 6 dientes, de la raza Corriedale, estas se seleccionaron de acuerdo a su condición corporal y solamente fueron admitidos para presente estudio borregas con una condición corporal de 2.5 del lote de animales que no quedaron preñadas en la época reproductiva (mayo- julio).
- Se utilizó un carnero de la raza Corriedale del programa de ovinos, con fertilidad comprobada, del C.I.P. “Chuquibambilla”

2.3.2 Instalaciones

Las instalaciones fueron del programa de ovinos, del Centro de Investigación y Producción de Chuquibambilla y se contó con los siguientes ambientes:

- Mangas, Corral de aparto, donde se realizó la separación y manejo de borregas para el trabajo de investigación ubicado en el sector de Buena Vista.
- Brete para la colección de semen,
- Sala de inseminación (para la inseminación laparoscópica).
- Corrales post servicio, lugar donde se observó la presentación de celo de las borregas, frente a la presencia de los machos.
- Dormidero,

2.3.3 Materiales y equipos

Para la colección, evaluación y dilución de semen de carnero para la

inseminación son los siguientes:

- Vagina artificial para ovinos
- Tubo falcón graduado
- Microscopio
- Papel toalla
- Termo
- Platina térmica
- Termómetro
- Lamina porta objetos
- Lamina cubre objetos
- Motor
- Dilutor (ANDROMED).
- Ecógrafo
- Laparoscopio
- Mangas de sujeción.

2.3.4. Hormonas utilizadas para la sincronización de celo

- Gonadotropina corionica equina (eCG), NOVORMON®, SYNTEX ®S.A.
- Acetato de medroxiprogesterona (MAP); esponjas de poliuretano (PROGESPON ®), 60mg de (MAP), laboratorio SYNTEX ®S.A.

2.4 METODOLOGÍA

2.4.1 Selección de las borregas.

Se seleccionaron 25 borregas de la raza Corriedale, Las borregas para este trabajo de investigación fueron tomadas de la punta de vacías de (700

borregas aproximadamente), considerando solo las categorías comprendidas entre los 2 y 6 dientes según cronología dentaria (Alencastre, 1997). Se realizó la identificación mediante el número de aretes, y para su fácil identificación se pintó a nivel de la frente.

2.4.2 Preparación de borregas y alimentación

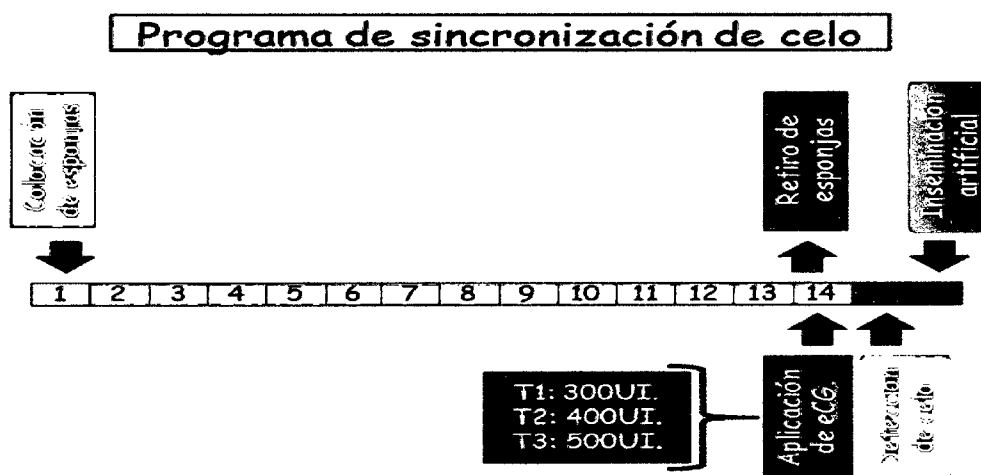
Fueron trasladadas a los corrales de plantel, ubicado en Buena vista, 24 días previos para el proceso de adaptación, se reforzó su alimentación con pastos cultivados, alfa alfa (*Medicago sativa*), ray grass (*Lolium perenne*) y agua ad libitum, pastoreados en canchas cercadas.

2.4.3 Protocolo de sincronización de celo

Tuvo la siguiente metodología:

Colocación de las esponjas intravaginales con 60mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP); (PROGESPON®), el día 0, estas permanecieron por 14 días, al término de este tiempo fueron retiradas, e inmediatamente se aplicó Gonadotrofina Corionica Equina (eCG), NOVORMON® 5000 UI.

Gráfico: 1



Fuente: Elaboración propia

a. Colocación del dispositivo intravaginal.

Para la aplicación de los dispositivos intravaginales se realizó el siguiente procedimiento;

- Cada una de las borregas fue sujeta, colocando el cuello de la borrega entre las piernas del operario, lo cual permitió la inmovilización, y con las manos se sujetaron a nivel de las cañas adoptando esta una posición boca abajo.
- Se realizó la higienización perineal, retirando las cascareas y restos de heces adheridos a la vulva con papel toalla.
- La inserción de los dispositivos se realizó, utilizando un espejo el cual fue lubricado con aceite mineral, el cual permitió que no existiera lesión alguna en el ingreso hacia el lumen vaginal
- Las esponjas fueron comprimidas en un extremo del espejo para luego ser empujados y depositados lo más al fondo del lumen vaginal.
- Finalmente se retiró el espejo, se dejó el extremo libre de hilo de la esponja colgando por la comisura inferior de los labios vulvares.

b. Retiro del dispositivo intravaginal

- Transcurridos los 14 días de la inserción de los dispositivos intravaginales éstos fueron retirados, para ello las borregas fueron sujetadas de la misma manera que para la inserción de las esponjas.
- Se ubicó el extremo libre del hilo del dispositivo intravaginal pendulante en la vulva de las borregas, para luego ser removidas de manera lenta, traccionando de manera firme, pero suavemente hacia atrás, y manteniendo una leve inclinación hacia abajo.

- En las borregas que no presentaron hilo visible, se recurrió al uso del espejo, para verificar la presencia de la esponja y posterior retiro con la ayuda de una pinza larga estéril.
- En los animales que presentaron adherencia de los laterales de las esponjas a las paredes internas de la vagina al momento de su retiro, se realizó una leve debridación con la ayuda de una pinza larga estéril y con el mismo espejo.

c. Administración de eCG post retiro del dispositivo.

- La administración de eCG fue realizada por vía intramuscular teniendo en cuenta los cuidados de asepsia.
- Para la aplicación se realizó según la siguiente metodología: se transportó en una caja térmica tanto frasco ampolla conteniendo 25ml de solvente, como el frasco ampolla conteniendo 5000 U.I. de eCG con el principio activo. Momentos antes de realizar la aplicación se realizó la mezcla respectiva del producto liofilizado con el solvente.
- Se cargó las dosis necesarias según el tratamiento, así para aquellas borregas que fueron sincronizados con 300U.I. se cargó 1.5 ml, para las de 400 U.I. se cargó 2.0 ml y para la de 500 U.I. se cargó 2.5 ml del producto ya diluido.
- Se desinfectó la parte media de la región de la nalga de cada borrega y se aplicó la inyección intramuscular profunda con la dosis determinada.

2.4.4 Determinación de celo en las borregas sincronizadas

- Se empleó un carnero entero que tubo sujeto un mandil para la detección de celo, dicho carnero fue introducido, en el corral de las borregas

sincronizadas luego de las 24 horas de haber retirado los dispositivos intravaginales y haber aplicado eCG.

- El carnero permaneció con las borregas en la mañana y tarde.

2.4.5 Colección de semen por vagina artificial

- Se realizó la limpieza previa del vientre del macho, así como del área prepucial, para evitar la contaminación del semen.
- Se armó la vagina artificial para ovinos, con el siguiente procedimiento; primero la funda se introdujo en la vagina artificial y esta fue sujeta con las bandas elásticas, se adicionan agua caliente, (41°C), ingresando el agua hasta la mitad de la capacidad de la vagina. Se colocó el vaso colector al extremo correspondiente asegurándolo, y posteriormente se insufló con aire a través de la válvula, determinando la presión correcta, la que permitió el ingreso del pene del carnero. Además se controló la temperatura con un termómetro estéril, siendo la óptima de colección 39 (Cueto et al., 2007), finalmente se lubricó con vaselina líquida el extremo libre.
- La colección se realizó en un brete, utilizando una borrega como señuelo, colocándose el operador al lado derecho del macho, de modo que su diestra sujete la vagina artificial con el extremo abierto frente al prepucio en un ángulo de 45° con respecto al piso, estando preparado para la monta y eyaculación.
- Cuando el macho saltó, el pene se desvió lateralmente, para ser colocado a la vagina artificial. Un “golpe” del animal hacia arriba y hacia delante indicó que la eyaculación ocurrió.

- Inmediatamente después del salto, el tubo de colección se protegió con la mano, de los cambios bruscos de temperatura y fue colocado en un baño maría a 37°C, para evitar el shock térmico.

a. Evaluación del semen.

Luego de la colección, el semen fue en todo momento protegido de los cambios bruscos de temperatura, contacto con el agua, radiación solar e impurezas. Se usó solo el material previamente preparado, seco, esterilizado y atemperado.

- **La evaluación macroscópica**, consistió en tomar en cuenta las características observables de la muestra.
- **Volumen:** se midió utilizando un tubo de colección graduado. Siendo la cantidad aproximada de 1 ml.
- **Color:** se observó en el momento inmediato a la colección por valoración cualitativa, siendo cremoso tenue el color del semen obtenido.
- **La evaluación microscópica**, consistió en la determinación de la **motilidad masal**; realizando previo homogenización del eyaculado por agitación suave del tubo de colección, se saca una gota de semen colectado sobre la lámina porta objetos templada en platina térmica para la observación microscópica con 10X aumentos. La motilidad masal seminal se estimó por la velocidad de formación y deformación de ondas, estimando el vigor del movimiento de las ondas en la escala subjetiva de motilidad (0 a 5), y del eyaculado fue de 3.5.

b. Dilución del semen.

- Para el semen colectado se utilizó como dilutor ANDROMED.

- La dilución del semen se realizó luego de la colección, para ello el colector con semen se colocó en baño maría a 37 °C, al igual que el dilutor, para que en el momento de la dilución tenga la misma temperatura.
- Se usó una pipeta calibrada, esterilizada y seca para adicionar el dilutor (ANDROMED) de manera lenta por las paredes del vaso colector, mezclando con movimientos suaves de adelante hacia atrás o con la misma pipeta.
- Para la dilución se realizará de acuerdo a las siguientes formulas:

$$\text{N}^\circ \text{ de dosis} = \text{volumen en cm}^3 \times \text{concentración espermiática en ml} / 100$$
millones de espermatozoides por dosis

$$\text{Volumen total de dilución} = \text{N}^\circ \text{ de dosis} \times 0.20 \text{ ml (Quispe, F. 2013).}$$
- Finalmente se realizó una dilución de 1: 4; es decir 1ml de semen colectado más 4 ml de dilutor (ANDROMED).
- Posteriormente a ello se evaluó la motilidad.

2.4.6 Inseminación artificial laparoscópica intrauterina.

a. Preparación de las borregas a inseminar.

- Las borregas que presentaron celo, fueron separadas y permanecieron en ayuno de agua y forraje durante 18 horas previas a la inseminación. Con la finalidad de que el contenido ruminal no interfiera en la inseminación laparoscópica intrauterina.
- Previamente se realizó la higienización realizando la esquila del tercio posterior de la región del vientre por delante de la ubre, además esta área fue rasurado con una longitud de 10 cm. (5cm craneal y caudal de la línea

alba respectivamente) y 5cm a cada lado de la línea alba.

- Las borregas ya preparadas se colocaron en posición dorso ventral en la camilla reclinable sujetando sus extremidades a los cuatro soportes de la camilla.
- Las camillas se inclinaron a un ángulo de 45°, se realizó la desinfección con alcohol yodado empapando con torundas de algodón, para realizar la antisepsia y tener un menor riesgo de contaminación al realizar la punción o trocarización.

b. Inseminación artificial laparoscópica en las borregas.

- Se realizó la incisión al lado izquierdo de 1 cm incidiendo piel y parte del tejido subcutáneo, a 4 cm de la línea alba y 7 cm delante de la ubre; por esta incisión se introdujo el periscopio o visor, a la cavidad abdominal que permitió visualizar los cuernos uterinos y ovarios.
- Por la incisión del lado derecho se introdujo el segundo trocar (5 mm de diámetro), con su cánula, por la cual se introdujo el aplicador de semen (dosis de semen).
- Se observó mediante el visor, la ubicación de los cuernos uterinos en el tracto reproductor de la borrega. En este momento la cavidad se infló con CO₂ (dióxido de carbono) y permitió observar mejor los cuernos uterinos una vez observados y localizados los cuernos uterinos, se realizó la inseminación artificial, para ello se realizó un áspic adaptado, el mismo que fue fabricado con una aguja hipodérmica (25 G de diámetro y de 5mm de longitud) incorporado al extremo anterior de la funda de inseminación artificial.

- Localizados los cuernos, se ubicó la curvatura de los cuernos uterinos y se realizó la punción en la parte media, la inseminación se realizó en ambos cuernos usando la mitad en cada cuerno uterino.
- Finalizada la inseminación y antes de retirar los trocares se procuró que saliera la mayor cantidad posible de aire que se había introducido a la cavidad abdominal, seguidamente se realizó una sutura simple colocando 2 puntos quirúrgicos de confrontación, una vez concluida la sutura se aplicó un cicatrizante.
- Las borregas fueron trasladadas a un corral de descanso por 2 horas.

2.4.7 Diagnóstico de gestación por ecografía transrectal.

El diagnóstico de gestación en las borregas se realizó a los 26 días post inseminación laparoscópica.

- Para realizar el diagnóstico de gestación se utilizó un ecógrafo de transductor lineal veterinario madison con una frecuencia de 7.5 Mhz.
- Antes de la ecografía los animales fueron sometidos a 12 horas de ayuno.
- Las borregas fueron colocadas en un brete que permitió la inmovilización de las mismas, se realizó la limpieza y evacuación de las heces, y a continuación el transductor del ecógrafo fue acondicionado con un guante obstétrico al cual se le aplicó gel ecográfico y se lubricó con aceite mineral, por el recto.
- Una vez introducido el transductor del ecógrafo se comenzó a localizar los cuernos uterinos guiándose por la presencia de la vejiga con el fin fue detectar la vesícula embrionaria, se caracteriza por una dilatación no ecogénica en la luz uterina, limitada por una pared de ecogenicidad

variable, bien por la presencia del embrión caracterizado por una zona hiperecogénica en el interior de la vesícula embrionaria o por la identificación del latido cardíaco que aparece como una fibrilación rítmica. (Roy et al., 1998).

2.4.8 Determinación del porcentaje de fertilidad

La fertilidad fue determinada usando la siguiente fórmula:

Fórmula 01. Determinación de la tasa de fertilidad.

$$F (\%) = \frac{\text{Numero de borregas gestantes}}{\text{Numero de borregas puesta a inseminación}} \times 100$$

Dónde: F (%): tasa de fertilidad en porcentajes.

2.5 DISEÑO ESTADÍSTICO

Para el análisis de las variables respuesta: borregas que mostraron estro, tasa de fertilidad ecográfica; se realizó un análisis cualitativo de los datos. Sin embargo, la comparación de resultados entre los grupos de tratamientos, este fue por la prueba de chi-cuadrado (0.05), cuya fórmula general es:

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \frac{(n_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}}$$

Dónde: n_{ij} es la frecuencia observada

e_{ij} frecuencia esperada

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. TASA DE PRESENTACIÓN DE CELO

Respecto a la presentación de celo se observó lo siguiente: las borregas sincronizadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP), más una dosis de 300, 400 y 500 UI. (eCG) presentaron celo en un 100 %, 87.5% y 100% respectivamente, no existiendo diferencia significativa ($p \geq 0.05$).

Cuadro 1. Porcentajes de presentación de celo en borregas sincronizadas con Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) y diferentes dosis de Gonadotrofina Corionica Equina (eCG).

TRATAMIENTOS			
INDICADORES	T1(300 UI)	T2(400 UI)	T3(500 UI)
Tamaño de muestra (n)	8	8	8
Presentaron celo	8	7	8
No presentaron celo	0	1	0
Tasa de presentación de celo (%)	100	85.7	100

Fuente: elaboración propia

($p \geq 0.05$)

En los resultados del **Cuadro 1**, se observa que entre los tres tratamientos no existe diferencia significativa para la presentación de celo ($P \geq 0,05$); después del retiro de la esponja de (MAP), más la aplicación de 300 UI, 400 UI, y 500 UI de eCG presentaron celo en 100%, 85.7 % y 100% respectivamente, los cuales son superiores a los reportados por Quispe, (2011). Quien utilizó esponjas intravaginales de 60mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP), por 14 días, con una combinación de 300UI de eCG al momento de remoción de la esponja y reportó una tasa de presentación de celo de 95.6% en época no reproductiva en borregas de la raza corriedale.

Rodríguez – Marquez (1997), mencionan que los niveles de eCG no intervienen en la presentación de celo en las borregas, quienes utilizando esponjas impregnadas con 60 mg de MAP por espacio de 13 días, obtuvieron el 100% de los animales con celo, dentro de las 36 horas siguientes al retiro de las esponjas. Al respecto en el presente trabajo de investigación al utilizar diferentes tratamientos 300, 400 y 500UI de eCG, se demostró que esta tiene un efecto de acortamiento de horas en la presentación de celo, post retiro de la esponja de acetato de medroxiprogesterona (MAP), debido a que la eCG actúa estimulando en forma directa el desarrollo folicular y la ovulación en la mayoría de las especies domésticas y las esponjas intravaginales (MAP) utilizadas en borregas de forma previa, inhiben la liberación de hormonas luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH) de la hipófisis, frenando el desarrollo folicular y la ovulación hasta el momento deseado. Cuando los progestágenos son retirados, la concentración de Progesterona en sangre cae rápidamente con lo cual el animal puede entrar en celo y la administración de

(eCG-Novormon®) en ese momento estimula el desarrollo folicular y potencia la acción sincronizante de los progestágenos asegurando una perfecta sincronía de celos fértiles

3.2. PORCENTAJE DE FERTILIDAD OBTENIDO EN BORREGAS.

El porcentaje de fertilidad obtenida en cada uno de los tratamientos, luego de la ecografía a los 26 días posteriores a la inseminación, se obtuvo los siguientes resultados: las borregas sincronizadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) más una dosis de 300 UI, 400UI y 500 UI de gonadotropina corionica equina (eCG), se obtuvo los siguientes resultados 25%, 57.1 y 62.5% respectivamente existiendo diferencia significativa ($p \geq 0.05$)

Cuadro 2. Porcentaje de fertilidad obtenida en borregas sincronizadas a distintas dosis de Gonadotropina Corionica Equina (eCG).

INDICADORES	TRATAMIENTOS DE eCG		
	T1(300 UI)	T2(400 UI)	T3(500 UI)
Tamaño de muestra (n)	8	7	8
Preñadas	2	4	5
Vacías	6	3	3
Fecundidad (%)	25.0 %	57,1 %	62.5 %

Fuente: elaboracion propia ($p \geq 0.05$)

Los resultados del cuadro 2 muestran, el porcentaje de fertilidad para las borregas sincronizadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP), mas una dosis de 300, 400 y 500 UI. (eCG), obteniendo una fertilidad de 25.0 %, 57.1% y 62.5% respectivamente, para los tratamientos existiendo una diferencia significativa ($p \geq 0.05$) entre el T3 sobre T1 . mas no sobre el T2 , teniendo un efecto positivo la adición de 500 de eCG con respecto a las dosis de 400 y 300 bajo las mismas condiciones del presente estudio los resultados obtenidos dan muestra de una mayor efectividad de la técnica de IA vía laparoscopica en ovejas al utilizar dosis de 500 UI de eCG con respecto a los dosis de 400 UI y 300 UI de eCG.

Los resultados reportados por Luther, et al., (2006) quien utilizo solo el dispositivo CIDR como programa de sincronización e inseminación artificial (IA) laparoscopica con semen congelado 54–56 h luego del retiro del CIDR, mostrando un 41.2% de tasa de preñez con progesterona sola; mientras con progesterona (CIDR) mas eCG con 73,7%. Por lo tanto los resultados obtenidos en el presente trabajo la eCG aumenta la tasa de preñez, y es superior a los resultados obtenidos, con esponjas intravaginales de acetato de medroxiprogesterona (MAP) mas gonadotropina corionica equina (eCG).

Los dispositivos CIDR es de material polietileno impregnados de acetato de progesterona son de liberación lenta y se liberan en su totalidad y las esponjas intravaginales contienen tambien acetato de medroxiprogesterona pero estas esponjas tiende a impregnarse a las paredes formando capsulas y no se liberan en su totalidad

los resultados obtenidos por Mellisho y Terrel (2007), quienes utilizaron

esponja intravaginal con 60mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP), insertadas por un periodo de 13 días y la aplicación de 333UI. de gonadotropina corionica equina (eCG), inseminadas por laparoscopia con semen congelado, a tiempo fijo (62-65hr) obtubieron 54.7 %, estos resultados obtenidos son superiores al T1, se debe a la epoca de experimento, pero inferior a los resultados T2 y T3, a dosis mayores de eCG se incrementa la tasa de preñez en la epoca no reproductiva

En cuanto a la clase fisiologica de borreguillas, tenemos la referencia de Mellisho et al. (2006) quienes reportan 71.4% de tasa de preñez en estacion no reproductiva en un estudio en ovejas de la raza Black Belly inseminadas intrauterinamente vía laparoscopica con semen congelado peletizado, luego de la sincronizacion con esponjas intravaginales con 60mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 13 días y la aplicación de 300UI de gonadotropina corionica equina (eCG) y con diagnostico de preñez por ecografia transrectal a los 45 días y en crianza estabulada; si bien es mas alto el porcentaje obtenido en epoca no reproductiva, pero difiere por las condiciones de experimentacion y la raza prolifica en la que experimentaron ; siendo determinante para el presente estudio la condicion extensiva del manejo, y una distinta raza ovina mucho mas susceptible a la estacionalidad como lo son las hembras Corriedale.

La respuesta a la fertilidad varian grandemente, cuando se aplica esponjas vaginales ello dependera de la raza, tratamiento complementario, manejo y sistema de explotacion (Alvares, 1999), dentro del trabajo realizado se pudo apreciar que la fertilidad media obtenida se debio basicamente al aspecto

nutricional debido a que las borregas se encontraban en condicion corporal baja de 2.5, dentro de la escala de 1 a 5, si bien es cierto que la condicion corporal es un determinante para la buena fertilidad. Otros aspectos que influyen en la fertilidad se pueden atribuir de cierto modo al manejo del semen durante la coleccion y evaluacion. Se puede atribuir tambien una disminucion de la fertilidad como consecuencia de los tratamientos largos con progestagenos y gonadotropina corionica equina (eCG) que pueden estar asociados con la ovulacion de foliculos con vida media prolongado (viñoles et al., 1999), estos resultados mejora la tasa de preñez, se debe al efecto de la gonadotropina corionica equina (eCG).

Depaz et al. (2011), obtuvo un 70% para ovejas y 66.6% para borreguillas de la raza pelibuey ; siendo superiores a nuestros resultados, la sincronizacion del estro lo realizó con esponjas intravaginales con 60mg de acetato de medroxiprogesterona, (MAP) por 06 dias (tratamiento corto), ademas de una aplicacion de 300 UI de gonadotropina corionica equina (eCG Folligon) al retiro de las esponjas. Estos son superiores debido a que la raza es un factor que influye en la prolificidad y estos ovinos pelibuey tienen la características de ser prolificos, tambien fueron criados bajo un sistema de crianza estabulada y son de climas tropicales.

Del mismo modo Rodriquez et al., utilizo ovejas de la raza mestizas West African, divididas en dos grupos (G1: n=13, inseminadas con semen congelado en Pajuelas; G2: n=14, inseminadas con semen congelado en Pellets). Los animales se sincronizaron con esponjas intravaginales impregnadas con 60 mg de acetato de Medroxiprogesterona (MAP), por

espacio de 13 días . entre las 50 y 52 horas de retirada las esponjas y fueron inseminadas vía laparoscópica con semen de carneros de la Raza Dorper. La tasa de preñez para el G1 y para el G2 fue del 71,4% y 38,5% respectivamente. Bajo las condiciones del presente estudio los resultados obtenidos dan muestra de una mayor efectividad de la técnica de IA vía laparoscópica en ovejas al utilizar semen congelado en pajuelas respecto al semen en pellets. Este experimento se realizó en época reproductiva y diferente raza donde los resultados obtenidos es superior el grupo G2 pero inferior el grupo G1 a los T2 y T3 según el cuadro obtenido.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- La tasa de preñez en borregas de la raza Corriedale, tratadas con esponjas intravaginales impregnadas de acetato de medroxiprogesterona (MAP) y con Gonadotropina Corionica Equina (eCG) en dosis de 300, 400 y 500 UI, en epoca no reproductiva fue de 25%, 57.1 y 62.5%, respectivamente, mediante inseminacion artificial intrauterina por via laparoscopica.
- La tasa de presentacion de celo para borregas de la raza Coriedae, luego del tratamiento hormonal con las esponjas intravaginales inpregnadas con acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 14 dias y la aplicación de Gonadotrofina Corionica Equina (eCG) según los tratamientos 300, 400 y 500UI fue de; 100%, 87.5% y 100% respectivamente.

4.2. RECOMENDACIONES

- Probar otros protocolos de sincronización de celo acortando el número de días de permanencia de las esponjas intrauterina.
- Utilizar dosis diferentes de gonadotrofina corionica equina (eCG)
- Desarrollar trabajos de investigación similares en la región Ayacucho.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- CUETO, M., GIBBONS, A., 1993. "Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino". Rev. Argentina Prod. Anim.
- 2.- DEPAZ, B., Y., MELLISHO, E. 2011. "Efecto del tratamiento corto de progesterona en la fertilidad de ovinos pelibuey inseminado vía laparoscopia con semen congelado". Rev. Spermova.
- 3.- FAO 1999. "Perspectivas de la investigación sobre reproducción ovina en América Latina en el marco de las actuales tendencias productivas". Disponible en: <http://www.alpa.org.ve/PDF/Arch%2010-2/arch-8.pdf>.
- 4.- GARCÍA, A., ANEL, E., 2000. "Inseminación Artificial Intrauterina Vía Laparoscópica en ovejas de raza Castellana": resultados preliminares. Reproducción animal universidad de león.
- 5.- GIBBONS, A., CUETO. M. 1993. "Manual de inseminación artificial en la especie ovina. Grupo de reproducción del INTA Bariloche, Rev. Argentina.
- 6.- GIBBONS, A., CUETO. M. 2007. "Manual de inseminación artificial con semen fresco en ovinos": Grupo de reproducción del INTA Bariloche, Rev, Argentina, N° 57
- 7.- GIBBONS, A., CUETO. M. 2009. "Manual de inseminación artificial con semen congelado en ovinos". Grupo de reproducción del INTA-EEA Bariloche, Rev, Argentina, N° 53.
- 8.- HAFEZ, E.S.E. Y HAFEZ B., 1989. "Reproducción e inseminación artificial en animales", Ed. McGraw-Hill Interamericana.

- 9.- HAFEZ, E.S.E. Y HAFEZ B., 2000. “Reproducción e inseminación artificial en animales”, Ed. McGraw-Hill Interamericana, 7ª ed. México, D.F
- 10.- HAFEZ, E.S.E. Y HAFEZ B., 2002. “Reproducción e inseminación artificial en animales”, Ed. McGraw-Hill Interamericana, 7ª ed. México, D.F
- 11.- INEI - IV CENSO NACIONAL AGROPECUARIO 2012 (CENAGRO)
[proyectos.inei.gob.pe/web/.../Resultados Finales IVCENAGRO](http://proyectos.inei.gob.pe/web/.../Resultados_Finales_IVCENAGRO)
- 12.- JESÚS, R. 2000. “Efecto del flunixin Meglumine en el ciclo estras y la fertilidad de ovejas pelibuey bajo condiciones de trópico”. Tesis para obtener el grado de doctor, México.
- 13.- LÓPEZ, A., SANTIAGO, J., 1993. “Aspectos característicos de la fisiología reproductiva de la oveja, departamento de producción animal”, Rev. Científica, FCU-LUZ/Vol. III, N° 02 Madrid-España.
- 14.- MELLISHO, E., TERREL, W. 2007. “Tasa de no retorno después de inseminación intrauterina vía laparoscópica con semen congelado de carneros australianos”, APPA - ALPA - Cusco, Perú.
- 15.- MELLISHO, E., 2006. “Inseminación intrauterina vía laparoscópica de ovejas black belly con semen congelado”. Rev. Inv. Vet. Perú. 17 (2): 131-136
- 16.- QUISPE. F. 2013. “fertilidad con semen refrigerado y congelado mediante inseminación cervical en ovinos corriedale”
- 17.- RODRÍGUEZ, F. 2013. “Inseminación artificial en el Perú”, Sistema de Revisiones en Investigación Veterinaria de San Marcos (SIRIVS)

18.- RODRÍGUEZ-MÁRQUEZ, J., 2007. Inseminación Artificial Intrauterina en Ovejas Vía Laparoscópica con Semen Congelado en Pajuelas y Pellets, APPA - ALPA - Cusco, Perú.

ANEXO

Imagen n° 01. Centro de Investigación y Producción de Chuquibambilla (CIP-CH) perteneciente a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Altiplano de Puno (3874 m.s.n.m).



Retamozo 2014

Imagen n° 02. Selección de borregas para el presente trabajo de investigación



Retamozo 2014

Imagen n° 03. Colocación de esponja intravaginal con 60mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP).



Retamozo 2014

Imagen n° 04. Retiro de esponja intravaginal



Retamozo 2014

Imagen n° 05. Esponjas intravaginales luego del retiro



Retamozo 2014

Imagen n° 06. Aplicación de gonadotropina corionica equina (eCG), por vía intramuscular).



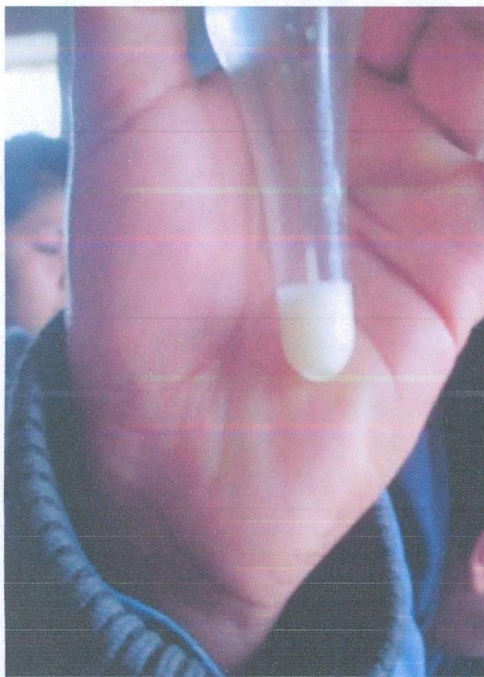
Retamozo 2014

Imagen n° 07. Colección y evaluación del semen



Retamozo 2014

Imagen n° 08. Semen colectado



Retamozo 2014

Imagen n° 09. Evaluación del semen



Retamozo 2014

Imagen n° 10. Inseminación artificial vía laparoscópica.



Retamozo 2014

Imagen n° 11. Ubicación de los cuernos uterinos



Retamozo 2014

Imagen n° 12. Ovinos en sala de descanso.



Retamozo 2014

Imagen n° 13. Evaluación de la preñez mediante la ecografía.



Retamozo 2014