

**Utilización de Leche Descremada Ultra Pasteurizada como Diluyente en Semen  
Refrigerado de Ovinos, Destinado a la Inseminación Intracervical**

**Vladimir Joaquín Parada Ortega**

Código: 1094248676

Universidad de Pamplona  
Facultad de Ciencias Agrarias  
Medicina Veterinaria  
Pamplona  
Noviembre, 2017

**Utilización de Leche Descremada Ultra Pasteurizada como Diluyente en Semen  
Refrigerado de Ovinos, Destinado a la Inseminación Intracervical**

**Vladimir Joaquín Parada Ortega**

Código: 1094248676

Trabajo de investigación presentado como requisito para optar al título de

**Médico Veterinario**

Director(a)

**Esp. Dubel Reinaldo Cely Leal**

Médico Veterinario y Zootecnista

Universidad de Pamplona

Facultad de Ciencias Agrarias

Medicina Veterinaria

Pamplona,

Noviembre 2017

**TABLA DE CONTENIDO**

1. EL PROBLEMA .....	10
1.2 Planteamiento del problema .....	10
1.3 Formulaci3n del problema .....	11
1.4 Justificaci3n.....	11
1.5 Objetivos .....	13
1.4.2. Objetivos espec3ficos: .....	13
2. ESTADO DEL ARTE .....	14
2.1 Marco te3rico .....	14
2.1.1 Inseminaci3n Artificial Intracervical en ovinos. ....	14
2.1.2 Extracci3n del semen. ....	17
2.1.3 Preparaci3n de las hembras para la inseminaci3n artificial. ....	18
2.1.4 T3cnicas de inseminaci3n.....	20
2.1.5 Espermatozoides.....	21
2.1.6. Diluyentes.....	24
2.2. Antecedentes.....	27
2.2.1. Referencias internacionales.....	27
2.2.2. Referencias nacionales. ....	28
2.2.3. Referencias similares: .....	29
3. DISEÑO METODOL3GICO .....	30
3.1 Tipo de investigaci3n .....	30

3.2 Metodología .....	31
3.2.1. Ubicación .....	31
3.2.2. Materiales.....	32
3.2.3. Proceso metodológico.....	37
3.3 Fuentes de información .....	48
3.4 Técnicas y procedimientos para la recolección de información .....	48
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
4.1 Resultados .....	49
4.1.1 Evaluación seminal en fresco.....	49
4.1.2 Evaluación seminal post dilución.....	52
4.2 Discusión.....	59
CONCLUSIONES .....	63
RECOMENDACIONES .....	64
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS .....	65
ANEXOS.....	68

**LISTA DE TABLAS**

Tabla 1. <i>Resultados generales para las variables: aspecto, color, y olor</i> .....	49
Tabla 2. <i>Promedio y Desviación estándar de las variables</i> .....	50
Tabla 3. <i>Promedio y DS de la concentración de espermatozoides por eyaculado</i>	50
Tabla 4. <i>Promedio y desviación estándar del % espermios vivos por eyaculado.</i>	51
Tabla 5. <i>Cantidad de morfoanomalías en fresco por colecta en cada animal</i> .....	51
Tabla 6. <i>Interacción de los factores individuo y tiempo en horas</i> .....	52
Tabla 7. <i>Interacción de los factores individuo y tiempo en horas</i> .....	53
Tabla 8. <i>Resultados del % de espermios vivos y muertos del experimento 1</i> .....	54
Tabla 9. <i>Resultados del % de espermios vivos y muertos del experimento 2</i> .....	55
Tabla 10. <i>Resultados del % de espermios vivos y muertos del experimento 3</i> .....	56
Tabla 11. <i>Morfoanomalias en semen post dilución</i> .....	57

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Plano de la Granja Experimental Villa Marina.....	31
Figura 2. Machos ovinos de la raza Dorper .....	32
Figura 3. Hembras ovinas de pelo colombiano.....	33
Figura 4. Materiales utilizados en el proceso.....	34
Figura 5. Limpieza previa .....	37
Figura 6. Técnica de electroeyaculación.....	38
Figura 7. Técnica de electroeyaculación y recolección de semen/muestra en colector ....	38
Figura 8. Muestra recolectada y análisis en el laboratorio de Reproducción.....	41
Figura 9. Muestra para realizar la valoración microscópica.....	41
Figura 10. Análisis microscópico y valoración.....	42
Figura 11. Muestra de semen en fresco .....	42
Figura 12. Alícuotas y submuestras.....	43
Figura 13. Esperma con tinción .....	44
Figura 14. Sincronizaciones del celo en las hembras ovinas.....	45
Figura 15. Inseminación intracervical con jeringa y catéter .....	46
Figura 16. Posición para que descienda el semen.....	47
Figura 17. Diagnóstico de gestación mediante ecografía.....	47
Figura 18. Graficas de motilidad individual.....	53
Figura 19. Grafica de porcentaje de espermios vivos.....	57
Figura 20. Porcentaje de tasas de preñez.....	58

## RESUMEN

El presente estudio de investigación muestra la utilización de leche descremada deslactosada ultra pasteurizada, como diluyente para semen de ovino refrigerado. La investigación se llevó a cabo en la Granja Experimental Villa Marina de la Universidad de Pamplona, empleándose 3 ovinos de 1 año y medio de edad, de la raza Dorper, seleccionados y preparados para este trabajo de investigación.

A estos se les colectó semen mediante electro eyaculador durante cuatro meses pre-experimental; luego se colectaron cada cuatro días hasta cumplir un total de 5 eyaculados por animal y obtener las muestras a intervenir; cada muestra idónea fue dividida en tres alícuotas, se evaluaron las características macroscópicas y microscópicas para poder ser diluidas en la leche descremada ultrapasterizada

Una vez diluida la muestra se determinaron las características seminales cuantitativas (porcentaje de espermatozoides vivos, porcentaje de espermatozoides muertos y morfoanomalías), y cualitativas (porcentaje de espermatozoides móviles y movimiento progresivo). Cada alícuota tratada se dividió en cuatro submuestras usando tubos Eppendorf para su evaluación a 3, 24, 48 y 72 horas post-refrigeración.

Posteriormente, se inseminaron 15 hembras ovinas de la raza Ovino de Pelo Colombiano (OPC), con semen refrigerado a 24, 48 y 72 horas, dando una tasa de preñes del 40% al grupo de 5 hembras inseminadas con semen refrigerado a 24 horas, y una tasa de preñes del 0% las inseminadas con semen refrigerado a 48 y 72 horas.

**Palabras clave:** Diluyente, leche descremada deslactosada ultrapasterizada, ovinos, semen.

## ABSTRACT

The present dissertation shows the use of fat-free skim milk, ultra-pasteurized 0% fat, as a diluent for refrigerated ovine semen. The research was carried out in the experimental farm Villa Marina of the University of Pamplona, using three sheep of one and a half years old, of the Dorper breed, selected and prepared for this work.

The semen was collected by using an electroejaculator for four months pre-experimental; then the samples were collected every four days until a total of 5 ejaculates per animal; each suitable sample was divided into three aliquots, whose macroscopic and microscopic characteristics were evaluated in order to be diluted in the skim milk, ultra-pasteurized.

Once the samples were diluted, the quantitative semen characteristics (percentage of live sperm, percentage of dead spermatozoa and morphoanomalies), and qualitative (percentage of mobile sperm and progressive movement) were determined. Each treated aliquot was divided into four subsamples using Eppendorf tubes for evaluation at 3, 24, 48 and 72 hours post-cooling.

subsequently, 15 female sheep of the Ovino de Pelo Colombiano (OPC) breed were inseminated, with semen refrigerated at 24, 48 and 72 hours, giving a 40% pregnancy rate to the group of five females inseminated with refrigerated semen at 24 hours, and a pregnancy rate of 0% inseminated with refrigerated semen at 48 and 72 hours

Key words: Diluent, ultrapasteurized skimmed milk, ovine, semen.



## INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial en varias especies, incluidos los ovinos, se ha hecho desde hace décadas con fines propios de la ciencia; la comercialización y, en otros casos, buscando el mejoramiento de las condiciones de la raza.

Con el avance de la ciencia y la tecnología, se han hecho pruebas de laboratorio y trabajo de campo, demostrando que la leche descremada ultrapasteurizada presenta las condiciones ideales para actuar como un diluyente de semen refrigerado en la inseminación intracervical de ovinos. Estas prácticas se vienen realizando alrededor del mundo, principalmente en lugares donde la topografía y el clima permiten la reproducción y estabilidad de la raza ovina.

Además, de esto se debe tener en cuenta la edad de los animales, la comida, la desparasitación, el desarrollo corporal y verificar el no estado de preñez de las hembras; como factores externos que inciden directamente en el procedimiento a seguir.

En el presente estudio se demostró la viabilidad, duración y la calidad del semen diluido con leche descremada deslactosada ultrapasteurizada y utilización del semen pos dilución refrigerado a 24 horas, 48 horas y 72 horas; obtenido de 3 machos de la raza Dorper, ubicados en la Granja Experimental Villa Marina, para inseminar 15 hembras ovinas de la raza Ovino de Pelo Colombiano (OPC) ubicadas en el municipio de Labateca en Norte de Santander.

Se hicieron las pruebas de campo correspondientes y correcciones en el momento de necesitarlas; anotando los resultados obtenidos para generar los resultados de soporte que mostraron, seguidamente, la favorabilidad del estudio.

## **1. EL PROBLEMA**

### **1.1 Título**

Utilización de leche descremada ultrapasteurizada como diluyente en semen refrigerado de ovinos, destinado a la inseminación intracervical

### **1.2 Planteamiento del problema**

En la actualidad, se han experimentado y utilizado numerosos diluyentes para la preservación de semen ovino refrigerado; la mayoría de ellos se basan en la leche entera o sus derivados, a los que se les añaden otros ingredientes químicos para ajustar el pH y la osmolaridad, así como antibióticos para inhibir el crecimiento bacteriano.

Los altos costos de los diluyentes comerciales como su adquisición dificulta el acceso a pequeños y medianos productores, los resultados de la utilización de semen congelado en inseminación intracervical es muy baja por lo tanto es importante consolidar un diluyente que brinde buenos resultados para refrigerar a 5°C el semen ovino y que sea de fácil manejo y costos menores

El primer inconveniente se presenta al verificar este procedimiento, es la escogencia de la técnica para recolectar el semen de forma artificial con la vagina artificial se colecta el semen fresco que puede ser utilizado para procedimientos inmediatos o con 12 horas posteriores hasta su refrigeración. Con la técnica del electro eyaculador, se debe utilizar la muestra en fresco o refrigerar inmediatamente.

Además, se debe prestar especial cuidado a los diversos aspectos del proceso; como la alimentación, clima, descanso y condiciones atmosféricas de la zona; que influirán directamente

con la calidad de las muestras recolectadas, así como de la evolución en el estado de preñez de las hembras.

En este sentido la tasa de natalidad a las que se enfrenta esta, y otras técnicas, es muy baja; por lo que se debe prestar especial cuidado en cada uno de sus pasos.

### **1.3 Formulación del problema**

¿Cuál es el grado de efectividad en la utilización de leche descremada ultrapasteurizada como diluyente en semen refrigerado de ovinos, destinado a la inseminación intracervical?

### **1.4 Justificación**

La globalización, inherente en un periodo de tecnología e información, ha traído consigo nuevos procedimientos científicos en todos y cada uno de los campos que maneja el hombre, tal es el caso de la inseminación artificial, un procedimiento de reproducción asistida que ha permitido una serie de mejoras en las crías resultantes, al poder seleccionar a los mejores especímenes de las mejores razas como reproductores.

Este tipo de práctica muy recurrente en bovinos en el sector pecuario colombiano, ha tomado relevancia con el paso del tiempo en otro tipo de razas, una de ellas los ovinos, en donde, gracias a su gran efectividad, los estándares en cuanto a reproducción han pasado de niveles bajos a niveles medios y altos. (Bedolla, p.1)

Existen diversas formas de realizar una inseminación artificial, estas dependerán de los instrumentos utilizados en cuanto a la colocación del semen, cabe mencionar que el mismo puede estar fresco o en estado de criopreservación.

El método más común es el intracervical, que consiste en depositar el semen dentro de los primeros anillos cervicales, los cuales serán visibles con la ayuda de un espéculo y una fuente de

luz. Este tipo de inseminación aumenta las probabilidades de éxito en cuanto a la colocación directa del semen sobre la vagina y resulta ser mucho menos invasivo que el método por laparotomía, al mismo tiempo que resulta ser más económico que el mismo. (Bedolla, p.2)

Para que el espermatozoide sobreviva a la refrigeración, es necesario añadir una serie de agentes protectores, conocidos como diluyentes, que proporcionan nutrientes como fuentes de energía y aumentan el volumen de la muestra, a fin de obtener una mayor cantidad de dosis para inseminar.

De los diluyentes mayormente utilizados, el principal es la leche, siendo esta un líquido que suministra un medio isotónico y mantiene la viabilidad espermática. Su uso se difundió en primera instancia en el semen bovino; en ovino se utiliza para semen fresco y refrigerado ya que se han tenido resultados variables en la congelación. (Buitrago & Pérez, 2008, p. 29)

La leche descremada contiene todos los nutrientes necesarios para garantizar la supervivencia de los espermatozoides y adquiere una mayor eficacia si a esta se le agrega glucosa, convirtiéndose en un diluyente que aportará todos los requerimientos energéticos, permitiendo a los espermatozoides, mantener un flujo libre, sin agotar sus energías.

Otra causa significativa por la cual la utilización de leche descremada como diluyente es de significativa importancia, es la diferencia económica entre la misma y los diluyentes comerciales, pues la leche tiene un costo mucho menor, alcanzando efectividades similares, mientras que el dueño del ganado ahorra de una manera eficiente. (García, 2004, p. 24)

La utilización de leche comercial tiene considerables ventajas, ya que es muy barata en comparación con otros diluyentes, se puede obtener en cualquier lugar, se mantiene estéril hasta ser abierta, y no requiere de ninguna preparación. En los últimos años, con el avance en la investigación científica y el desarrollo de herramientas tecnológicas, el mercado de la leche ha evolucionado de tal forma que es muy fácil encontrar leche descremada ultra pasteurizada en

cualquier tienda o supermercado de barrio. Esta leche, tiene la ventaja de que ha sufrido previamente un proceso de ultra pasteurización durante el cual se inactiva la lactenina, por lo que no es necesario calentarla antes de usarla para diluir el semen. Además, este tipo de leche no requiere refrigeración ni la adición de ningún otro nutrimento, por lo que puede ser un diluyente sumamente práctico, listo para utilizarse tal como sale del envase y a unos costos bastante bajos, que presenta dos características fundamentales: inmediatez y economía.

Por consiguiente, se pretende hacer pruebas de campo para determinar la efectividad y los inconvenientes; buscando demostrar alternativas viables en la utilización de mecanismos prácticos y novedosos en la inseminación intracervical de ovinos.

## **1.5 Objetivos**

**1.4.1. Objetivo general:** Evaluar la efectividad en la utilización de leche descremada ultra pasteurizada deslactosada 0 % grasa como diluyente en semen refrigerado de ovinos, destinado a la inseminación intracervical.

### **1.4.2. Objetivos específicos:**

1. Determinar la eficacia del diluyente en leche deslactosada ultrapasteurizada comercial en semen ovino en el proceso de refrigeración.
2. Describir los parámetros macro y microscópicos de las colectas de semen de los machos ovinos.
3. Comparar la supervivencia espermática en refrigeración post-dilución a las 3h, 24h, 48h y 72h
4. Evaluar la tasa de preñez en las hembras inseminadas con el diluyente leche descremada ultrapasteurizada a diferentes horas de refrigeración.

## 2. ESTADO DEL ARTE

### 2.1 Marco teórico

**2.1.1 Inseminación Artificial Intracervical en ovinos.** Según lo describe el Manual de Inseminación Artificial de la especie Ovina “La inseminación artificial es una técnica de reproducción por la cual, el semen de los machos colectado artificialmente, es depositado en el tracto reproductivo de las hembras para producir la fecundación de los óvulos maduros” (Gibbson & Cueto, 2015, p. 3). La inseminación artificial es una ayuda para los productores ovinos ya que se logra un mejoramiento genético sin necesidad de comprar reproductores.

“Actualmente en el mundo existen diversas técnicas para la inseminación y reproducción, así como para la dilución y conservación del semen colectado”. Buitrago J. y Pérez L. (2008)

La leche es un producto que se utiliza como diluyente ya que proporciona un medio isotónico, mantiene la viabilidad espermática y su uso se difundió inicialmente en el semen bovino, en ovino se utiliza para semen fresco y refrigerado ya que se han tenido resultados variables en la congelación. (Gibbson et al. 2015, p 28).

En la década de los ochenta comenzó a utilizarse la leche fresca descremada para la preservación de semen refrigerado en diferentes especies de animales, entre ellos los ovinos. Sin embargo, este tipo de leche tiene que ser previamente calentada a una temperatura de 92 a 95°C durante 10 minutos para inactivar la lactenina presente en la leche, la cual es tóxica para los espermatozoides.

El uso de leche descremada ultrapasteurizada como diluyente de semen fue comprobado y descrito inicialmente para la especie bovina, uso que se ha ido modificando con el paso del tiempo, pasando por leche esterilizada pasteurizada y ahora ultra pasteurizada. Además, se han ido añadiendo más componentes químicos a la leche descremada comercial, logrando así obtener

diversos diluyentes, comerciales y no comerciales, la mayoría de ellos, se basan en la fórmula descrita por Kenney en el año de 1975. (Samper, 2007).

Según el artículo de la Revista Científica de Investigaciones en Ovinos de Bolivia (2013); “Dilutores en la conservación de la viabilidad de semen fresco en carneros”, los resultados sobre el efecto de los tratamientos sobre la motilidad individual de semen refrigerado de ovinos así como sobre el porcentaje de espermatozoides vivos, se aprecia que se obtuvieron mejores resultados con el dilutor TB (leche descremada) en comparación al dilutor TA (citrato-yema de huevo).

Sin embargo, Cueto et.al, 2015, opinan que:

Para diluir el semen fresco, se podrá utilizar leche descremada en polvo reconstituida en agua destilada al 10%. Por ej. 5 g de leche descremada en 50 ml de agua destilada. El diluyente tapado con papel de aluminio se mantendrá a 92-94 °C en baño de agua, durante 10 minutos. Una vez cumplimentado este tiempo, se lo retira del fuego y se lo sitúa en baño termostático a 30 °C. Para conservar el semen enfriado o refrigerado, una vez situado el diluyente en base a leche descremada en baño termostático, se verifica que su temperatura descienda a 30 °C, y se le añadirá 0.5 g de glucosa, 0.1 g de Estreptomina y 100.000 U.I. de Penicilina, por cada 100 ml de agua destilada. El diluyente debe ser preparado inmediatamente antes de su utilización, verificando que su pH se encuentre entre 6.7 y 6.9. (Cueto, Gibbons, Bruno-Galarraga y Fernández 2016 p.18). Esta leche en polvo requiere mucho procedimiento en cuanto a preparación y hay muchos productores que se les imposibilita realizarlos, por esto hay que diseñar un diluyente de fácil preparación y manejo que brinde fácil manejo y mejores resultados.

Así mismo Sandoval C. (2013), señala que:

...las ventajas, ya que la leche descremada (libre de lípidos) es tan eficiente como la leche entera al almacenar semen a 4°C o al congelarlo, los lípidos aparentan no ser el constituyente responsable de la protección espermática entregada por la leche. Los constituyentes de la leche con mayor efecto protector aparentan ser las micelas de caseína. De hecho, se ha demostrado que micelas de caseína aisladas desde la leche pueden proteger semen de caballo, chivo, carnero y toro durante su almacenamiento a 4 - 5°C. En los que respecta a la combinación de distintos agentes crioprotectores permeantes y no permeantes, se ha llegado a la conclusión que tanto la combinación glicerol con trehalosay glicerol con sacarosa obtienen la mejor calidad de semen ovino criopreservado en dilutores. (Sandoval R. 2005).

Para que un proyecto de inseminación sea exitoso, el principal factor en el que hay que centrar la atención es en el semen, no es lo mismo utilizar un semen de un macho de características físicas dominantes, a utilizar un semen de un macho pequeño y enfermizo, sin duda los descendientes del primer espécimen tendrán mejores condiciones corporales y una mayor probabilidad de vida durante sus primeros meses de vida.

Según. (Buitrago & Pérez, 2008, pág.14), profesionales de la Universidad de La Salle, el semen podrá ser procesado para tres principios básicos, con un respectivo periodo de tiempo según su finalidad, las autoras exponen sus usos así:

- Semen en estado fresco, puro o diluido, a 30-37 ° C y no más de 1,5 horas
- Semen refrigerado, entre 5°C y 15°C, hasta 12-24 horas
- Semen congelado a -196°C, indefinidamente.

Además, para (Proyecto regional de mejoramiento genético ovino- caprino, 2004), la recolección de semen de buena calidad comienza con la selección de los machos destinados para tal fin, a los cuales se les debe supervisar las siguientes características:

- Evaluar objetivamente las características reproductivas de cada uno de los machos, principalmente de los jóvenes.
- Revisar condición corporal, dentición y aplomos.
- Realizar un estudio para descartar la presencia de brucelosis.
- Clínicamente hacer una supervisión de testículos, ganglios, pene, etc.
- Analizar la calidad y cantidad seminal de los machos, durante el periodo de estro de las hembras.

El siguiente paso, posterior a la selección es el entrenamiento de los machos, para que estos puedan copular en una vagina artificial, es necesario iniciar dicho entrenamiento con una



cantidad mayor de machos de los que se van a utilizar, previendo cualquier tipo de selección baja por copulación y calidad seminal.

Los especímenes serán en su mayoría jóvenes, pues estos se acoplan con mayor facilidad a la presencia del ser humano, reduciendo así los niveles de estrés que pueden minimizar la cantidad de semen al momento de la recolección. Estos machos al mismo tiempo deben mantener el libido y bajar el fotoperiodo, facilitando así el entrenamiento, a su vez adquirirá experiencia y podrán guiar a los futuros machos jóvenes que ingresen a esta etapa productiva.

Además de lo anterior se recomienda que las actividades que puedan generar estrés en el animal como esquila, transporte, cambio de alimentación o cambio de alojamiento, se realice con una antelación de 20 días a la recolecta del semen.

Las montas se realizarán inicialmente con servicios a hembras en periodo de estro, inmovilizadas en un cepo, posterior a ello los machos deberán acostumbrarse a eyacular en la vagina artificial, mientras la hembra se encuentra al lado.

Una forma en la que se pueden incrementar los índices de producción es la de proveer a las hembras de medicamentos que mantienen el periodo de estro, estos deberán aplicarse con intervalos de 3 a 4 días, en las hembras que se encuentran en celo.

**2.1.2 Extracción del Semen.** “Los espermatozoides son muy sensibles a pequeños cambios de temperatura y presión osmótica así como a las impurezas. Por estas razones, todo el equipo utilizado en la manipulación del semen debe estar limpio, tibio, seco y estéril.” (García, 2004).

Por ello debe tenerse especial cuidado con el mismo posterior a la recolección en la vagina artificial o con electroeyaculador, porque la muestra para el momento de la recolección tendrá una temperatura cercana a los 35°. Inmediatamente el semen se colocará en baño maría

para evitar cambios bruscos de temperatura durante un periodo de 15 a 20 minutos, para posteriormente ser llevado a los termos.

Para Gómez (2013), uno de los métodos que se empiezan a utilizar con mayor fuerza por las ventajas que presenta es el que describe a continuación:

El uso del electroeyaculador es fácil de realizar, no requiere hembras en celo ni equipo para la monta y se lo puede realizar en campo abierto. El principal y más importante uso del electroeyaculador es la obtención de semen de forma rápida y fácil para la evaluación reproductiva de los machos. (Gómez, 2013, p. 19).

Sin embargo, también menciona algunas características que se deben tener en cuenta para no convertir este método en algo contradictorio.

El uso del electroeyaculador puede contaminar la muestra con residuos de orina si no se prepara adecuadamente al macho; la extracción por electroeyaculación disminuye la concentración de espermatozoides en el eyaculado por lo que es aconsejable su uso en fresco para inseminación directa. (Gómez et.al, p. 19).

Según (Proyecto regional de mejoramiento genético ovino- caprino, 2004), la extracción seminal en carneros adultos será de 4 a 5 eyaculaciones diarias, verificándose que cada una de estas no tenga un volumen inferior a 0,8 centímetros cúbicos y consistencia cremosa, en los machos jóvenes la frecuencia de extracción será menor.

**2.1.3 Preparación de las hembras para la inseminación artificial.** Para que un sistema de inseminación sea exitoso, se debe poner especial cuidado en la preparación de las hembras, pues de su fertilidad, gestación y presencia frecuente de estro, dependerán los resultados del programa.

El estro se puede normalizar en un mayor número de hembras mediante los procesos llamados de sincronización, en donde se busca que el celo sea recurrente y cíclico. Algunos procesos de sincronización pueden estar relacionados con una disminución en la fertilidad y en

cuanto a elevados costos de laboriosidad y equipos, por tanto tendría cierta clase de ventajas detectar el estro por métodos naturales.

Sin embargo este tipo de prácticas también trae un gran número de ventajas en cuanto al tema de poder inseminar a rebaños enteros en mucho menor tiempo, al igual que facilitar el manejo durante la gestación y el parto.

Otra ventaja que la sincronización es que se estimula artificialmente la producción de óvulos, mejorando en gran medida las tasas de natalidad, además se acorta el periodo de ovulación lo que repercute positivamente en los intervalos de tiempo entre inseminaciones.

De acuerdo con (Cedeño, 1994), se pueden utilizar gonadotropinas exógenas para mejorar la ovulación, con la ventaja de que el tiempo de ovulación disminuye lo que mayor en gran medida a los resultados de las inseminaciones a tiempo fijado.

Autores como (Muñoz, Parraguez, & Ettel, 2002) afirman que se pueden realizar procesos de sincronización, con análogos a la progesterona, lo que puede ocasionar un celo de menor fertilidad, pues asegura que se puede producir un efecto adverso en el tratamiento del transporte espermático en el tracto de reproducción de la hembra.

Entre tanto (Proyecto regional de mejoramiento genético ovino- caprino, 2004), sugiere algunas alternativas de sincronización en hembras para normalizar el estro y mejorar los procesos de inseminación. Se nombran dos métodos clásicos de sincronización:

- Progestágenos (Esponjas intravaginales)
- Prostaglandinas (Inyectables)

El primero de ellos se introduce dentro de la vagina de la hembra adulta durante catorce días, con sumo cuidado de no lastimar alguna parte del animal, este mecanismo va complementado con una serie de inyecciones de hormonas que incitan al estro. Se puede utilizar

en cualquier parte del año, se recomienda su uso en hembras adultas, en las jóvenes, debido a la presencia del himen, dificulta su colocación.

El segundo método induce a la luteólisis o eliminación del cuerpo lúteo, provocando la ovulación, se utiliza durante la estación reproductiva mediante inyecciones intramusculares, en un periodo de 5 a 14 días posterior a la presencia del celo, en hembras preñadas este tipo de práctica ocasiona aborto, por lo tanto es esencial un manejo adecuado de las hebras, destinadas a los procesos de inseminación.

**2.1.4 Técnicas de Inseminación.** (Muñoz, Parraguez, & Ettel, 2002), exhiben en su documento los tipos de inseminación que pueden presentarse y las ventajas y desventajas de cada una de ellas.

La primera y quizá más antigua fue desarrollada por Andersen y Aamdal en 1972, quienes utilizando la técnica de semen congelado en ovinos alcanzaron un 5% de fertilidad, a partir de entonces se han desarrollado numerosas técnicas que incluyen diluyentes, envasado, congelación etc, que mejoran la calidad del semen y dan mayor probabilidad de éxito.

La técnica laparoscópica, en la cual el semen se deposita directamente dentro de los cuernos uterinos, ha sido el más exitoso con semen congelado, sin embargo es muy costoso y difícil de practicar a una escala mayor.

La técnica intracervical surge como una alternativa más eficiente y económica en contraste con la técnica laparoscópica; en este proceso el semen se deposita dentro del cérvix mediante un procedimiento no invasivo, la economía se ve reflejada en el costo de los equipos y el personal que puede realizar este tipo de procedimientos.

Otra ventaja que trae esta técnica es que debido a la rapidez del proceso, se puede inseminar rebaños enteros a una velocidad mucho mayor, por ende es la técnica más utilizada en

cualquier parte, en donde la inseminación sea una alternativa al incremento del desarrollo productivo en ovinos.

**2.1.5 Espermatozoides.** El espermatozoide es una célula haploide de contexto masculino, que busca su fusión con un ovulo femenino para cumplir la función de generar vida a través de la conformación de un feto. Esta función es exclusiva de los machos de las diferentes especies, llevándola consigo mediante la expulsión del semen.

Estas células se encuentran en diferentes especies, encontrándose diferencias entre las de origen animal y humano. Lizarazo y Rodríguez (2009):

Las cabezas son herramienta indispensable en el momento de una diferenciación entre espermatozoides de humano y las otras especies animales estudiadas, debido a que estas presentan variaciones en tamaño, forma y retención del color. Las colas de los espermatozoides son una de las partes que restan validez, ya que en la mayoría de evidencias no se encuentran y además no presentan diferencias significativas para individualizar la especie. (Lizarazo y Rodriguez et.al p. 3). Los espermatozoides son los gametos masculinos los cuales contienen la información genética paterna y su función es fecundar el ovocito.

Actualmente se emplean diversas técnicas computarizadas que permiten la fácil identificación de los espermatozoides; desde la identificación para reproducción, hasta el análisis forense para resolver casos legales, médicos y científicos.

“La valoración de la morfología espermática se ha considerado desde hace tiempo como un componente esencial del análisis seminal. Actualmente se encuentran analizadores computarizados de morfología espermática pero su incorporación a los laboratorios aún no se ha generalizado”. (Lizarazo y Rodríguez et al)

La evaluación espermática es un proceso que se debe realizar en por parte de los profesionales para identificar los sementales de mejores características. Estos se pueden verificar por su “carácter macroscópico (color, aspecto, volumen, pH) ya que pueden ser evaluados a simple vista de la muestra seminal; y microscópicos (motilidad masal, motilidad individual, concentración espermática, anormalidades, integridad de membrana, vitalidad) que deben ser evaluados utilizando un microscopio”. (Delgado 2013). La

evaluación espermática de semen ovino es interesante ya que tiene grandes cantidades de concentración.

Asimismo, añade: “La cantidad de espermatozoides presentes en el eyaculado hace que la muestra tome una coloración blanquecina – amarillenta cuando la muestra es de buena calidad. Cuando es de baja calidad, es similar a la leche acuosa”. (Delgado et al, p. 23).

Por otra parte, los espermatozoides pueden tener diferentes tipos de movimientos que se mencionan a continuación:

- Movimiento progresivo hacia adelante
- Movimiento circular rotatorio
- Movimiento oscilatorio o convulsivo sin progreso ni cambio de posición.

La velocidad de movimiento hacia delante de un espermatozoide, suspendido en plasma seminal, es de 5-15 mm por minuto. La velocidad y tipo de movimiento de los espermatozoides puede variar según un gran número de factores: método de recogida del semen, factores ambientales, manejo del semen después de recogido, intervalo entre la recogida y la valoración, y variaciones individuales del propio semental. (Buitrago y Pérez 2008 p. 12).

Asimismo señalan:

En el semen, los espermatozoides tienen cargas eléctricas negativas, con lo que se repelen entre sí. Si los espermatozoides pierden su carga negativa tienden a agruparse. Este fenómeno recibe el nombre de aglutinación y puede ser debido a un aumento de la acidez del medio, presencia de iones metálicos, bacterias u otras impurezas, o a la presencia de aglutininas (formadas después de la inmunización), originadas en el animal. (Buitrago et al. p. 12).

A su vez, la motilidad y efectividad de los espermatozoides proviene de una fuente de energía esencial como son los azúcares, que está presente en la fructosa; y que además se encuentra en el plasma seminal. Sin embargo, existen algunos factores que afectan su motilidad, como son:

- Temperatura
- Luz
- Contacto con metal
- Contacto con agua
- Impurezas y bacterias
- Desinfectantes
- Exposición prolongada al aire
- Capacidad tamponante del diluyente
- Presión osmótica del diluyente

En estos procesos, también se logran identificar las anomalías o espermatozoides que no son saludables; ya sea por la falta de maduración, herencia genética o enfermedad. En cualquiera de los casos, es indispensable hacer análisis de laboratorio para determinar factores que puedan estar afectando a una población mayor, y así evitar su propagación por descendencia.

Estas imperfecciones encontradas se pueden clasificar según Delgado, así:

Las anormalidades encontradas en los espermatozoides se clasifican en dos: anormalidades primarias y secundarias. Las primeras ocurren durante el proceso de espermatogénesis y pueden ocurrir a nivel del acrosoma (pérdida del borde apical, con abultamiento, arrugado, incompleto, desdoblado), cabeza (piriforme, flagelado, lanceolado, irregular, angosta, cabeza doble, macrocéfalo, microcéfalo), cuello (fractura, retroacción, con presencia de gota citoplasmática) y cola (corta, doble, retorcida, con presencia de gota citoplasmática). Las anormalidades secundarias ocurren durante el transporte de los espermatozoides desde el túbulo seminífero y/o epidídimo hasta su salida por la uretra durante la eyaculación. En este tipo de anormalidades tenemos cabezas sueltas, acrosoma desprendido, etc. (Delgado, 2006, p. 26).

Sin embargo, este proceso se presenta de forma natural en cualquier especie al ser fecundado el espermatozoide con mejores características y habilidades para fecundar primero el ovulo antes que los millones que suelen acompañarlo en el proceso. “Con la inseminación

artificial, estos procesos se alteran, así como las características de los mismos espermatozoides que sufren daños irreversibles”. García (2014):

Uno de ellos es el daño que sufren los espermatozoides por el proceso de congelación/descongelación. La disminución de la temperatura produce un daño letal en algunos espermatozoides conocido como shock térmico, provocando alteraciones morfológicas en la membrana plasmática, acrosomal y mitocondrial, incluso puede llegar a provocar una reacción acrosómica prematura, acortando la vida del espermatozoide y reduciendo su fertilidad. La congelación también causa daño celular debido al estrés osmótico y tóxico por las concentraciones molares de los agentes crioprotectores, y daño mecánico debido a la formación y disolución de cristales de hielo. Así pues, se deben tener bien presente los pasos y ejecutarlos con especial cuidado para causar el menor daño posible en los espermatozoides en el momento de aplicar este tipo de técnicas artificiales.

Por otra parte, la tecnología de la criopreservación del espermatozoide incluye distintas etapas importantes como es la eliminación o no del plasma seminal mediante centrifugación, la dilución del material seminal, la refrigeración, las adicciones del crioprotector, la congelación propiamente dicha, el almacenamiento en envase criogénico y por último la descongelación en el momento de su utilización. El diseño de cada una de estas fases debe ir enfocado a producir el menor daño posible sobre las estructuras y el metabolismo del espermatozoide, siendo de especial importancia la función y arquitectura de la membrana plasmática. La inadecuada adaptación a las etapas citadas anteriormente, así como los cambios que va sufrir la célula durante tan delicado proceso, van a ser responsables de daños o agresiones que pueden suponer una pérdida de capacidad por parte del espermatozoide para llevar a cabo sus funciones con normalidad. (Delgado, et al p. 24).

A partir de los primeros reportes de la congelación del semen ovino en 1973 y del desarrollo de la inseminación por laparoscopia en 1982 que permitió obtener elevados índices de fertilidad, la industria ovina creció ampliamente en todo el mundo. Se estima que se inseminan más de 500,000 ovejas en Australia, 300,000 en Francia, 60,000 en España, 50,000 en Canadá y un número no determinado en China. En América Latina sobresale Uruguay, Argentina, Chile, Brasil y México. (Hernández 2015 citando a Cruz, 2004).

**2.1.6. Diluyentes.** Los diluyentes son aquellas sustancias acuosas que se mezclan, en su justa medida, con el semen para permitir aumentar el volumen del eyaculado y las posibilidades de fertilizar a más hembras con las células espermáticas mezcladas. Existen de diferentes tipos, pero los más comunes son los fabricados por el hombre a base de yema de huevo; y actualmente, por su economía y fácil acceso, las leches descremadas ultra pasteurizadas con 0% de grasa.

En el caso de la leche que, en la actualidad se aumenta el uso en este aspecto, se puede decir, según Buitrago y Pérez 2008, que: “Es un producto que se utiliza como diluyente ya que



proporciona un medio isotónico, mantiene la viabilidad espermática y su uso se difundió inicialmente en el semen bovino, en ovino se utiliza para semen fresco y refrigerado ya que se han tenido resultados variables en la congelación”. (p 28).

Para la escogencia de un diluyente se deben tener en cuenta varios aspectos. De acuerdo al tiempo que se va a conservar la muestra se pueden clasificar en dos tipos:

- Diluyentes a corto plazo; donde la duración máxima de la aplicación no supera los tres días.
- Diluyentes a largo plazo; donde la producción seminal y el uso destinado de tiempo y lugar supera los cuatros días.

Para López (2012), en el primero se presentan unas ventajas y desventajas, así:

“**Ventajas:** bajo costo en su preparación y se obtienen resultados reproductivos similares, se utiliza una concentración espermática baja, permitiendo con esto realizar más inseminaciones con una sola recolección. **Desventajas:** corta duración de la viabilidad espermática”.

Por su parte, en el segundo diluyente:

**Ventajas:** la posibilidad de transporte a largas distancias, permiten realizar pruebas diagnósticas sobre el semen antes de ser utilizadas, como pruebas mediante técnicas PCR (Polymerase Chain Reaction) para detectar la presencia de diversos virus o análisis completos de la calidad seminal, permite una mejor organización de las tareas en los centros de recogida seminal y facilita en gran medida la distribución de las muestras a las granjas de reproducción. **Desventajas:** debe ser utilizada una alta concentración de esperma para compensar la pérdida de viabilidad de los espermatozoides por envejecimiento. Se ha observado que cuando se utiliza semen en almacenamiento de más de 5 días se presenta una pérdida en la fertilidad del 10%, y una disminución del tamaño de camada de 1 a 1.5. (López et al p. 1).

En todos los casos se deben utilizar las normas de asepsia, los insumos para la mezcla químicamente puros, agua destilada en todos los casos o procedimientos y la esterilización de los instrumentos a utilizar.

**2.1.7 Funciones.** Las funciones principales de los diluyentes las señalan (Buitrago y Pérez 2008 p. 28):

- a) Proteger contra los efectos dañinos de los cambios térmicos (especialmente en las membranas con sustancias crioprotectoras penetrantes y no penetrantes)
- b) Proporcionar nutrientes como fuentes de energía
- c) Proporcionar un medio de amortiguación de pH, compensando la producción de ácido láctico durante la congelación
- d) Mantener una presión osmótica adecuada
- e) Mantener un equilibrio electrolítico
- f) Aumentar el volumen del eyaculado, a fin de permitir múltiples dosis para inseminar

Además, describen otras características adicionales: “Para conservar el pH óptimo de los diluyentes, se utilizan soluciones tampones como son: citrato, fosfato y bicarbonato sódico; aunque los estudios demuestran que los compuestos amido-orgánicos como el BES, TES, TRIS, HEPES y MES tienen mayor capacidad estabilizadora”.

Aunque es importante contar con un excelente diluyente que no desmejore las propiedades y características del semen; es indispensable, preocuparse por la calidad del eyaculado del animal, que depende de factores internos y externos como la temperatura ambiente, comida, niveles de estrés y temporada del año.

## 2.2 Antecedentes

### 2.2.1. Referencias internacionales.

**2.2.1.1** Beltrán de Heredia; F. Arrese; L. Mintegi y E. Ugarte. 2006. *Inseminación artificial en ganado ovino. Una técnica con posibilidades de expansión*. Vitoria, España.

Resume su trabajo:

El uso de inseminación artificial ovina se ha apoyado siempre en el uso de otras técnicas de reproducción complementarias como la congelación de semen, la sincronización del celo y de la ovulación y la inseminación intrauterina. Así mismo, la cuantificación de su potencial para la mejora genética ha contribuido a su desarrollo. Sin embargo, la inseminación artificial es una técnica que todavía tiene posibilidades de expansión en la especie ovina, y cuyo uso varía según los países y las razas.

Las modalidades de utilización de la inseminación artificial difieren entre si debido a factores como el tipo de conservación del semen utilizado (refrigerado o congelado), el lugar de inseminación (vagina, cérvix o útero) y el tipo de celo sobre el que se efectúa la inseminación (natural o inducido por tratamientos hormonales de sincronización). (Beltrán de Heredia; F. Arrese; L. Mintegi y E. Ugarte.2006. disponible en la web).

Pérez 2012. *Técnicas Reproductivas en Ovinos: Inseminación Artificial y Transferencia de Embriones en la Empresa OVITEC, Punta Arenas, Chile*. (Pérez 2012). Disponible en la web.

El presente trabajo describe las principales técnicas aplicadas en la reproducción ovina en la región de la Patagonia chilena. La pasantía fue realizada con la empresa chilena OVITEC (es un programa de gestión de ovino y caprino que le ayudará a optimizar el rendimiento de su granja y a aumentar su productividad), con sede en Punta Arenas, Chile, que usa estos procedimientos modernos para mejorar la genética del hato ovino nacional chileno. Su duración fue de 10 semanas, entre el 25 de abril y el 30 de junio de 2011. El trabajo consistió principalmente de giras a campo, donde se pusieron en práctica tres diferentes técnicas reproductivas en la especie ovina: Inseminación artificial intracervical (IAC) con semen fresco, inseminación artificial por Laparoscopía (IAL) con semen congelado y transferencia de embriones (TE). Más de 30 mil animales fueron sometidos a la técnica intracervical, alrededor de 309 a laparoscopía y 205 a

transferencia de embriones. Dentro de las actividades realizadas se encuentran el montaje de laboratorios, entrenamiento de 38 carneros reproductores y su extracción de semen, dilución de semen, sincronización y detección de celos en 30,918 hembras, preparaciones quirúrgicas, anestesias y desarrollo de las técnicas propiamente dichas: 30,404 inseminaciones intracervicales, 309 inseminaciones por laparoscopia, 24 lavados uterinos y 205 transferencias de embriones. Los porcentajes de preñez obtenidos fueron 82,9% para IAC, 79,3% para IAL y 72,2% para TE. En el texto se detallan la discusión pertinente apoyada con datos bibliográficos, las conclusiones de su uso y recomendaciones para mejorías a nivel nacional.

### **2.2.2. Referencias nacionales.** Arévalo Garay Ángela y Correa Assmus Gustavo.

*Tecnología en la ovinocultura colombiana: estado del arte.* Bogotá D.C., Colombia 2013

Revista Ciencia Animal. Universidad de La Salle disponible en la web

El presente artículo es el resultado de un estado del arte básico disciplinar llevado a cabo, de manera cualitativa, con el objeto de establecer la condición de la tecnología actual en la producción ovina. Para ello se consultó un grupo de 44 expertos, se aplicaron 90 resúmenes analíticos especializados e igual número de documentos vinculados con las tecnologías de la genética y la reproducción, la nutrición y alimentación y el saneamiento y la salud de los ovinos. Como resultado, se pudo observar una condición tecnológica transicional de baja a media, con amplias posibilidades de desarrollo a favor de la producción y la competitividad del subsector en el ámbito nacional.

Peña Johanna Marcela y Pérez Sánchez Luz Marina. *Comparación de dos diluyentes para la crío preservación de semen ovino.* Buitrago, Bogotá D.C., 2008 Colombia, Universidad de La Salle.

El presente proyecto consistió en establecer cuál de los diluyentes Salamon o Colas, es el mejor para conservación de semen ovino en nuestro medio, mediante la obtención, evaluación, y crío preservación de semen, y posterior evaluación post descongelación. Asimismo, buscó estandarizar las técnicas requeridas para los procedimientos mencionados. Para la realización de este trabajo se utilizaron machos puros que presentaban un buen estado general y un fenotipo de acuerdo con la raza, a los que se les realizó examen andrológico y se confirmó que se encontraban aptos para la reproducción. Semanalmente se obtuvieron eyaculados que se evaluaron y clasificaron cumpliendo los parámetros espermáticos en cuanto a motilidad 80%, morfología normal 80%, concentración 4 billones por mililitro y vigor (movimiento progresivo, rápido y energético del espermatozoide) (Mobini 2002, Aisen 2004). Una vez evaluados los

eyaculados fueron diluídos y fraccionados para ser empacados en pajillas de 0.25 ml a una concentración de 80 millones de espermatozoides móviles (Colas, 1975)

*Evaluación de la calidad seminal bajo refrigeración de semen ovino (Ovis aries) de pelo criollo colombiano.* Semillero TAURUS. Montería - Córdoba, Colombia. Investigación en curso  
Universidad de Córdoba – UNICOR

En Colombia se cuenta con dos líneas ovinas criollas unas llamadas de lana y otras de pelo. Las ovejas de lana se encuentran en regiones de Colombia en los departamentos de Boyacá, Cundinamarca, Nariño y Santander; los ovinos criollos de pelo (OPC) se encuentran en La guajira, Costa atlántica, llanos orientales, Tolima, Valle del Cauca y Huila. (CORPOICA, 2003). En cuanto a la investigación en ovinos es poca debido a que no hay una coordinación de la cadena de producción ovina y un encadenamiento con los procesos académicos, también por la falta de oferta y demanda gastronómica de la carne de cordero, además de la falta insumos y productos; además, puede ser compleja la generación de proyectos de interés para grupos de investigación debido a la pobre financiación (González et al., 2011) El estudio pretende evaluar la calidad seminal bajo refrigeración de semen ovino criollo de pelo colombiano

**2.2.3. Referencias similares:** Bernal D Gloria L.; Torres R. Benjamín A.; Mogollón W Édgar M, y Salazar A Pedro Á...

*Desarrollo de una técnica alternativa para la inseminación artificial caprina y comparación de los resultados con la técnica empleada tradicionalmente* Bucaramanga, Colombia, 25 de mayo de 2008, Revista SPEI DOMUS.

En este trabajo se compararon dos técnicas de inseminación artificial: una mediante el uso de pistola de inseminación y otra con un catéter intracervical modificado para cabras en el área metropolitana de Bucaramanga, con el objetivo de desarrollar una técnica alternativa para la inseminación artificial caprina y comparar sus resultados con el método empleado tradicionalmente (pistola de inseminación). Se buscó establecer la diferencia en cuanto a la implementación de los dos métodos de inseminación mediante los resultados que se presentaron de acuerdo con el índice de preñez detectada en campo. También se identificaron las causas predisponentes para los resultados obtenidos en los programas de

sincronización e inseminación a tiempo fijo mediante cualquiera de las dos técnicas. Inicialmente, se seleccionaron veinte hembras sanas y ciclantes para realizar las inseminaciones. El semen utilizado se colectó por medio de vagina artificial utilizando un macho Toggenburg. En la primera fase del proyecto se utilizó semen fresco diluido con Andromed®. En este primer ensayo, al realizar el diagnóstico ecográfico 42 días después de la inseminación, no se obtuvieron resultados positivos en ninguno de los grupos; por esta razón, en la segunda fase se trabajó con diez hembras más empleando el mismo macho, pero utilizando semen refrigerado con Tryladil®, a fin de disminuir el riesgo de falla por causa del diluyente. De la misma manera, se trabajó en diferente época bajo la presunción de evitar el posible efecto de la estacionalidad. El diagnóstico por medio de ecografía se realizó 37 días después de la inseminación.

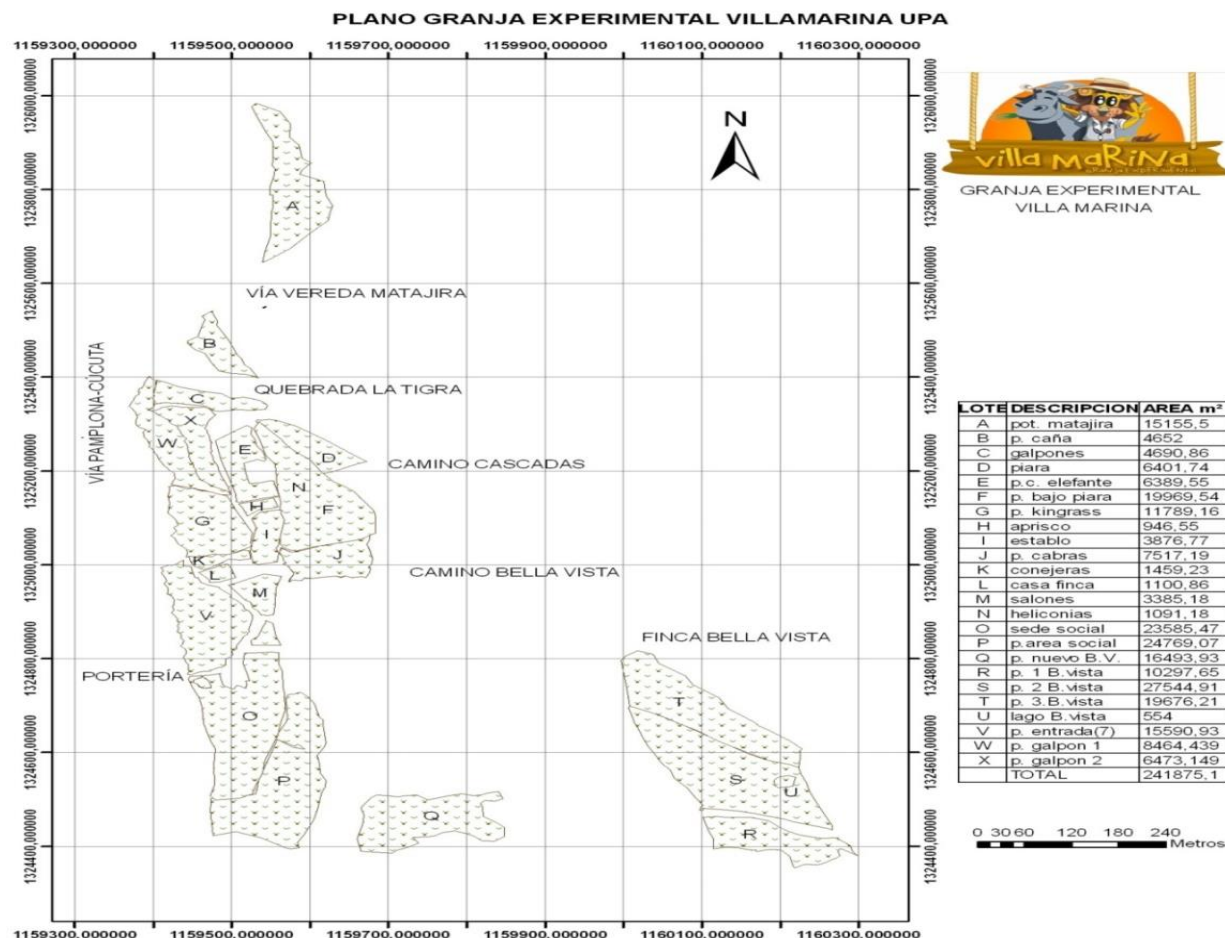
### **3. DISEÑO METODOLÓGICO**

#### **3.1 Tipo de investigación**

Es una investigación de tipo experimental, porque se basa en la manipulación de variables en condiciones controladas, observando como las variables implicadas producen un enfoque determinado, en medio del trabajo de campo realizado en el laboratorio de reproducción animal ubicado en la Granja Experimental Villa Marina. Asimismo, se deben tabular, analizar y verificar los resultados en cifras concretas, para determinar la viabilidad del estudio y los datos concluyentes.

## 3.2 Metodología

### 3.2.1. Ubicación



*Figura 1* Plano de la granja experimental Villa Marina

Fuente: Universidad de Pamplona

La Granja Experimental Villa Marina se encuentra ubicada en la fracción de Matajira, jurisdicción Municipal de Pamplonita, ubicada en el kilómetro 49 sobre la vía que del municipio de Pamplona conduce a la ciudad de San José de Cúcuta (76.0 km).

La altura en la sede social es de 1100 metros, y de 1800 en la parte alta, esta zona cuenta con una extensión de 440 hectáreas, su temperatura promedio es de 20°C y su topografía es de pendiente húmeda, con una precipitación de 1400 msnm,

Está conformada por diferentes producciones agropecuarias, entre ellas: la producción avícola, Cunicola, porcícola, bufalina, bovina y ovino-caprina.

Los procedimientos de evaluación, dilución, refrigeración del material seminal ovino, se llevaron a cabo en el Laboratorio de Reproducción Animal, adscrito a la Facultad de ciencias agrarias.

**3.2.2. Materiales. Animales.** Para este estudio se seleccionaron tres (03) machos ovinos de la raza Dorper (fig.2) esta raza es de origen sudáfricano y proviene del cruce de la raza dorset y persa, esta raza es de fácil adaptación en cualquier clima tiene altas tasas de fecundidad, crecimiento y resistencia. Estos reproductores estaban ubicados en la finca experimental Villa Marina con una edad de año y medio y un peso promedio de 65 kilogramos, estos animales se mantuvieron en un régimen de semi-estabulación con una alimentación homogénea de pasto *Brachiaria (Brachiaria decumbens)*, clon 51, cuba 22, suplementándose con botón de oro (*ranunculus acris*) ,60gr de sal mineralizada, 2 kilogramos de concentrado y agua a voluntad.



*Figura 2.* Machos ovinos de la raza Dorper  
Fuente: Parada, 2017



Además de 15 hembras ovina de la raza Ovino de Pelo Colombiano (OPC) (fig.3), ubicadas en el municipio de Labateca Norte de Santander, con una edad promedio de 20 meses y un peso de 40 kilogramos, dichas hembras fueron desparasitadas con Panacur® 10%, con dosis de 5 mg/kg vía oral además fueron administrados 2cc de complejo vitamínico en cada animal vía intramuscular. Su alimentación se basa en pastoreo y ramoneo a voluntad, desde las 9 de la mañana hasta las 5 de la tarde.



*Figura 3* Hembras ovinas de la raza OPC

Fuente: Parada, 2017

**Muestras de esperma.** Se utilizaron 15 eyaculados; muestras procedentes de los 3 donantes de esperma, los cuales suministraron 5 eyaculados por individuo de la raza Dorper.

#### **Colecta y valoración de esperma**

- Termómetro de mercurio.
- Papel absorbente.
- Aceite mineral.
- Funda protectora para vagina artificial.
- electroeyaculador
- Tubo Colector de vidrio graduado de 15 ml.
- Guantes de látex
- Micropipeta

- Cámara de Neubauer.
- Cubreobjetos
- portaobjetos
- Tinción supravital y morfología (EOSINA-NIGROSINA )
- Microscopio óptico con objetivos de 4, 10, 40 y 100x.
- Baño de maría
- Gotero
- Tijeras Mayo
- Jabón neutro



*Figura 4.* Materiales utilizados en el proceso  
Fuente: Parada, 2017

### **Análisis supravital y morfométrico**

- Tinción supravital y morfología (EOSINA-NIGROSINA).
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.

- Microscopio óptico.
- Gotero

### **Procesado y refrigeración del esperma.**

- Calentador de portaobjetos.
- Micropipeta.
- Gotero.
- Tubos eppendorf.
- Baño de Maria.
- Nevera
- termómetro

### **Diluyentes**

- Material fungible de laboratorio: pipeta, vaso de precipitado, termómetro, gotero, portaobjetos y cubreobjetos.
- Diluyente a base de leche descremada, deslactosada y UTH

### **Envasado**

- Tubos eppendorf
- Goteros

### **Análisis de los datos**

- Hoja de datos Microsoft Excel
- Lapicero

**Sincronización de celo**

- Esponjas de poliuretano impregnadas con Medroxiprogesterona acetato 60 mg, intravaginal, presentación de 25 esponjas, PROGESPON®.CALIER DE LOS ANDES S.A
- Prostaglandina, inyectable de 0.25mg/ml presentación de 10 ml, ESTRUMATE ®. Animal Health.
- Novormon®, inyectable de 5000UI, hormona Gonadotrofina Corionica Equina (eCG)

**Transporte de la muestra**

- Cava transportadora de semen diluido acondicionada a 5°C

**Equipo para la inseminación artificial.**

- Jeringas desechables de 3ml.
- Catéter de 30 cm de longitud.
- vasos de precipitado
- Termómetro de mercurio.

### 3.2.3. Proceso Metodológico. Selección y colecta de los donantes de esperma.

Al momento de seleccionar los machos para el estudio se realizó una valoración semiológica y una evaluación reproductiva enfocada con la conformación testicular, comportamiento sexual, y valoración seminal. Las colectas de semen fueron mediante electroeyaculador durante cuatro meses pre-experimental a los tres machos, luego se colectaron cada cuatro días hasta cumplir un total de 5 eyaculados por animal.



*Figura 5.* Limpieza previa  
Fuente: Parada, 2017

La práctica se inició con la tricotomía alrededor del prepucio y se le hizo un lavado de la zona con agua tibia y jabón neutro se secó con papel absorbente (fig.5), se retiró el exceso de heces del recto y se levantó la cola del ovejo hasta hacerla horizontal, se lubricó el electrodo con aceite mineral y se introdujo en el recto, dirigiéndolo ligeramente hacia abajo y haciendo movimientos rotatorios.



*Figura 6.* Técnica de electroeyaculación  
Fuente: Parada, 2017

Una vez insertado completamente el electrodo (fig. 6), se colocó la cola en el medio del mango, de este y se sujetó con la misma mano que sujetaba la cola, la electroeyaculación consiste en dar unos pulsos eléctricos muy leves en la próstata y vesículas seminales para estimular la eyaculación. Se posiciono el colector y se esperó (fig7) a que se diera la eyaculación.



*Figura 7.* Técnica de electroeyaculación y colecta de semen. / Muestra en colector  
Fuente: Parada, 2017

Una vez colectado el semen, el colector se transportó al laboratorio, protegiéndolo de golpes, de la acción directa de la luz solar y manteniéndolo a 37°C en el baño de maría.



***Evaluación del semen fresco y diluido.*** Los eyaculados obtenidos de los machos se dividieron en tres alícuotas y se sometieron a valoración macro y microscópica, realizada en el laboratorio de Reproducción de la granja experimental Villa Marina.

Se debe tener en cuenta que; la concentración espermática debe ser estimada antes de la preparación; teniendo en cuenta el volumen y el número de espermatozoides totales a inseminar por dosis. El volumen promedio del eyaculado del ovino es de 1 ml (0.8-1.2 ml), (Hafez, 2000) y su concentración varía entre 2000-6000 millones de espermatozoides/ml. La dilución del semen se realizará en forma aproximada, asegurándose una cantidad de 100 a 300 millones de espermatozoides por dosis.

Para el mantenimiento de los eyaculados se utilizó el baño de María a 37°C. En este permanecerían mientras se realizaba la valoración, y se evalúan los siguientes parámetros:

- Aspecto físico y volumen: En el mismo tubo colector se evaluó: aspecto, color y volumen del eyaculado (fig.8)
- Motilidad masal: se colocó una gota de semen puro en un portaobjetos atemperado a 37°C y se observó al microscopio en un objetivo de 10X para clasificarlo, se valoró la formación de ondas producidas por la masa espermática en movimiento. Se evaluó en una escala de 0 a 5, como lo proponen MAXWELL y EVANS (1993) pág. 52.(fig.13)
- Motilidad individual: Para esta evaluación, se diluyó una gota de semen con una gota de leche atemperada a 37°C (fig.9) y se observó a 40 x, evaluando la motilidad de los espermatozoides de manera individual valorando un movimiento lineal y progresivo. El resultado se clasificó en una escala de 0% a 100%, según MAXWELL y EVANS (1993) pág. 53.
- Morfoanomalías: se tomó una gota de semen y una gota de tinción eosina – nigrosina sobre el extremo de un portaobjetos se mezcla el semen con la tinción y se procedió a

realizar el extendido dejándolo secar a temperatura ambiente. Se observó al microscopio a 100x utilizando aceite de inmersión. Se estudiaron 100 espermatozoides en busca de la clasificación morfológica(fig.13)

- Concentración: fue calculada utilizando la técnica del hemocitómetro. Se utilizó una pipeta mezcladora de hematíes para diluir el esperma puro al 1/400 en solución citrato de sodio al 3%. Tras homogeneizar la dilución y desprejar las primeras gotas de la pipeta, se llena por capilaridad el interior de una cámara de recuento celular (Neubauer). Tras dejar sedimentar la cámara durante 3 minutos en posición horizontal, se cuentan con un microscopio óptico y objetivo de 40x, aquellas cabezas localizadas en el interior de las cuatro cuadrículas situadas en las esquinas de la cámara. La fórmula aplicada para el cálculo de la concentración (C), expresando el resultado en espermatozoides / ml fue:

- $C = M \times 400 \times 10 \times 400 \times 10$  Donde:
- M = media de espermatozoides contados
- 400 = superficie de cuadradito ( $1/400 \text{ mm}^2$ )
- 10 = altura entre la cámara y el cubre ( $1/10\text{mm}$ )
- 400 = factor de dilución
- 10 = conversión de  $\text{mm}^3$  a ml
- - Número de espermatozoides por eyaculado: el total de la concentración

espermática es multiplicado por el volumen del eyaculado, expresando el resultado en espermatozoides / ml. Luego se atempero la leche deslactosada descremada ultrapasteurizada a  $37^\circ\text{C}$  y se diluyó el semen en la leche y se realizó su evaluación correspondiente. Además, todo el material necesario para la colecta de semen fue previamente esterilizado cuidadosamente para una próxima colecta.





*Figura 8.* Muestra recolectada y análisis en el laboratorio de Reproducción  
Fuente: Parada, 2017



*Figura 9.* Muestra para realizar la valoración microscópica  
Fuente: Parada, 2017

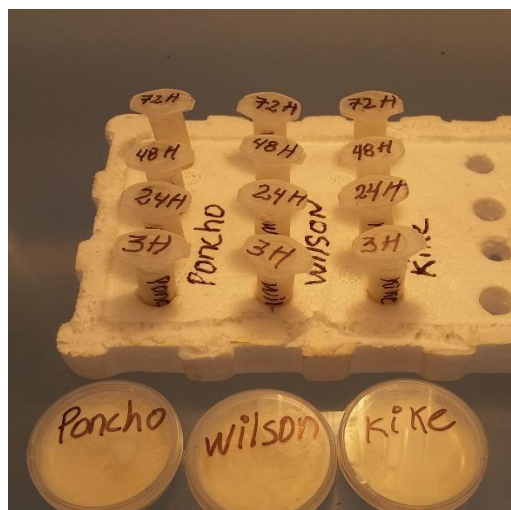


*Figura 10.* Análisis microscópico y valoración  
Fuente: Parada, 2017



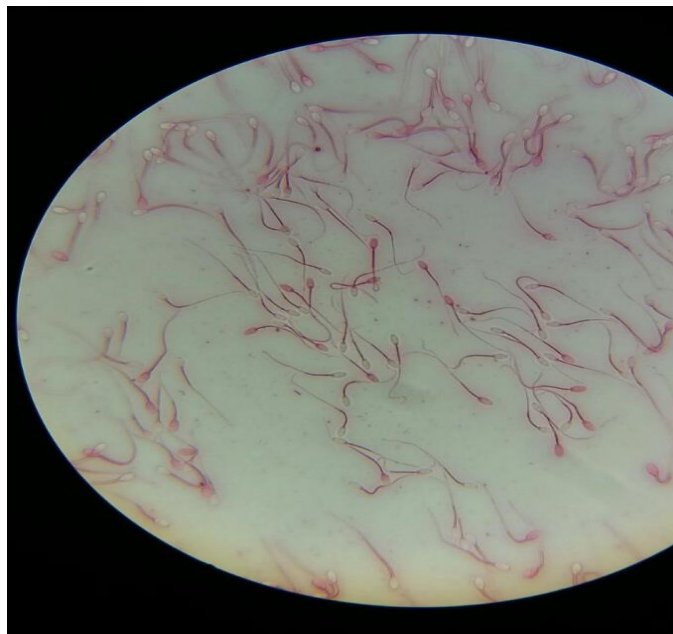
*Figura 11.* Muestra de semen en fresco  
Fuente: Parada, 2017

**Refrigeración.** Teniendo los valores del semen, se dividió cada alícuota con semen diluido y se fracciono en cuatro submuestras usando tubos Eppendorf llevándose a la nevera a una temperatura de 5°C en sus respectivos módulos o gradillas (fig.12), para su evaluación a 3, 24, 48 y 72 horas post-refrigeración.



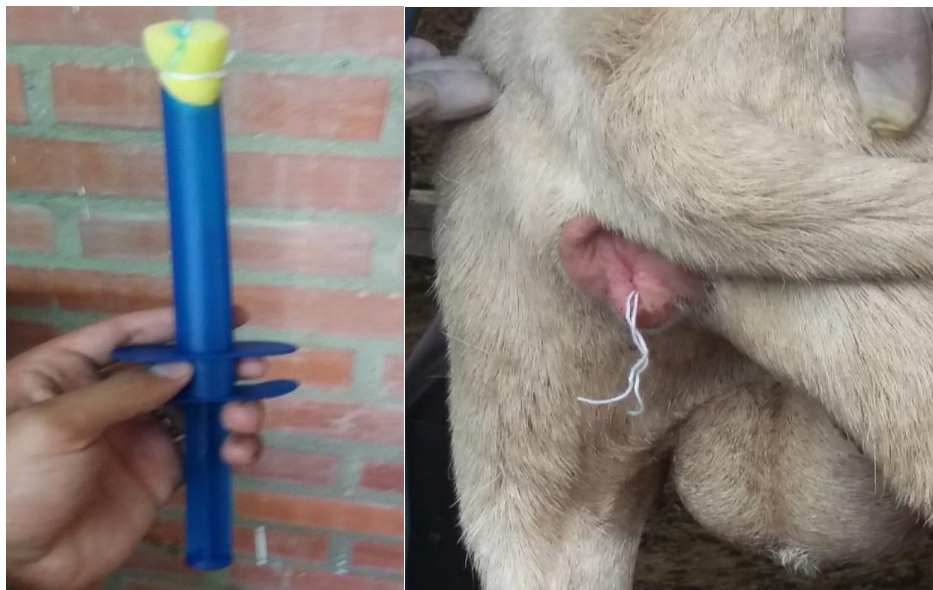
*Figura 12.* Alícuotas y Submuestras.  
Fuente: Parada, 2017

Dichas evaluaciones siempre manejaron un protocolo el cual era sacar una de las submuestras de la nevera correspondientes al tiempo adecuado, estas se llevaban al baño de María a 37 °C para atemperar las muestras y se aplicaba una gota de la muestra sobre un portaobjeto igualmente atemperado se colocaba un cubreobjetos y se llevaba a observar en el microscopio en un aumento de 40x; también se llevó otra gota a una observación con Tinción Eosina Nigrosina para determinar el porcentaje de espermatozoides vivos y muertos; los vivos no se tiñen, mientras que los muertos adquieren un tono rosáceo. A su vez, se puede determinar las morfoanomalías primarias o secundarias, específicas o inespecíficas, que se presentan en los mismos; y la motilidad individual que se registra con el microscopio a 40x sin tinción.



*Figura 13.* Esperma con tinción  
Fuente: Parada, 2017

**Sincronización e inseminación intracervical.** Se seleccionaron 15 hembras ovinas de la raza Ovino de Pelo Colombiano (OPC), previamente desparasitadas, con edad y condición corporal aptas para la reproducción, se les realizó ecografía con el fin de descartar preñez y proceder con el trabajo. El procedimiento se inició con una previa limpieza de la vagina, las esponjas de poliuretano (impregnadas con Medroxiprogesterona acetato 60 mg), se ubicaron dentro del aplicador lubricado con anterioridad y este se introdujo en la vagina de la oveja en ángulo de 45 °; apenas entro se colocó horizontal y se depositó la esponja teniendo en cuenta que el hilo estuviera por fuera (fig.14). Estas esponjas se retiraron al día 7 de haberlas puesto halándose del hilo con un movimiento firme y continuo hacia atrás , luego hacia abajo una vez retirada la esponja se aplicó 0.7 ml de prostaglandina por vía intramuscular a su vez se administró 1.5 ml de novormon por vía intramuscular y se esperó 56 horas para realizar la inseminación.



*Figura 14.* Sincronizaciones del celo en las hembras ovina

Fuente: Parada, 2017

Se colectó el macho Wilson se evaluó, se diluyó y se refrigeró el semen, se tomaron 3 muestras de 24 horas, 48 horas, y 72 horas post refrigeración, dichas muestras se transportaron desde el laboratorio ubicado en la granja experimental Villa Marina hasta el municipio de Labateca en una cava acondicionada a 5 °C estando en el sitio de la práctica se atempero el semen a 37 °C y se evaluó nuevamente en el microscopio para verificar las óptimas condiciones de la muestra para la inseminación de las hembras después del traslado.

Posteriormente se realizó la sujeción de las hembras posicionándolas de cabeza- abajo y sosteniéndole los miembros posteriores permitiendo la exposición de la vulva a esta se le realiza una limpieza, el equipo de inseminación que se utilizó fue una jeringa desechable de 3 ml con un catéter de 30 cm de largo aproximadamente se tomaron 0.5 CC de semen, se introdujo el catéter cuidadosamente y con suaves movimientos circulares hasta llegar al cérvix (fig.15) una vez descargado el semen se retiró el catéter y se dejó la hembra en esa posición durante 1 minuto con



el fin de que el semen descendiera (fig. 16), las ovejas se dividieron en tres grupos para utilizar semen de 24horas, 48horas y 72 horas post refrigeración en cada uno de los grupos.

Asimismo, trascurridos los 40 días después de la inseminación a las hembras de la raza Ovino de Pelo Colombiano (OPC); se les practicó una ecografía para determinar su estado de preñez y el número de animales en este estado (fig. 17).



*Figura 15.* Inseminación intracervical con jeringa y catéter  
Fuente: Parada, 2017



*Figura 16.* Posición para que descienda el semen  
Fuente: Parada, 2017



*Figura 17.* Diagnóstico de gestación mediante ecografía.  
Fuente: Parada, 2017

### **3.3 Fuentes de información**

#### **Fuentes primarias:**

- Libros y artículos científicos
- Asesorías tutoriales
- Trabajo de campo
- Médicos veterinarios de la universidad de pamplona

#### **Fuentes secundarias:**

- Internet
- Docentes y directivos de la Facultad
- Trabajadores de la granja experimental Villa Marina

### **3.4 Técnicas y procedimientos para la recolección de información**

La técnica que se utilizó para la recolección de información fue la de tomar apuntes a medida que trascurría el trabajo de campo (anexos. 3); lo que llevo a la recolección de los datos al final de la prueba y posteriormente analizarlos estadísticamente, pudiendo contrastar e identificar los patrones de conducta necesarios para sacar las conclusiones.



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Resultados

De acuerdo al análisis estadístico realizado bajo las pruebas de chi cuadrado en donde se trabajaron chi cuadrado de pearson, corrección por continuidad, razón de verosimilitudes, estadístico exacto de fisher y asociación lineal por lineal ( ver anexo 1) Se infiere estadísticamente, que el experimento donde se confrontan los 3 especímenes con las 15 eyaculaciones cada uno, acepta la hipótesis nula, cuya prueba es conclusiva, Lo que indica, que el tratamiento experimental no presenta una diferencia significativa en las diferentes variables evaluadas en el transcurso del experimento.

#### 4.1.1 Evaluación seminal en fresco

**Tabla 1.**

*Resultados generales para las variables: aspecto, color, y olor.*

<b>Individuo</b>	<b>Aspecto</b>	<b>Color</b>	<b>Olor</b>
Reproductor 1	Espeso cremoso	Blanco amarillento	Sui- generis
Reproductor 2	Espeso cremoso	Blanco amarillento	Sui- generis
Reproductor 3	Espeso cremoso	Blanco grisáceo	Sui – generis

Fuente: Parada, 2017

En la Tabla 1, se evidencia las características generales de las muestras recogidas de los tres reproductores , donde se evidenció aspecto espeso cremoso, color blanco amarillento para los dos primeros individuos y un blanco grisáceo para el 3er reproductor; olor sui –generis característico de las tres muestras.

**Tabla 2.**

*Promedio y Desviación estándar de las variables.*

Individuo	Volumen ( ml)		Motilidad Masal		Motilidad Individual	
	Promedio	D.S	Promedio	D.S	Promedio	D.S
Reproductor 1	1.1	0	5.0	0	Muy buena. $\geq 70\%$	0
Reproductor 2	1.0	0	5.0	0	Muy buena. $\geq 70\%$	0
Reproductor 3	0.8	0	5.0	0	Muy buena. $\geq 70\%$	0

Fuente: Parada, 2017

En la Tabla anterior se evidencia los valores promedio observados para volumen, motilidad masal y motilidad individual; del mismo modo están consignados los valores correspondientes a la desviación estándar (D.S) de las variables mencionadas. En primera estancia se observa que el reproductor 1 es el que mayor volumen de semen se obtuvo, seguido del reproductor 2 y por último el reproductor 3.

En el promedio de la motilidad masal se evidenció que se encontraron valores similares para los tres reproductores. En el promedio de la motilidad individual se evidenció que los valores para los tres reproductores fueron similares.

**Tabla 3.**

*Promedio y desviación estándar de la concentración de espermatozoides por eyaculado.*

Individuo	Promedio de Concentración	D.S.
Reproductor 1	4.200.000	187.083
Reproductor 2	3.880.000	554.076
Reproductor 3	3.340.000	270.185

Fuente: Parada, 2017

Esta tabla nos muestra los valores promedios y la desviación estándar de la concentración por eyaculado de los tres reproductores. El reproductor 1 se aprecia que presenta los valores

mayores en la concentración de espermatozoides por eyaculado, seguido del reproductor 2 y por último el reproductor 3.

**Tabla 4.**

*Promedio y desviación estándar del % espermios vivos por eyaculado.*

<b>Individuo</b>	<b>Promedio del % de espermios vivos</b>	<b>D.S del % de espermios vivos</b>
Reproductor 1	84	0
Reproductor 2	81.8	1,7888
Reproductor 3	80,8	1,7888

Fuente: Parada, 2017

En la tabla 4; se aprecia el promedio y la desviación estándar del porcentaje (%) de espermios vivos en cada individuo, se puede observar una mayor sobrevivencia en las muestras tomadas del reproductor 1, seguidamente del reproductor 2 y por último las muestras tomadas del reproductor 3.

**Tabla 5.**

*Cantidad de morfo anomalías en fresco por colecta en cada animal.*

<b>Colecta</b>	<b>Reproductor 1</b>		<b>Reproductor 2</b>		<b>Reproductor 3</b>	
<b>1</b>	cabezas sueltas	6	cabezas sueltas	13	flagelos enrollados	10
	colas sueltas	3				
<b>2</b>	cabezas sueltas	8	cabezas sueltas	6	flagelos enrollados	9
<b>3</b>	Flagelos enrollados	7	cabezas sueltas	6	cabezas sueltas	9
<b>4</b>	cabezas sueltas	10	cabezas sueltas	9	cabezas sueltas	11
<b>5</b>	cabezas sueltas	8	cabezas sueltas.	7	cabezas sueltas	7

Fuente: Parada, 2017

En esta Tabla se observa la cantidad de morfoanomalías en fresco para cada muestra realizada, donde se observa que la mayor anomalías presentes en el reproductor 1 son cabezas

sueltas seguido de flagelos enrollados, en el reproductor 2 se observa que la mayor anomalía presentada son cabezas sueltas, en el reproductor 3 observamos que la mayor presencia de anomalías espermáticas son cabezas sueltas seguido de flagelos enrollados.

**4.1.2 Evaluación seminal post dilución.** Los resultados que a continuación se revelan, muestran la interacción de los datos recogidos a los diferentes tiempos y procesos, expresados en horas y que corresponden a la evaluación en refrigeración post dilución a horas; 3 horas, 24 horas, 48 horas y 72 horas, para su correcto seguimiento respecto a los procesos mencionados.

### *Motilidad individual post dilución*

**Tabla 6.**

*Interacción de los factores individuo y tiempo en horas.*

Individuo	Tiempo en horas				
	0	3	24	48	72
Reproductor 1	MB >70 % *	MB >70% *	B >50-69 % *	R >30 -49%	P < 30%
Reproductor 2	MB >70% *	MB > 70% *	B> 50-69% *	R> 30-49%	P < 30%
Reproductor 3	MB >70% *	MB > 70% *	B> 50-69% *	R > 30-49%	P< 30%

MB= Muy bueno. B= Bueno. R= Regular P= pobre

(\*) Indica los valores que pueden considerarse como niveles útiles de motilidad individual.

Fuente: Parada, 2017

La Tabla 6 describe los valores promedio de la motilidad individual en las muestras tomadas de los reproductores a través de los diferentes tiempos evaluados. Se evidencia para los tres reproductores un comportamiento similar del semen en las evaluaciones realizadas donde se puede determinar que los valores que se consideran útiles de motilidad individual se establecieron en las 0 horas, 3 horas y 24 horas para los tres reproductores.

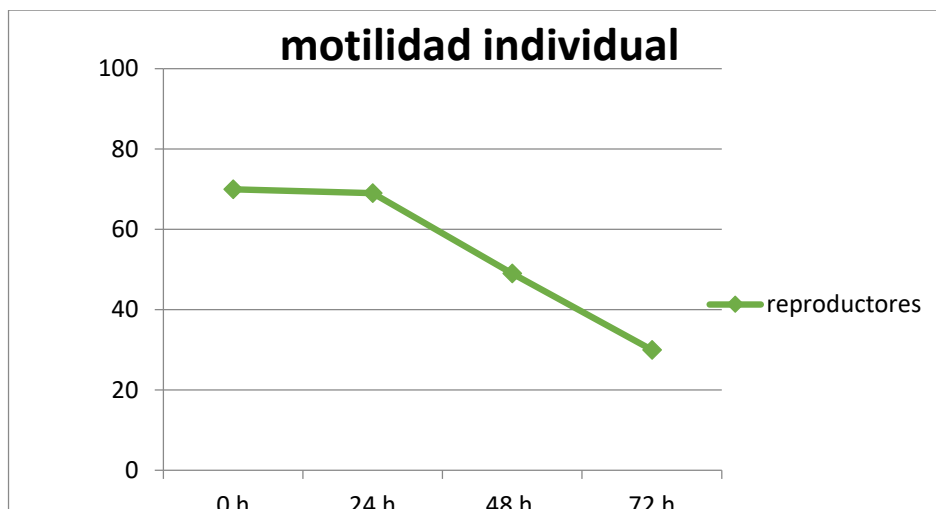


Figura 18. Motilidad Individual

Fuente: Parada, 2017

En la figura 18 se evidencia el comportamiento de los eyaculados de los tres reproductores de acuerdo a la evaluación realizada a las diferentes horas, donde encontramos una similitud de los datos en los diferentes tiempos evaluados y donde se determina que las muestras seminales son viables entre las 0 horas y 24 horas posteriormente empiezan un descenso en su calidad espermática.

### *Porcentaje de espermios vivos post dilución*

**Tabla 7.**

*Interacción de los factores individuo y tiempo en horas en el % de espermios vivos por eyaculado*

Individuo	Tiempo en horas				
	0	3	24	48	72
Reproductor 1	82*	79*	56*	44	20
Reproductor 2	80 *	74*	53*	38	17
Reproductor 3	77*	73*	52*	35	16

(\*) Indica los valores que pueden considerarse como niveles útiles de % espermios vivos por eyaculado.

Fuente: Parada, 2017

Respecto a la tabla anterior, se describen los valores promedio del % de espermios vivos en las muestras tomadas de los reproductores a través de los diferentes tiempos evaluados. Se

evidencia que los valores que pueden considerarse como niveles útiles de % de espermios vivos se encuentran en las 0 horas, 3 horas y 24 horas respectivamente para los tres reproductores.

Como se encontró una gran dispersión de los datos obtenidos se realizó un análisis por experimento con el fin de determinar si hay diferencias estadísticamente significativas, de acuerdo a la prueba de chi cuadrado (ver anexo 2.) se determina que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los datos de las variables analizadas.

**Tabla 8.**

*Resultados del % de espermios vivos y muertos del experimento 1.*

Individuo 1	1		2		3		4		5		6	
	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos
SEMEN FRESCO	84		16		84		16		83		17	
SEMEN POSTDILUCION	82		18		81		19		81		19	
3 HORAS POS DILUCIÓN	79		21		80		20		79		21	
24 HORAS POST DILUCIÓN	56		44		54		46		55		45	
48 HORAS POST DILUCIÓN	43		57		38		62		43		57	
72 HORAS POST DILUCIÓN	18		82		24		76		21		79	
Media	60,33		39,67		60,17		39,83		60,33		39,7	
DS	26,42		26,42		25,43		25,43		25,16		25,2	
Var	581,6		581,6		538,8		538,8		527,6		528	

Fuente: Parada, 2017

**Tabla 9.**

*Resultados del % de espermios vivos y muertos del experimento 2.*

Individuo 2	1		2		3		4		5		6	
	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos
SEMEN FRESCO	81		19		83		17		83		17	
SEMEN POSTDILUCION	79		21		81		19		81		19	
3 HORAS POS DILUCIÓN	72		28		74		26		76		24	
24 HORAS POST DILUCIÓN	53		47		53		47		53		47	
48 HORAS POST DILUCIÓN	38		62		38		62		38		62	
72 HORAS POST DILUCIÓN	19		81		17		83		14		86	
Media	57		43		57,67		42,33		57,5		42,5	
DS	22,75		22,75		24,21		24,21		25,29		25,3	
Var	443,7		443,7		502,2		502,2		548,2		548	

Fuente: Parada, 2017

**Tabla 10.**

*Resultados del % de espermios vivos y muertos del experimento 3.*

Individuo 3	1		2		3		4		5		6	
	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos	% vivos	% muertos
SEMEN FRESCO	79		21		81		19		82		18	
SEMEN POSTDILUCION	77		23		76		24		81		19	
3 HORAS POS DILUCIÓN	74		26		74		26		74		26	
24 HORAS POST DILUCIÓN	53		47		52		48		51		49	
48 HORAS POST DILUCIÓN	36		64		35		65		36		64	
72 HORAS POST DILUCIÓN	17		83		17		83		17		83	
Media	56		44		55,83		44,17		56,83		43,2	
DS	25,39		25,39		25,79		25,79		26,71		26,7	
Var	537,3		537,3		554,5		554,5		594,5		594	

Fuente: Parada, 2017



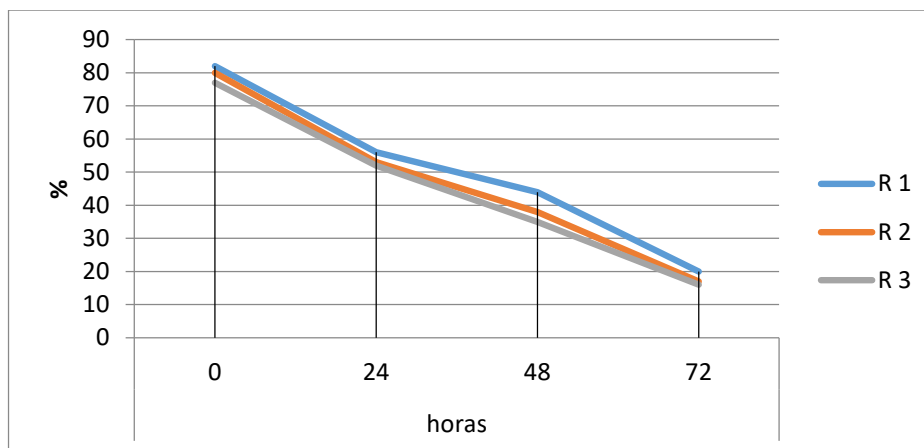


Figura 19. Porcentaje de espermios vivos  
Fuente: Parada, 2017

En la figura 19 se evidencia el comportamiento del semen en los diferentes tiempos de refrigeración donde se determina que el % de espermios vivos a medida que avanza en el tiempo las muestras seminales va disminuyéndose drásticamente, siendo viables hasta las 24 horas.

### *Morfoanomalias en semen post dilución*

**Tabla 11.**

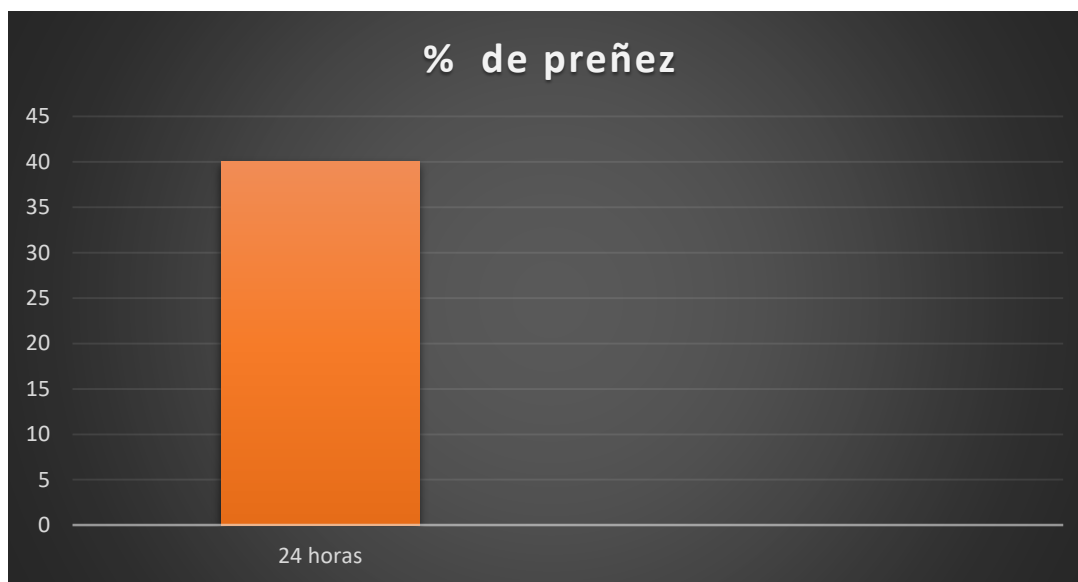
#### *Morfoanomalias en semen post dilución*

Colecta	Reproductor 1	Reproductor 2	Reproductor 3
Post dilución	10 flagelos enrollados 22 cabezas sueltas	23 flagelos enrollados 26 cabezas sueltas	19 cabezas sueltas 27 flagelos enrollados
3 horas	9 Cabezas sueltas 19 flagelos enrollados	27 flagelos enrollados 07 cabezas sueltas	11 cabezas sueltas 28 flagelos enrollados
24 horas	10 flagelos enrollados 18 cabezas sueltas	13 flagelos enrollados 26 cabezas sueltas	23 flagelos enrollados 20 cabezas sueltas
48 horas	24 cabezas sueltas 6 flagelos enrollados	12 flagelos enrollados 08 cabezas sueltas 12 gotas citoplasmáticas	29 cabezas sueltas 09 flagelos enrollados
72 horas	11 cabezas sueltas 06 gotas citoplasmáticas proximales 06 flagelos enrollados	07 flagelos enrollados 21 cabeza suelta 03 gotas citoplasmáticas	31 flagelos enrollados 08 cabezas sueltas

Fuente: Parada, 2017

Como se evidencia en la tabla 11 se observa las morfoanomalias presentadas en semen refrigerado en los diferentes tiempos de conservación, se determina los tipos de morfoanomalias presentadas en cada uno de los tres reproductores, encontrándose que no sobrepasan el 30% de morfoanomalías siendo aceptadas para la evaluación de la calidad seminal.

*Tasas de preñez por inseminación artificial intracervical*



*Figura 20.* Porcentaje de espermios vivos.  
Fuente: Parada, 2017

De acuerdo a la figura 20 se observan las tasas de preñez obtenidas por inseminación artificial intracervical, el grupo de hembras que se inseminó con semen refrigerado a las 24 horas dando un total de 2 hembras preñadas de 5 hembras servidas representando un 40%, para los valores de 48 y 72 horas no se encontraron tasas de preñez.

## 4.2 Discusión

El aspecto, color, olor, motilidad masal e individual, y las morfoanomalías totales mostraron variación entre los animales, pero sin evidenciar diferencia estadísticamente significativa entre los mismos ( $P>0,05$ ). A pesar de las variaciones, todos los parámetros están dentro de los normales para la especie, Maxwell y Evans (1993), Dorado (2003), INIA (2005). Los valores observados para estos parámetros indican que los ovinos utilizados en este estudio se presentan excelentes y homogéneos en cuanto al perfil seminal. Siendo los mismos clasificados como aptos para la reproducción.

La calidad seminal de los ovinos fue sobresaliente, ya que produjeron en promedio  $1,1 \pm 0,8$  mL de semen, con una concentración espermática de  $4,2 \pm 3,3$  espermatozoides x mL. Este valor está sobre el promedio reportado para la especie, que es de  $0,8 - 1,2$  ml (Hafez, 2000) y concentraciones de  $3.14 \times 10^9$  espermatozoides/ ml (Guillén, 2001) concentraciones de 3.63, 3.316, 2.78 y  $2.67 \times 10^9$  espermatozoides/ml (Huamán, 2003).

En la actualidad se considera que la preservación de semen ovino a  $15^{\circ}\text{C}$  (semen enfriado) resultaría adecuada para períodos breves de conservación (6-12h), en comparación con la preservación a  $5^{\circ}\text{C}$  (semen refrigerado), que se adaptaría mejor para lapsos de tiempo más prolongados (12-24 h) (Fernández Abella, 2003), respectivamente se correlaciona con los resultados del experimento donde se evidencia que el semen diluido y refrigerado a  $5^{\circ}\text{C}$  proporciona los mejores promedios de motilidad individual hasta las 24 h post dilución.

Las tecnologías disponibles, para evitar el traslado de reproductores entre establecimientos, se basan en la preservación del semen por largos períodos (semen congelado) o períodos breves (semen refrigerado y enfriado). Esta última tecnología se justifica debido a la practicidad implícita en su implementación (Paulenz et al., 2003) como se evidencia en el experimento donde se utilizó leche descremada ultrapasteurizada de fácil adquisición, bajo costo

y sin necesidad de prepararla ni someterla a protocolos lo que hace un diluyente fácil de utilizar e implementar al alcance de cualquier productor ovino

Como se demostró en el experimento donde los resultados indican una viabilidad espermática hasta las 24 horas en refrigeración, a medida que sigue aumentando el tiempo la viabilidad espermática empieza a decrecer junto con el % de espermios vivos evidenciando según lo reportado por Maxwell y Salamon (1993), donde la preservación de semen de carnero en estado líquido, concluyeron que la fertilidad de los espermatozoides cae abruptamente luego de las 24 horas de almacenado al ser utilizado para la inseminación cervical. A medida que el tiempo de preservación transcurrió se observó una disminución en la motilidad a pesar del diluyente utilizado.

Al analizar el efecto de la dosis de inseminación sobre la eficiencia de preñez en la inseminación artificial intracervical con semen refrigerado durante el período de preservación de 12 h, se observó que, mediante el empleo de la dosis seminal de 300 millones de espermatozoides, fue posible obtener una preñez aceptable (38%), al considerar el beneficio de poder transportar semen a largas distancias y el bajo costo operativo para su implementación. Sin embargo, al reducir la dosis de inseminación a 150 millones de espermatozoides, se logró una menor eficiencia de preñez del 25%, la cual constituye un valor superior al 10,6% referenciado en la experiencia de Menchaca et al. (2005), esto evidencia valores muy diferentes a los resultados encontrados en el experimento con leche descremada donde a 24 horas con semen refrigerado a 5°C con dosis inseminantes de 150 millones de espermatozoides se obtuvieron tasas de preñez del 40%.

Según lo reportado por Colas, 1984; Menchaca et al., 2005. Los valores obtenidos mediante la preservación seminal durante 24 h, se evidencian las tasas más bajas de preñez, en especial referencia a la dosis de inseminación de 150 millones de espermatozoides. Es importante

señalar que la bibliografía disponible en ovinos para tiempos de preservación mayores de 12 h, evidencia bajos porcentajes de preñez similares a los obtenidos, hecho que contradice los resultados obtenidos en el experimento donde a un tiempo de 24 horas en refrigeración a 5°C en leche descremada ultrapasteurizada se obtuvieron tasas de preñez del 40% y a tiempo más prolongados como 48

Las morfoanomalías encontradas en el experimento se encuentran por debajo del 15 % estando bajo los parámetros normales de clasificación según lo reportado por Gibbons, 2004, donde considera normal un eyaculado cuando el porcentaje de formas anormales es inferior al 15%.

La inseminación artificial intracervical se llevó a cabo mediante la sincronización de celos por esponja intravaginal donde se induce el celo, esto puede llevar a que se presenten tasas de preñez muy bajas, concordando con lo reportado por Colas, 1984; Fernández Abella, 1995, donde determinan que mediante la Inseminación artificial intracervical se evita la detección de celos, el manejo de machos marcadores de celo y se reduce el tiempo de trabajo, cabe destacar que existe una disminución en la preñez de los celos inducidos respecto a los celos naturales.

Las tasas de preñez con inseminación artificial en ovinos se encuentran por debajo del 50%. Estas aumentan con la utilización de semen fresco y el uso de técnicas como laparoscopia. Además, disminuyen con el uso de semen congelado a mayor tiempo de refrigeración. (Hernández. et. al. 2016). Como se evidenció en el experimento donde, a medida que avanza el tiempo disminuyen las tasas de motilidad individual, de espermios vivos y las tasas de preñez se encuentran en un 40%, a las 24 horas postdilucion, resultados por debajo de la media internacional.

Se resalta la importancia, actual, de generar prácticas donde el semen de los machos seleccionados para la reproducción sea trasportado de un lugar a otro; debido a que con esto se

evita el costoso traslado de los reproductores, se comprueba la efectividad de las muestras y se disminuye el riesgo sanitario en las diferentes localidades. (Gibbons y Cueto 2015). Como se realizó en el experimento, donde se comprobó la efectividad de la muestra después de ser transportada por más de 70 kilómetros en vía terrestre y ser analizada nuevamente en el punto de llegada; cumpliendo con los valores óptimos de calidad seminal para ser utilizadas en los procesos de inseminación artificial.

Según Salomón y col. en 1990, las muestras de semen de muy buena o buena motilidad (clasificación 4 o 5) se pueden utilizar para inseminación artificial. Las muestras con valoración de 3 o menos pueden dar una fertilidad menor con lo que se aconseja desecharlas, como se evidencio en el experimento donde las clasificaciones de 4 y 5 fueron hasta las 24 horas postdilución, posteriormente a medida que avanza el tiempo van disminuyendo esas clasificaciones a 3 y 2 lo que también concuerdan con las menores tasas de fertilidad.

## CONCLUSIONES

Después de obtener y analizar los resultados del proyecto de investigación sobre la utilización de leche descremada ultra pasteurizada como diluyente en semen refrigerado de ovinos, destinado a la inseminación intracervical; se puede señalar que, efectivamente, la leche descrita anteriormente es un muy buen diluyente para el semen refrigerado de ovinos y que su utilización se hace cada día con más demanda, no solo por las características como diluyente, sino por la facilidad, proximidad y economía al momento de adquirirla.

En cuanto a la inseminación artificial; se escogió al Reproductor N°1 (Wilson) para inseminar porque presentó mejores características seminales en los exámenes previos que los otros dos, y tuvo más viabilidad en la durabilidad del espermatozoide.

Se puede concluir que la muestra a 24 horas post dilución se logró obtener dos de las cinco hembras OPC preñadas. Lo que nos muestra claramente que la eficacia de la inseminación intracervical en ovinos OPC con semen de ejemplares Dorper en la región de Norte de Santander se hace más exitosa con menor tiempo de post dilución del semen.

Por último la monta natural requiere de la presencia de un macho reproductor, lo cual posee una alta tasa de preñez, que puede llegar fácilmente al 90%. Esto debido a que el animal sigue siendo el método más certero para determinar el momento exacto en que debe ocurrir la monta, esta metodología presenta una serie de desventajas respecto de la inseminación artificial, como aumentar el riesgo de transmisión de enfermedades de transmisión sexual, disminuir la eficiencia del material de reproducción y no tener certeza sobre las características de la progenie

## RECOMENDACIONES

Las futuras investigaciones deberán realizarse a fin de incrementar la eficiencia reproductiva de la refrigeración seminal en asociación con la inseminación artificial intracervical, debido a las múltiples ventajas de su utilización por los diferentes sistemas de producción ovina.

Seguir con las pruebas de leche deslactosada descremada ultrapasteurizada como diluyente en semen refrigerado de ovinos, logrando su óptima preservación, debido a la importancia de ésta en la producción ovina.

Hacer trabajo de campo en climas con temperaturas más altas para determinar el mismo nivel de efectividad.

Promover la inseminación artificial de ovinos con el fin de aumentar el número de animales de esta especie mejorando los volúmenes de carne en menor tiempo.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Bedolla Centeno, Carlos (s.f.)** Técnicas de inseminación artificial en ovinos. Disponible en la web [www.monografias.com](http://www.monografias.com)
- Bernal D Gloria L.; Torres R. Benjamín A.; Mogollón W Édgar M. y Salazar A Pedro Á. 2008.** *Desarrollo de una técnica alternativa para la inseminación artificial caprina y comparación de los resultados con la técnica empleada tradicionalmente.* Revista Spei Domus. Volumen 4 / Número 9 / Julio - Diciembre De 2008 / disponible en <http://wb.ucc.edu.co/sdmvz/files/2013/06/articulo-3-vol-4-n-9.pdf>
- Buitrago, J. y Pérez, L. 2008.** *Comparación de dos diluyentes para la criopreservación de semen ovino. Tesis de grado para optar al título de Médico veterinario.* Bogotá D.C., Colombia: Universidad de La Salle. Recuperado de [https://www.google.com.co/search?dcr=0&source=hp&q=diluyente+semen+refrigerado+ovinos+colombia&oq=diluyente+semen+refrigerado+ovinos+colombia&gs\\_l=psy-ab.3...2748.12481.0.12683.45.32.0.0.0.0.412.4202.2-11j3j1.16.0....0...1.1.64.psy-ab..29.6.1614.6..0j35i39k1j0i131k1.351.W6VH6SK6jHI](https://www.google.com.co/search?dcr=0&source=hp&q=diluyente+semen+refrigerado+ovinos+colombia&oq=diluyente+semen+refrigerado+ovinos+colombia&gs_l=psy-ab.3...2748.12481.0.12683.45.32.0.0.0.0.412.4202.2-11j3j1.16.0....0...1.1.64.psy-ab..29.6.1614.6..0j35i39k1j0i131k1.351.W6VH6SK6jHI)  
<http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/5987/T14.08%20B868c.pdf?sequence=1>
- Cueto M, Gibbons A, Bruno-Galarraga M, Fernández J. 2016.** *Manual de obtención, procesamiento y conservación de semen ovino.* 2da Edición. Comunicación Técnica de Producción Animal. INTA EEA Bariloche. 21 pág. Recuperado de [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_ovina/inseminacion\\_ovinos/08-obtencion\\_semen.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/inseminacion_ovinos/08-obtencion_semen.pdf)
- Delgado, B. 2013.** Evaluación espermática de semen de ovino tratado por la técnica de Gradiente de densidad. Lima, Perú. Universidad Ricardo Palma: Recuperado de [http://cybertesis.urp.edu.pe/bitstream/urp/589/1/delgado\\_be.pdf](http://cybertesis.urp.edu.pe/bitstream/urp/589/1/delgado_be.pdf)
- García, J. f. 2004.** *Evaluación del uso de leche descremada fluida como extensor del semen porcino.* Guatemala.
- García, W. 2014.** *Optimización de los protocolos de criopreservación de semen ovino de las razas autóctonas en peligro de extinción Xisqueta y Aranesa.* Barcelona, España. Universidad Autónoma de Barcelona: Recuperado de <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/284242/wcgv1de1.pdf?sequence=1>

- Gibbons, A. y Cueto, M. 2015.** *Manual de Inseminación Artificial de la especie Ovina.* Reproducción y genética. Estación Experimental Agropecuaria Bariloche. Centro Regional Patagonia Norte, Argentina: 19 pág. Recuperado de [http://www.produccion-animal.com.ar/produccion\\_ovina/inseminacion\\_ovinos/07-manual\\_ia.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/inseminacion_ovinos/07-manual_ia.pdf)
- Gibbons, A. y M. Cueto. 2004.** *Jornadas de inseminación artificial con semen fresco en ovinos.* Manual de divulgación. Comunicación Técnica de Producción Animal del INTA. Bariloche. N° 200.
- Gómez, C. 2013.** *Evaluación de la efectividad de un electroeyaculador experimental comparado a uno de marca comercial en ovinos.* Quito, Ecuador: Universidad Central de Ecuador. Recuperado de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/4292/1/T-UCE-0014-49.pdf>
- Hafez E. S. E. 2000.** Reproducción e inseminación artificial en animales. Editorial Mc Graw-Hill pp 98-110.
- Hernández, C. 2012.** *Tipos de diluyentes en la Inseminación Artificial.* Recuperado de <https://es.slideshare.net/kibaultor/tipos-de-diluyentes-en-la-inseminacin-artificial>
- Hernández, J. et. al. 2015.** *Fertilidad con el Uso de Inseminación Artificial en Ovejas.* México D.F., México: Recuperado de <http://bmeditores.mx/fertilidad-uso-inseminacion-artificial-en-ovejas/>
- Hernández, J. et. al. 2016.** *Fertilidad con el Uso de Inseminación Artificial en Ovejas II.* México D.F., México: Recuperado de <http://bmeditores.mx/fertilidad-uso-inseminacion-artificial-en-ovejas-ii/>
- Lizarazo, A. y Rodríguez, A. 2009.** *Comparación morfológica de espermatozoides humanos y de animales domésticos, teñidos con la coloración árbol de navidad.* Tunja, Colombia: Recuperado de <file:///C:/Documents%20and%20Settings/MSI/Mis%20documentos/Downloads/1388-3150-1-SM.pdf>
- Macpherson 1960**  
<https://books.google.com.co/books?id=rKziBQAAQBAJ&pg=PA295&dq=Macpherson,+1960&hl=es19&sa=X&ved=0ahUKEwi897johLfTAhUI5SYKHf8PBxQQ6AEISDAF#v=onepage&q=Macpherson%2C%201960&f=false>

**Maxwell Y Evans. (s.f.)** Inseminación artificial de ovejas y cabras. Acribia. Barcelona. 1993.

**Maxwell, W.; Salamon, S. 1993.** *Liquid Storage of Ram Semen: a Review.* Reproduction, Fertility and Development; 5: 613-638.

**Menchaca, A., A. Pinczak and D. Queirolo. 2005.** *Storage of ram semen at 5°C: effects of preservation period and timed artificial insemination on pregnancy rate in ewes.* Anim. Reprod., 2: 195-198.

**Muñoz, C., Parraguez, V., & Ettl, L. 2002.** *Efecto del tiempo de inseminación artificial después de la detección del celo sobre la tasa de preñez en ovinos Corrediale.* Santiago de Chile.

**Pérez 2012.** <http://www.repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/12950/Gabriela-P%C3%A9rez-Molina.pdf?sequence=1>

**Proyecto regional de mejoramiento genético ovino- caprino.** (2004). Jornada de inseminación artificial con semen fresco. Comunicación técnica de Producción Animal, 3-5.

**Revista SPEI DOMUS. 2008.** *Desarrollo de una técnica alternativa para la inseminación artificial caprina y comparación de los resultados con la técnica empleada tradicionalmente* Bucaramanga, Colombia, 25 de mayo de, 2008

**Salamon, S.; Maxwell, W.M.C.; Evans, G. 1990.** *Inseminación artificial de ovejas y cabras.* Zaragoza, Ed. Acribia, 192pp.

**Universidad de Córdoba. 2017** *Evaluación de la calidad seminal bajo refrigeración de semen ovino (Ovis aries) de pelo criollo colombiano.* Semillero TAURUS. Montería - Córdoba, Colombia. Investigación en curso

**Universidad de Pamplona.** Granja experimental Villa Marina.

[http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portaIG/home\\_7/recursos/general/pags\\_contenido/03072009/ubicacion.jsp](http://www.unipamplona.edu.co/unipamplona/portaIG/home_7/recursos/general/pags_contenido/03072009/ubicacion.jsp)

## ANEXOS

### ANEXO 1.

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,000 <sup>a</sup>	1	,083		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	,188	1	,665		
Razón de verosimilitudes	3,819	1	,051		
Estadístico exacto de Fisher				,333	,333
Asociación lineal por lineal	2,000	1	,157		
N de casos válidos	3				

a. 4 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

El p del |chi-cuadrado es mayor de 0,05 (0,083)

Por lo tanto, se acepta la hipótesis nula (Prueba del exp 1. Es menos eficiente que la prueba exp. 2)

### PRUEBA DE EXP 1. VS EXP 3.

**Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,000 <sup>a</sup>	1	,083		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	,188	1	,665		
Razón de verosimilitudes	3,819	1	,051		
Estadístico exacto de Fisher				,333	,333
Asociación lineal por lineal	2,000	1	,157		
N de casos válidos	3				

a. 4 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se acepta la hipótesis Nula

**PRUEBA EXP. 2 VS. EXP. 3.****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,750 <sup>a</sup>	1	,386		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitudes	1,046	1	,306		
Estadístico exacto de Fisher				1,000	,667
Asociación lineal por lineal	,500	1	,480		
N de casos válidos	3				

a. 4 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se acepta la hipótesis nula.

**CONTINGENCIA. SEMEN DILUIDO.****PRUEBA DE EXP 1. VS EXP 2.****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,750 <sup>a</sup>	1	,386		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitudes	1,046	1	,306		
Estadístico exacto de Fisher				1,000	,667
Asociación lineal por lineal	,500	1	,480		
N de casos válidos	3				

a. 4 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se acepta la hipótesis nula

**PRUEBA DE EXP 1. VS EXP 3.****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,750 <sup>a</sup>	1	,386		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitudes	1,046	1	,306		
Estadístico exacto de Fisher				1,000	,667
Asociación lineal por lineal	,500	1	,480		
N de casos válidos	3				

a. 4 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se acepta la hipótesis nula

**PRUEBA DE EXP 2. VS EXP 3.****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,750 <sup>a</sup>	1	,386		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitudes	1,046	1	,306		
Estadístico exacto de Fisher				1,000	,667
Asociación lineal por lineal	,500	1	,480		
N de casos válidos	3				

a. 4 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se acepta la hipótesis nula

**CONTINGENCIA. 3 HORAS POS-DILUCIÓN.****PRUEBA DE EXP 1. VS EXP 2.****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,750 <sup>a</sup>	1	,386		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitudes	1,046	1	,306		
Estadístico exacto de Fisher				1,000	,667
Asociación lineal por lineal	,500	1	,480		
N de casos válidos	3				

a. 4 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se acepta hipótesis nula

**PRUEBA DE EXP 1. VS EXP 3.****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,750 <sup>a</sup>	1	,386		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitudes	1,046	1	,306		
Estadístico exacto de Fisher				1,000	,667
Asociación lineal por lineal	,500	1	,480		
N de casos válidos	3				

a. 4 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se acepta hipótesis nula

**PRUEBA DE EXP 2. VS EXP 3****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,000 <sup>a</sup>	4	,199
Razón de verosimilitudes	6,592	4	,159
Asociación lineal por lineal	,962	1	,327
N de casos válidos	3		

a. 9 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

Se acepta hipótesis nula.

**CONTINGENCIA. 24 HORAS POST DILUCIÓN.****PRUEBA DE EXP 1. VS EXP 2****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,000 <sup>a</sup>	2	,223
Razón de verosimilitudes	3,819	2	,148
Asociación lineal por lineal	1,500	1	,221
N de casos válidos	3		

a. 6 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

Se acepta hipótesis nula.

**PRUEBA DE EXP 1. VS EXP 3****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,000 <sup>a</sup>	4	,199
Razón de verosimilitudes	6,592	4	,159
Asociación lineal por lineal	2,000	1	,157
N de casos válidos	3		



a. 9 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.  
Se acepta la hipótesis nula

### PRUEBA DE EXP 2. VS EXP 3.

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,000 <sup>a</sup>	2	,223
Razón de verosimilitudes	3,819	2	,148
Asociación lineal por lineal	1,500	1	,221
N de casos válidos	3		

a. 6 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

Se acepta hipótesis nula

### CONTINGENCIA. 48 HORAS POST DILUCIÓN

#### PRUEBA DE EXP 1. VS EXP 2.

Pruebas de chi-cuadrado

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,750 <sup>a</sup>	1	,386		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitudes	1,046	1	,306		
Estadístico exacto de Fisher				1,000	,667
Asociación lineal por lineal	,500	1	,480		
N de casos válidos	3				

a. 4 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se acepta hipótesis nula.

**PRUEBA DE EXP 1. VS EXP 3.****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	3,000 <sup>a</sup>	2	,223
Razón de verosimilitudes	3,819	2	,148
Asociación lineal por lineal	,008	1	,928
N de casos válidos	3		

a. 6 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

Se acepta hipótesis nula

**PRUEBA DE EXP 2. VS EXP 3.****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	,750 <sup>a</sup>	1	,386		
Corrección por continuidad <sup>b</sup>	,000	1	1,000		
Razón de verosimilitudes	1,046	1	,306		
Estadístico exacto de Fisher				1,000	,667
Asociación lineal por lineal	,500	1	,480		
N de casos válidos	3				

a. 4 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

b. Calculado sólo para una tabla de 2x2.

Se acepta la hipótesis nula

**CONTINGENCIA. 72 HORAS POST DILUCIÓN.**

**PRUEBA DE EXP 1. VS EXP 2.****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,000 <sup>a</sup>	4	,199
Razón de verosimilitudes	6,592	4	,159
Asociación lineal por lineal	,857	1	,355
N de casos válidos	3		

a. 9 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

Se acepta hipótesis nula

**PRUEBA DE EXP 1. VS EXP 3.****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,000 <sup>a</sup>	4	,199
Razón de verosimilitudes	6,592	4	,159
Asociación lineal por lineal	1,986	1	,159
N de casos válidos	3		

a. 9 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

Se acepta la hipótesis nula.

**PRUEBA DE EXP 2. VS EXP 3.****Pruebas de chi-cuadrado**

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	6,000 <sup>a</sup>	4	,199
Razón de verosimilitudes	6,592	4	,159
Asociación lineal por lineal	,445	1	,505
N de casos válidos	3		

a. 9 casillas (100,0%) tienen una frecuencia esperada inferior a 5. La frecuencia mínima esperada es ,33.

Se acepta la hipótesis nula

ANEXO.3

NOMBRE	EDAD	ESPECIE	RAZA	CONDICIÓN CORPORAL DE I A 5	CIRCUNFERENCIA ESCROTAL	VOLUMEN DEL EYACULADO	COLOR Y ASPECTO DEL SEMEN	fecha y hora de la colecta
Wilson	18 mox	Ovino	Dorper	4,5	32 cm	1,1 ml	blanco amarillento	17 Junio 9 am
	MOVIMIENTO MASAL	MOVIMIENTO INDIVIDUAL	MORFOANOMALIAS	CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	PIVOTOS / MUERTOS			
SEMEN FRESCO	MBS)	MB 2707	Cabeza, 1x11mm	4.400.000/ml	647			
SEMEN POSTDILUCIÓN		MB 2707	5 Hojitas		417			
3 HORAS POST DILUCIÓN		MB 2707	Cabeza 1x11mm		507			
24 HORAS POST DILUCIÓN		B 50-697	7 Cabeza 3x11mm		547			
48 HORAS POST DILUCIÓN		R 30-497	6 Cabeza 3x11mm		387			
72 HORAS POST DILUCIÓN		P < 307	5 Cabeza 4x11mm		247			
Poncho	18 mox	Ovino	Dorper	4,5	31 cm	1 ml	blanco amarillento	17 Junio 8 am
	MOVIMIENTO MASAL	MOVIMIENTO INDIVIDUAL	MORFOANOMALIAS	CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	PIVOTOS / MUERTOS			
SEMEN FRESCO	MBS)	MB 2707	6 Cabeza 5	4.800.000/ml	627-0			
SEMEN POSTDILUCIÓN		MB 2707	2 Hojitas		617-000			
3 HORAS POST DILUCIÓN		MB 2707	2 Hojitas		347-000			
24 HORAS POST DILUCIÓN		B 50-697	9 Cabeza 5x11mm		537-000			
48 HORAS POST DILUCIÓN		R 30-497	3 Hojitas		387-000			
72 HORAS POST DILUCIÓN		P < 307	6 Cabeza 5		177-000			
Kike	12 mox	Ovino	Dorper	4,0	26 cm	0,8 ml	blanco grisáceo	17 Julio 7 am
	MOVIMIENTO MASAL	MOVIMIENTO INDIVIDUAL	MORFOANOMALIAS	CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	PIVOTOS / MUERTOS			
SEMEN FRESCO	MBS)	MB 2707	9 Hojitas	7.000.000/ml	817-0			
SEMEN POSTDILUCIÓN		MB 2707	6 Cabeza 5		267-000			
3 HORAS POST DILUCIÓN		MB 2707	11 Hojitas		247-0			
24 HORAS POST DILUCIÓN		B 50-697	8 Hojitas		327-000			
48 HORAS POST DILUCIÓN		R 30-497	5 Hojitas		557-000			
72 HORAS POST DILUCIÓN		P < 307	9 Hojitas		157-000			

NOMBRE	EDAD	ESPECIE	RAZA	CONDICIÓN CORPORAL DE I A 5	CIRCUNFERENCIA ESCROTAL	VOLUMEN DEL EYACULADO	COLOR Y ASPECTO DEL SEMEN	fecha y hora de la colecta
Wilson	18 mox	Ovino	Dorper	4,5	32 cm	1,7 ml	blanco amarillento	20 Julio 7 am
	MOVIMIENTO MASAL	MOVIMIENTO INDIVIDUAL	MORFOANOMALIAS	CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	PIVOTOS / MUERTOS			
SEMEN FRESCO	MBS)	MB 2707	7 Hojitas	4.200.000/ml	637-			
SEMEN POSTDILUCIÓN		MB 2707	8 Cabeza 5		2817-			
3 HORAS POST DILUCIÓN		MB 2707	6 Hojitas		297-			
24 HORAS POST DILUCIÓN		B 50-697	8 Cabeza 5		557-			
48 HORAS POST DILUCIÓN		R 30-497	8 Cabeza 5		437-			
72 HORAS POST DILUCIÓN		P < 307	6 Hojitas		217-			
Poncho	18 mox	Ovino	Dorper	4,5	31, cm	1 ml	blanco amarillento	20 Julio 8 am
	MOVIMIENTO MASAL	MOVIMIENTO INDIVIDUAL	MORFOANOMALIAS	CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	PIVOTOS / MUERTOS			
SEMEN FRESCO	MBS)	MB 2707	6 Cabeza 5	3.000.000/ml	627-			
SEMEN POSTDILUCIÓN		MB 2707	2 Hojitas		417-			
3 HORAS POST DILUCIÓN		MB 2707	2 Cabeza 5		267-			
24 HORAS POST DILUCIÓN		B 50-697	9 Cabeza 5		537-			
48 HORAS POST DILUCIÓN		R 30-497	6 Hojitas		387-			
72 HORAS POST DILUCIÓN		P < 307	7 Cabeza 5		147-			
Kike	12 mox	Ovino	Dorper	4	26 cm	0,8 ml	blanco grisáceo	20 Julio 9:10 am
	MOVIMIENTO MASAL	MOVIMIENTO INDIVIDUAL	MORFOANOMALIAS	CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	PIVOTOS / MUERTOS			
SEMEN FRESCO	MBS)	MB 2707	11 Cabeza	3.300.000/ml	637-0			
SEMEN POSTDILUCIÓN		MB 2707	9 Hojitas		377-000			
3 HORAS POST DILUCIÓN		MB 2707	11 Hojitas		247-000			
24 HORAS POST DILUCIÓN		B 50-697	13 Cabeza 5		537-000			
48 HORAS POST DILUCIÓN		R 30-497	9 Hojitas		347-000			
72 HORAS POST DILUCIÓN		P < 307	6 Hojitas		157-000			

NOMBRE	EDAD	ESPECIE	RAZA	CONDICIÓN CORPORAL DE I A 5	CIRCUNFERENCIA ESCROTAL	VOLUMEN DEL EYACULADO	COLOR Y ASPECTO DEL SEMEN	fecha y hora de la colecta
Wilson	18 meses	Ovina	Dorper	4,5	32 cm	1,7 ml	blanco 0 ml / 14%	20 Julio 7 am
	MOVIMIENTO MASAL	MOVIMIENTO INDIVIDUAL	MORFOANOMALIAS	CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	%VIVOS / MUERTOS			
SEMEN FRESCO	MBCS	MB 2707	7 Huevo E	4200000/ml	83%			
SEMEN POSTDILUCIÓN		MB 2707	8 cabeza S		81%			
3 HORAS POST DILUCIÓN		MB 2707	6 Flaco S		79%			
24 HORAS POST DILUCIÓN		B 50-697	8 cabeza S		55%			
48 HORAS POST DILUCIÓN		R 30-497	8 cabeza S		43%			
72 HORAS POST DILUCIÓN		P 2307	6 Flaco E		21%			

NOMBRE	EDAD	ESPECIE	RAZA	CONDICIÓN CORPORAL DE I A 5	CIRCUNFERENCIA ESCROTAL	VOLUMEN DEL EYACULADO	COLOR Y ASPECTO DEL SEMEN	fecha y hora de la colecta
Poncho	18 meses	Ovina	Dorper	4,5	31 cm	1 ml	blanco ampuloso	20 Julio 8 am
	MOVIMIENTO MASAL	MOVIMIENTO INDIVIDUAL	MORFOANOMALIAS	CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	%VIVOS / MUERTOS			
SEMEN FRESCO	MBCS	MB 2707	6 cabeza S	2.000.000/ml	85%			
SEMEN POSTDILUCIÓN		MB 2707	7 Huevo E		81%			
3 HORAS POST DILUCIÓN		MB 2707	7 cabeza S		76%			
24 HORAS POST DILUCIÓN		B 50-697	9 cabeza S		53%			
48 HORAS POST DILUCIÓN		R 30-497	8 Flaco E		38%			
72 HORAS POST DILUCIÓN		P 2307	7 cabeza S		14%			

NOMBRE	EDAD	ESPECIE	RAZA	CONDICIÓN CORPORAL DE I A 5	CIRCUNFERENCIA ESCROTAL	VOLUMEN DEL EYACULADO	COLOR Y ASPECTO DEL SEMEN	fecha y hora de la colecta
Kike	12 meses	Ovina	Dorper	4	26 cm	48 ml	blanco grisáceo	20 Julio 9:00 am
	MOVIMIENTO MASAL	MOVIMIENTO INDIVIDUAL	MORFOANOMALIAS	CONCENTRACIÓN ESPERMÁTICA	%VIVOS / MUERTOS			
SEMEN FRESCO	MBCS	MB 2707	11 cabeza S	3.500.000/ml	85% - vivo			
SEMEN POSTDILUCIÓN		MB 2707	9 Flaco d		77% - vivo			
3 HORAS POST DILUCIÓN		MB 2707	11 Flaco d		74% - vivo			
24 HORAS POST DILUCIÓN		B 50-697	13 cabeza S		53% - vivo			
48 HORAS POST DILUCIÓN		R 30-497	9 Flaco d		34% - vivo			
72 HORAS POST DILUCIÓN		P 2307	6 Flaco E		11% - vivo			

