



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



**DETERMINACIÓN DE LA ASOCIACIÓN ENTRE LA
SECRECIÓN CERVICAL Y LA TASA DE PREÑEZ DESPUES DE
LA SINCRONIZACIÓN DE CELO EN BORREGAS CORRIEDALE
DE ALTURA**

TESIS

PRESENTADA POR:

YOSIP HANMERLY ARAGON RUELAS

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

PUNO - PERÚ

2024



NOMBRE DEL TRABAJO

DETERMINACIÓN DE LA ASOCIACION ENTRE LA SECRECION CERVICAL Y LA TASA DE PREÑEZ DESPUES DE LA SINCRON

AUTOR

YOSIP HANMERLY ARAGON RUELAS

RECUENTO DE PALABRAS

18176 Words

RECUENTO DE CARACTERES

96932 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

91 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

2.5MB

FECHA DE ENTREGA

Mar 27, 2024 3:49 PM EST

FECHA DEL INFORME

Mar 27, 2024 3:50 PM EST

● **13% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 13% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 3% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 20 palabras)


Dra. Nubia Lilia Catacora Flores
Asesora


Dr. Pedro U. Colla Anasco
DIRECTOR - UI.



DEDICATORIA

A la Pachamama, por darme la oportunidad de vivir, de seguir los caminos de la sabiduría y así forjarme paso a paso, por permitir iniciar y culminar este proyecto de vida, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía.

Con todo cariño y amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, **a mis padres** Jorge y Doris, a mis hermanos, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ayudan a tratar de ser una persona de bien.

A mis maestros con cariño y gratitud que, en este andar de la vida, influyeron con sus lecciones y experiencias en formarme como una persona de bien y preparado para los retos, objetivos y obstáculos que pone la vida.

A mis compañeros y amigos quienes sin esperar nada a cambio compartieron su conocimiento, alegrías y tristezas y a todas aquellas personas que durante estos años estuvieron a mi lado apoyándome y lograron que este sueño se haya realidad.

Gracias a todos...

Yosip Hanmerly Aragon Ruelas



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano y a los docentes y catedráticos Universitarios de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haberme brindado conocimientos en mi formación profesional.

A la Dra. Nubia Lilia, Catacora Flores, por aceptar la dirección de esta tesis y haberme orientado en la tarea investigadora, mostrando un constante e inestimable apoyo, paciencia y entusiasmo en el proyecto.

A los distinguidos **miembros del Jurado**: Dr. Manuel Guido Pérez Durand, MVZ. Ciriaco Teodoro Zuñiga Zuñiga y MVZ. Marino Francisco Avila Felipe, por acceder amablemente a formar parte del mismo, por sus revisiones, valiosas aportaciones y sugerencias para el mejoramiento de esta tesis, sus observaciones me dejaron mucho aprendizaje.

A mi equipo de investigación por el apoyo incondicional brindado durante todo el proceso, un agradecimiento especial para Fundo Ñactuiri por permitirme realizar la investigación en sus semovientes, igualmente a la Estación IVITA Marangani en especial al Dr. Wilber García Vera por abrirme las puertas de su laboratorio donde pude realizar estudios fundamentales, al Dr. Franco H. Condori Quispe de (Cabaña San Antonio de Padua) y Dr. Rassiel Macedo Sucari por el apoyo incondicional en el proceso de esta investigación; a mis amigos José A. Béjar Hancco, Dra. Miriam Miguelina Gutiérrez Paco, Alonzo Dueker Hancco León, Pool Zapata Iman, Kevin Ali Sucari Paco, Dianeth Choque de la Cruz y Dr. Luis Alberto Carlo Lozada por ser parte del equipo, a todos ellos muchísimas gracias de todo corazón.

Yosip Hanmerly Aragon Ruelas



ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTOS	
ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE ANEXOS	
ACRÓNIMOS	
RESUMEN	13
ABSTRACT.....	14
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN	
1.1. HIPÓTESIS DEL TRABAJO	16
1.1.1. Hipótesis general.....	16
1.1.2. Hipótesis específicas	16
1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	17
1.2.1. Objetivo general	17
1.2.2. Objetivos específicos	17
CAPÍTULO II	
REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1. MARCO TEÓRICO	18
2.1.1. Estación reproductiva del ovino	18



2.1.2. Fotoperiodo	18
2.1.3. Hipotálamo.....	19
2.1.4. Hipófisis.....	19
2.1.5. Ovarios.....	20
2.1.6. Útero	21
2.1.7. Foliculogénesis	21
2.1.8. Endocrinología del ciclo estral de la oveja	25
2.1.9. Mecanismo fisiológico de la sincronización de celo y secreción cervical	31
2.1.10. Mecanismo de acción de las esponjas intravaginales con progestágenos	32
2.1.11. Mecanismo de acción de la Gonadotropina coriónica equina (eCG).....	33
2.1.12. Fisiología de la secreción cervical	35
2.1.13. Inseminación artificial laparoscópica.....	38
2.2. ANTECEDENTES	39
2.2.1. Antecedentes regionales	39
2.2.2. Antecedentes nacionales	43
2.2.3. Antecedentes internacionales.....	45

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE ESTUDIO.....	50
3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL	50
3.2.1. Recurso biológico	50
3.3. METODOLOGÍA	50
3.3.1. Selección de hembras.....	50
3.3.2. Protocolo de sincronización del estro en hembras ovinas	51



3.4. OBTENCIÓN DEL SEMEN Y CRIOPRESERVACIÓN	54
3.4.1. Elaboración de dilutor.....	54
3.4.2. Elaboración de dilutor.....	55
3.4.3. Dilución del semen	56
3.4.4. Evaluación Pre congelación.....	57
3.4.5. Motilidad masal	58
3.4.6. Evaluación de Vitalidad.....	59
3.4.7 Evaluación Host.....	59
3.4.8 Proceso de congelación de semen.....	60
3.4.9 Evaluación Post descongelamiento.....	60
3.4.10 Inseminación artificial por laparoscopia	61
3.4.11 Determinación del tipo de secreción cervical	63
3.4.12 Diagnóstico de gestación.....	64

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. TASA DE PREÑEZ SEGÚN EL TIEMPO DE INSEMINACIÓN INTRAUTERINA POST RETIRO DE DISPOSITIVO VAGINAL EN BORREGAS CORRIEDALE	65
4.2. TASA DE PREÑEZ SEGÚN EL TIPO DE SECRECIÓN CERVICAL EN LA SINCRONIZACIÓN DE CELO EN BORREGAS CORRIEDALE INSEMINADAS POR LAPAROSCOPIA.....	68
V. CONCLUSIONES.....	71
VI. RECOMENDACIONES	72
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73
ANEXOS.....	83



Área: Reproducción Animal.

Tema: Relación entre secreción cervical y tasa de preñez en borregas.

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 04 de abril de 2024



ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Composición de dilutor para criopreservación de semen.	54
Tabla 2 Características seminales del semen antes de la criopreservación.....	58
Tabla 3 Características seminales del semen a la descongelación.....	61
Tabla 4 Clasificación de la mucosa vaginal y características físicas del mucus (Muñoz, 2011).....	64
Tabla 5 Tasa de preñez según el tiempo de inseminación intrauterina a las 52, 55 y 60 horas post retiro de dispositivo vaginal en borregas Corriedale.	65
Tabla 6 Tasa de preñez según el tipo de secreción cervical en la sincronización de celo en borregas Corriedale inseminadas por laparoscopia.....	68



ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Esquema de las regulaciones hormonales entre el hipotálamo, hipófisis, ovario. Fuente: Rippe, C. 2009.	21
Figura 2 Protocolo de sincronización de celo en ovinos corriedale.	52
Figura 3 Introducción de esponjas intravaginales con 60mg de acetato de medroxiprogesterona.	53
Figura 4 Ovinos corriedale sometidos a sincronización de celo.	83
Figura 5 Equipos y materiales de Inseminación artificial por laparoscopia.	83
Figura 6 a) ovinos en pleno ayudo 18 horas antes de la inseminación b) pleno proceso de IAL.	84
Figura 7 a) sujeción y evaluación del tipo de secreción cervical b) observación de las características del cérvix.	84



ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1 Panel fotográfico.....	83
ANEXO 2 Análisis estadístico con SAS para tiempo post retiro de dispositivo vaginal	85
ANEXO 3 Análisis estadístico SAS para tipo de secreción cervical	87
ANEXO 4 Declaración jurada de autenticidad de tesis.....	90
ANEXO 5 Autorización para el depósito de tesis en el Repositorio Institucional.....	91



ACRÓNIMOS

%:	Porcentaje
CL:	Cuerpo Lúteo
IA:	Inseminación artificial
IAL:	Inseminación artificial laparoscópica
E:	Estrógenos
E-RE:	Estrógeno receptor de estrógeno
Ecg:	Gonadotropina coriónica equina
FSH:	Hormona folículo estimulante
Fuc:	Fucosa
GnRH:	Hormona gonadotrópica
IAO:	Inseminación artificial ovina
LH:	Hormona luteinizante
MAP:	Acetato de medroxiprogesterona
NET:	Trampas extracelulares de neutrófilos
Neu5Ac:	Ácido N-acetilneuramínico siálico
Neu5Gc:	Ácido N-glicolilneuramínico siálico
P4:	Progesterona
P-RP:	Progesterona receptor de progesterona
PGF2a:	Prostaglandina f2 alfa
RE:	Receptor de estrógenos
RP:	Receptor de progesterona



RESUMEN

El objetivo del trabajo fue determinar la tasa de preñez en la inseminación intrauterina vía laparoscopia con semen congelado en borregas de la raza Corriedale. Se utilizaron 36 borregas Corriedale con cronometría dentaria: 2, 4 y 6 dientes, con una condición corporal de 2.5 a 3.5, las mismas que fueron sometidas a un protocolo de sincronización de celo mediante el uso de esponjas intravaginales con 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 12 días, inmediatamente a la remoción de la esponja se administró la hormona gonadotropina coriónica equina (eCG) a dosis de 350 UI, así mismo la inseminación laparoscópica se realizó a las 52, 55 y 60 horas después de ser retirado el dispositivo intravaginal y momentos antes de la IAL se evaluó el tipo de secreción cervical haciendo uso de un espejo vaginal. El diagnóstico de gestación se realizó con un ecógrafo de ultrasonido de transductor convexo, esto vía transabdominal a los 45 días post inseminación. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de Chi-cuadrado ($\alpha=0.05$). La tasa de preñez fue de 41.67%, 50% y 58.33% para los tiempos de 52, 55 y 60 horas post retiro de la esponja intravaginal, respectivamente. La tasa de preñez según tipo de secreción cervical fue 23.53% y 73.68% para secreción tipo 1 y tipo 2 respectivamente. Finalmente, no se halló diferencias significativas para tasa de preñez según el tiempo de IAL post retiro de la esponja intravaginal ($p>0.05$). Para tasa de preñez según tipo de secreción cervical, se hallaron diferencias significativas ($p<0.05$), siendo mayor con el tipo de secreción 2. Se concluye que el tipo de secreción cervical puede ser un método para obtener mejores resultados a la hora de usar la técnica de inseminación artificial laparoscópica.

Palabras clave: Esponjas intravaginales, gonadotropina coriónica equina (eCG), inseminación laparoscopia, preñez, secreción cervical.



ABSTRACT

This research work was carried out in the Ñactuiri Farm, Nuñoa District, Melgar Province and Puno Region with the objective of determining the pregnancy rate through intrauterine insemination via laparoscopy with frozen semen in Corriedale ewes. 36 ewes of the categories: 2, 4 and 6 teeth of the Corriedale breed were used, these were selected according to their body condition where only ewes with a body condition of 2.5 to 3.5 were admitted, the same ones that were subjected to a protocol oestrus synchronization by using intravaginal sponges with 60mg of medroxyprogesterone acetate (MAP) for 12 days, immediately after removing the sponge, equine chorionic gonadotropin (eCG) hormone was administered at a dose of 300 IU, likewise the Intrauterine insemination was performed at 52, 55, and 60 hours after the intravaginal device was removed. The diagnosis of pregnancy was made with a transabdominal ultrasound with a convex transducer 45 days post insemination. Statistical analysis was performed using the Chi-square test ($\alpha=0.05$). The pregnancy rate was 41.67%, 50% and 58.33% for the times of 52, 55 and 60 hours after removal of the intravaginal sponge, respectively. The pregnancy rate according to the type of cervical secretion was 23.53% and 73.68% for secretion type 1 and type 2 respectively. Finally, no significant differences were found for the pregnancy rate according to the post-removal time of the intravaginal sponge ($p>0.05$). For pregnancy rate according to the type of cervical secretion, significant differences were found ($p<0.05$), being greater with the type of secretion 2. It is concluded that the type of cervical secretion can be a method to obtain better results when using laparoscopic artificial insemination technique.

Keywords: Intravaginal sponges, equine chorionic gonadotropin (eCG), laparoscopic insemination, pregnancy.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Las barreras anatómicas del aparato reproductor la hembra y la baja calidad del semen congelado descongelado de los carneros son factores que limitan la difusión de genotipos superiores en la especie ovina (Pau et al., 2020). Por ello, la inseminación artificial (IA) se realiza mayoritariamente por vía laparoscópica. Así, la inseminación intrauterina laparoscópica (IAL) es la única técnica que garantiza una fertilidad en situaciones particulares como la aplicación de dosis seminales importadas, obtener mayor número de crías por padre, muestras de semen de origen epididimario, dosis de alto valor genético y/o estudios experimentales (Kaabi et al., 2003). Por otro lado, la sincronización de celo es una biotecnología que permite aprovechar el potencial reproductivo del rebaño ovino al obtener al menos tres partos en el lapso de dos años. Esta técnica a su vez permite concentrar los trabajos de inseminación artificial en pocos días con una mayor eficiencia en el uso del tiempo y de la mano de obra (Prieto et al., 2010).

En cuanto a los trabajos realizados en nuestra región Puno, Mango (2015), obtuvo una fertilidad del 55.55% en borregas Corriedale en época no reproductiva. Sin embargo, Pérez et al. (2010), cuando comparó la tasa de preñez en borregas Corriedale en época reproductiva y no reproductiva realizando la inseminación artificial a tiempo fijo 52 a 56 h post remoción de la esponja, obtuvo 75.0% de ovejas gestantes en época reproductiva y 66.6% ovejas gestantes en época no reproductiva. Contrariamente, Cárdenas (2008) reportó tasas de preñez en borregas Corriedale del: 47.1 y 27.8%, cuando se realizó la inseminación artificial por laparoscopía con semen congelado, menor a 6 o mayor a 6 horas posterior a la presentación de celo. Además, bajas tasas de preñez fueron reportadas por Manrique (2011), con protocolo corto de sincronización de celo (5 días) 21.05% y



largo (9 días) 25% en borregas inseminadas con semen congelado vía cervical. Por otro lado, Retamozo (2015) en borregas Corriedale obtuvo 57.1% cuando utilizó semen fresco para la inseminación artificial por laparoscopia. Es decir, existen resultados variables, debido a la época reproductiva, tiempo de inseminación, vía de inseminación y tipo de semen.

A pesar de los beneficios de la sincronización estral y la IA, su uso en la producción ovina es limitado, debido a su costo relativamente alto y sobre todo la irregularidad de los resultados (Hill et al., 1998; Anel et al., 2006). Por otro lado, Gibbons y Cueto (2017) indican que la inseminación intrauterina, se realiza próxima al momento de la ovulación, o sea entre las 58 y 66 horas post tratamiento y junto a la observación de cambios en el moco cervical, podría ser una herramienta muy útil y confiable para indicar el momento óptimo para la IAL (Fonseca, 2017). Por lo tanto, la hipótesis de estudio radica en encontrar mejores resultados de preñez cuando la inseminación se realiza a más de 56 horas post retiro del dispositivo, juntamente con un flujo más estriado.

1.1. HIPÓTESIS DEL TRABAJO

1.1.1. Hipótesis general

- El tipo de secreción cervical tiene gran asociación con altas tasas de preñez después de la sincronización de celo en borregas Corriedale.

1.1.2. Hipótesis específicas

- La inseminación después inseminación intrauterina por laparoscopia a las 60 horas muestra mayores tasas de preñez frente a las 55 y 60 horas en borregas Corriedale de altura.



- La secreción cervical tipo 3 muestra mayor tasa de preñez frente al tipo 1 y 2, después de la sincronización de celo a los 52, 55 y 60 horas en borregas Corriedale de altura.

1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1. Objetivo general

- Determinar la asociación de la secreción cervical y tasa de preñez después de la sincronización de celo en borregas Corriedale.

1.2.2. Objetivos específicos

- Evaluar la tasa de preñez a los 45 días, después de la inseminación intrauterina por laparoscopia a las 52, 55 y 60 horas post retiro de dispositivo vaginal en la sincronización de celo en borregas Corriedale.
- Evaluar la asociación de la secreción cervical y la tasa de preñez después de la sincronización de celo a las 52, 55 y 60 horas post sincronización de celo en borregas Corriedale.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. Estación reproductiva del ovino

En las regiones altoandinas del Perú, las ovejas son consideradas poliéstricas estacionales y la actividad reproductiva comienza con la temporada de otoño. La estación reproductiva contempla una duración que está condicionada por las horas luz del día, la raza y el nivel nutricional. La estacionalidad reproductiva es determinada por el fotoperiodo; la actividad del estro inicia durante la época del año donde los días se hacen más cortos abril a julio (Peña, 2018).

2.1.2. Fotoperiodo

Es el principal mediador de la temporada reproductiva anual en la oveja Porras et al. (2003), donde la señal lumínica que la retina capta y trasmite a la glándula pineal se traduce en un ciclo diario de secreción de melatonina, alta en la noche y baja en el día (circadiano); el lapso de la secreción de melatonina coincide con la duración de la noche y junto con el 17β -estradiol intervienen en la producción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH). Los cambios en la secreción de GnRH provocan cambios en la secreción de LH que son los responsables de la presencia o ausencia de la ovulación; sin embargo, la melatonina no actúa de manera directa en las neuronas productoras de GnRH, lo que implica la participación de un circuito neuronal complejo, donde participan



los sistemas dopaminérgicos, serotoninérgico y de aminoácidos excitadores (Gallegos et al., 2015).

Una menor secreción de melatonina en días largos, conlleva a la síntesis de dopamina y produce el anestro estacional. Durante los días cortos, la mayor duración en la síntesis y secreción de melatonina inhibe la producción de dopamina, con el subsecuente restablecimiento de la actividad estral y la ovulación (Vega & Escondido, 2011).

Factor Nutricional; la secreción de GnRH se reduce en animales desnutridos. La glucosa regula la liberación de GnRH y, al parecer, los péptidos asociados a la insulina participan en el control del metabolismo de energía en el cerebro (Arroyo, 2011).

2.1.3. Hipotálamo

Forma parte de la base del cerebro y sus neuronas producen la Hormona Liberadora de las Gonadotropinas o (GnRH); la GnRH se difunde a través de los capilares al sistema hipofisiario y de allí a las células de la hipófisis anterior, en donde su función es estimular la producción y secreción de las hormonas hipofisarias Hormona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Luteinizante (LH) entre otras (Rippe, 2009).

2.1.4. Hipófisis

Posee una adenohipófisis (parte anterior) y una neurohipófisis (hipófisis posterior). La adenohipófisis produce varios tipos de hormonas como por ejemplo la Hormona Folículo estimulante (FSH) y la Hormona Luteinizante (LH) que cumplen un papel relevante en el ciclo estral ovino. La FSH es la encargada del



proceso esteroideo de génesis ovárica, crecimiento y maduración folicular y la LH es la que interviene en el proceso de ovulación, formación y mantenimiento del cuerpo lúteo (Rippe, 2009).

La hipófisis posterior constituye una excepción a la disposición general de las glándulas endocrinas, ya que su secreción es producida por centros nerviosos hasta la hipófisis posterior, donde se almacenan y se liberan cuando son requeridos (Delgado et al., 2016).

2.1.5. Ovarios

Son glándulas que poseen dos funciones básicas: una exocrina, la producción o liberación de óvulos, y otra endocrina como es la secreción de hormonas. Entre las hormonas que producen los ovarios podemos citar los estrógenos o estradiol, la progesterona y la inhibina (Evans & Maxwell, 1990). Los estrógenos son responsables de incitar la conducta sexual del animal, a nivel del hipotálamo se produce una retroalimentación positiva que conduce a la liberación de GnRH que a su vez inducirá la liberación de FSH y LH en la hipófisis anterior, la progesterona es secretada en el cuerpo lúteo por acción de la LH, es encargada de la preparar al útero para la implantación, albergar al embrión y mantener la gestación, además se produce un efecto de retroalimentación negativa sobre el hipotálamo. La inhibina interviene en el mecanismo de secreción de FSH y tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la hipófisis anterior produciendo una menor secreción de FSH (Rippe, 2009).

2.1.6. Útero

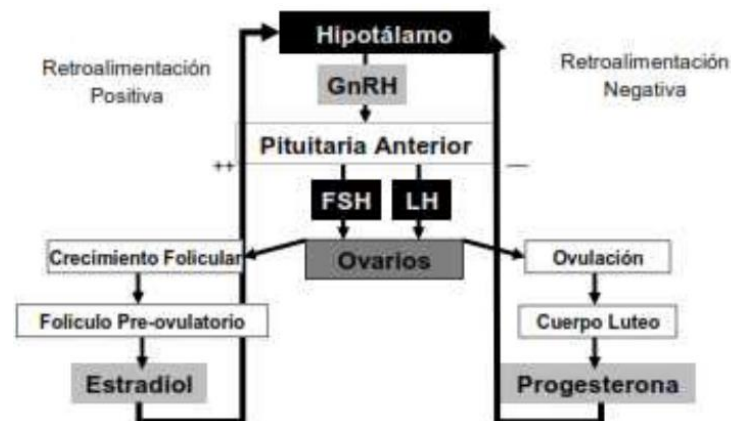
Produce la Prostaglandina F2 alfa (PGF2a) la cual interviene en la regulación del ciclo estral mediante su efecto de luteolisis o regresión del cuerpo lúteo, también interviene en los procesos de ovulación y parto (Rippe, 2009).

Interviene en el control de la actividad cíclica del ovario a través de las prostaglandinas (Swenson & Reece, 1999).

Figura 1

Esquema de las regulaciones hormonales entre el hipotálamo, hipófisis, ovario.

Fuente: Rippe, C. 2009.



2.1.7. Foliculogénesis

En el estroma ovárico, una cantidad de folículos (predeterminada para cada especie) y los ovocitos que éstos contienen, inician un proceso de crecimiento, desarrollo y diferenciación conocido como foliculogénesis; un proceso continuo e irreversible, que está regulado por mecanismos hormonales endocrinos, paracrinos y autocrinos que, interactuando en forma dinámica entre sí, estimulan selectivamente o inhiben determinados eventos foliculares (Murphy & Pescador, 1996).



Scaramuzzi et al. (1993), desarrollaron un modelo de clasificación de la población folicular ovárica basado en su dependencia o sensibilidad a las gonadotrofinas hipofisarias, clasificándolos en: folículos primordiales, folículos designados, folículos que responden a las gonadotrofinas, folículos gonadotrofino dependientes y folículos ovulatorios.

En ovejas jóvenes se estima que existe una población de folículos primordiales entre 40.000 y 300.000 (Scaramuzzi et al., 1993), mientras que en ovejas adultas Cahill & Mauleon (1980) reportaron entre 12.000 y 86.000 folículos primordiales de los cuales entre 100 y 400 están en crecimiento en el parénquima ovárico. Estos folículos primordiales están inactivos, con óvulos en su interior, sin zona pelúcida y una capa de células escamosas incompleta que los rodea. Una señal no conocida hasta el momento, determina que estos folículos se activen, el ovocito aumente de tamaño, se diferencien las células de la teca (Hirshfield, 1991) y una importante actividad mitótica resulta en una serie de capas concéntricas de células granulosas alrededor del ovocito (Scaramuzzi et al., 1993). A pesar del desarrollo temprano de receptores para la hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH) en las células de la teca y de la granulosa respectivamente, estos folículos pre-antrales pueden seguir creciendo independiente de las gonadotrofinas hipofisarias (Webb et al., 2003).

En respuesta a la FSH, las células granulosas sintetizan y secretan proteoglicanos los cuales estarían involucrados en la formación del antro folicular (Scaramuzzi et al., 1993). Pruebas in vitro indican que los folículos antrales pequeños responden individualmente y de manera distinta a las gonadotrofinas hipofisarias, aunque el desarrollo puede continuar incluso en ausencia de FSH y LH. Sin embargo, los folículos mayores a 2 mm de diámetro se tornan



absolutamente dependientes de la FSH y de la concentración sanguínea de LH (Scaramuzzi et al., 1993). La mayor sensibilidad de estos folículos a las gonadotropinas es la razón por la que alcanzan el estado de folículos ovulatorios. La transformación de un folículo gonadotrófico dependiente en un folículo ovulatorio requiere de una baja pero crítica concentración de FSH que permita la inducción final de la maduración de las células de la granulosa (Henderson et al., 1988). Finalmente, la retroalimentación positiva en el folículo asegura una presencia continua y abundante de andrógenos para una posible secreción de estradiol. Las fases de reclutamiento, selección y dominancia folicular determinan el número final de folículos ovulatorios en todas las especies. Sin embargo, la mayoría de los folículos no logran culminar en la ovulación, sino que toman el camino de la degeneración celular en un proceso conocido como apoptosis o muerte celular programada (Scaramuzzi et al., 1993). La atresia folicular es mínima entre los folículos primordiales y referidos, aumentando a medida que el folículo alcanza su tamaño máximo y se desarrolla.

Existe mucha información en relación al crecimiento y desarrollo folicular, pero aún no están claros los mecanismos que explican el control del número de folículos ovulados en cada celo (Scaramuzzi et al., 1993). Un complejo mecanismo integrado por señales sistémicas (gonadotropinas) y factores intraováricos e intrafoliculares, serían responsables de coordinar el reclutamiento, la selección y el crecimiento de los folículos, desde su estado de folículo primordial, hacia la ovulación o la atresia (Webb et al., 2003). Factores de crecimiento entre los que se conocen: el sistema de factores de crecimiento similar a la insulina (IGF), factores transformadores de crecimiento beta (TGF β) de la superfamilia de las inhibinas, activinas y folistatina y la familia de las proteínas



morfogenética ósea (BMP) que están presentes en las células del estroma ovárico, de la granulosa y de la teca, han sido implicados en la regulación de la transición y sobrevivencia de los folículos primordiales a folículos primarios (Monget et al., 2002; Webb et al., 2003). Factores plasmáticos asociados a la preñez han sido relacionados en los folículos pre-ovulatorios con la expresión de receptores para aromatasa y LH en las células de la granulosa (Monget et al., 2002). En este sentido, Eckery et al. (1997) demostraron la expresión de mRNA para receptores de hormona de crecimiento (GH) en las células de la granulosa de los folículos antrales pequeños y en el ovocito, sugiriendo que éstos pueden estar involucrados en el mantenimiento de la sensibilidad para las gonadotrofinas hipofisarias en la foliculogénesis de las ovejas. El tratamiento con GH aumenta los niveles séricos del factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-I) y aumenta el número de folículos en desarrollo de 2 mm a 5 mm sin afectar los folículos ovulatorios. Estos IGF mejoran el desarrollo folicular a través de su actividad mitogénica en folículos pequeños y, junto con las gonadotropinas, inducen la esteroidogénesis en los folículos antrales. Se conocen seis proteínas de enlace a los IGF (IGFBP) que con una afinidad comparable a la de los receptores de IGF-I e IGF-II actuarían limitando la disponibilidad de los IGF y atenuando la actividad de la FSH (Monget & Monniaux, 1995). Resultados recientes indican la presencia de factores de crecimiento endotelial vascular (VEGF), producidos por las células de la granulosa, participando en conjunto con las gonadotrofinas en la regulación del desarrollo folicular (Hunter et al., 2004). La ultrasonografía, que se aplica al estudio de la dinámica folicular en ovejas (Ravindra et al., 1994; Rubianes et al., 1997), y las determinaciones cuantitativas de hormonas por técnicas de radioinmunoanálisis (Meikle & Forsberg, 2001), han permitido determinar con



mayor precisión los eventos fisiológicos ováricos. Una onda de desarrollo folicular en los ovinos fue definida como un grupo de folículos que, partiendo de 3 mm de diámetro, alcanzan 5 mm en un período de 48 horas (Bartlewski et al., 1999). Estudios ultrasonográficos en vacas confirmaron la presencia de un patrón de 2 a 3 ondas de desarrollo folicular durante un ciclo estral (Ginther et al., 1989). Las ovejas tienen de dos a cinco ondas de desarrollo folicular en el intervalo entre ovulaciones y se ha demostrado una relación temporal entre la liberación de FSH y el inicio de cada onda. Ondas de desarrollo folicular se presentan durante el anestro estacional (Bartkewsky et al., 1998) y durante el período de transición hacia la estación reproductiva (Ginther et al., 1995). Comparando razas prolíficas y no prolíficas Bartlewski et al. (1999) encontraron un mismo patrón de desarrollo folicular.

La ovogénesis es el mecanismo de formación y diferenciación de las células germinales femeninas. En las primeras etapas del desarrollo embrionario, la proliferación activa de células germinales primordiales da lugar a ovogonias ubicadas en el folículo. Estas células crecen, se diferencian y constituyen al nacimiento, la población total de ovocitos primarios disponibles en la hembra para toda su vida reproductiva determinando en este momento su máximo potencial reproductivo (Baker, 1982).

2.1.8. Endocrinología del ciclo estral de la oveja

2.1.8.1. Ciclo estral

Tiene una duración de 16 a 17 días con extremos de 14 a 21. Mientras no haya fecundación se repetirá rítmicamente cada 17 días, hasta que continúe el estímulo externo, cuando este desaparece, la oveja va a



entrar nuevamente en anestro hasta la próxima temporada sexual (Becaluba, 2007). En borregas de la raza corriedale la presentación del estro tiene una duración promedio de 27 horas (Gonzales, 2007).

Existen diferencias debido a la raza, la temporada de reproducción y el estrés ambiental. El estro es el momento en que la hembra es receptiva al macho y receptiva al apareamiento. Ocurre al final de la fase folicular del ciclo y dura de 24 a 36 horas. El estrógeno, producido por los folículos maduros (grandes), provoca comportamientos femeninos asociados con el estro y alteración de la anatomía, especialmente en el tracto reproductivo. El estro en las ovejas es relativamente discreto y no puede observarse en ausencia de un macho. Es posible que la vulva esté edematosa y que sea evidente una secreción del moco por la vagina (Peña, 2018).

Se han establecido dos fases del ciclo estral en hembras ovinas: una fase luteal desde el segundo día hasta el día 13, y una fase folicular que abarca desde el día 14 hasta el día primero, entendiéndose como día cero el día de presentación del estro. El ciclo estral tiene una duración de entre 16 a 18 días, siendo más corto en corderas que ovejas adultas, 16,8 y 17,2 días, respectivamente (Lozano, 2012).

El ciclo estral es el tiempo que transcurre entre estros, la duración de este ciclo en Chuquibambilla es de aproximadamente 17,65 días como promedio se ha observado que las borregas presentan ciclos más cortos que las ovejas adultas (Alencastre, 1997).



2.1.8.2. Fase folicular

El crecimiento y desarrollo de los folículos está controlado por las gonadotropinas (FSH) y (LH) secretadas por la glándula pituitaria. La FSH estimula el crecimiento inmaduro de los folículos, mientras que la LH es importante para completar las etapas finales del crecimiento. Además, ayudan a los folículos a liberar hormonas femeninas como el estrógeno, que se liberan al torrente sanguíneo provocando la expresión de celo. Dentro de la fase folicular se incluye a las fases del proestro y estro (Aguilar, 2016).

a) El Proestro

Comienza con la regresión del CL y el descenso de la concentración de progesterona. La principal característica que distingue al pro estro es el rápido crecimiento folicular causado por la estimulación de la FSH procedentes de la hipófisis anterior, la duración de esta fase en la oveja es de aproximadamente 2 días (Jesús, 2000).

El estímulo del SNC (fotoperiodo) produce la liberación de gonadotropinas (GnRH), esta hormona es transportada a través del sistema portal, al lóbulo anterior de la hipófisis, una vez allí estimula la secreción de la hormona folículo estimulante (FSH), la que a su vez produce el desarrollo de los folículos ováricos, durante esta etapa ya son perceptibles en los genitales externos, ciertas alteraciones, tales como la edematización e hiperemia de los labios bulbares, las hembras sienten cierta inquietud y comportamiento alterado, pero rechazan todavía al acercamiento por parte del macho (Sasa, 2002), por otro lado el útero aumenta de tamaño, el



endometrio esta congestionado edematoso y sus glándulas presentan abundante actividad secretora su duración promedio es alrededor de 2 días en ovinos (Hafez, 2000).

Los folículos que llegan al estado de dominancia, estado pre ovulatorio, generalmente son dos o tres; no se distinguen sino hasta 48 -36 horas antes de que acontezca; llegan a medir hasta 1,2 cm de diámetro; tal crecimiento responde a cambios morfológicos, funcionales y de vascularización del folículo debido a que las gonadotropinas estimulan la esteroidogénesis en las células de la granulosa y de la teca (Arroyo, 2011).

b) El estro/ceho

Es el periodo en que la hembra manifiesta un comportamiento de actividad sexual, siendo el único momento en que acepta al macho (Alencastre, 1997) en las borregas dura cerca de 24 - 36 hrs, con un promedio de 27.73 hrs en borregas corriedale (Lindsay, 1991; Rubianes, 1999) para nuestro medio del altiplano estas variaciones de su duración varía según la raza, edad y alimentación, condiciones ambientales, clima, inicio y final de la estación reproductiva y según los meses del año y presencia del macho (Gonzales, 2007).

El estro, es un periodo de 24 a 27 horas, momento en que el folículo preovulatorio alcanza su máximo tamaño y tiene una gran capacidad de síntesis de esteroides (Gallegos et al., 2015). El aumento del estradiol plasmático produce el incremento de la concentración de LH. La secreción de LH después de comenzar el estro, se incrementa para llegar a un pico a las 12 horas en ovejas, desencadenando un pico preovulatorio de LH. Las



emisiones de LH permanecen altas durante diez horas y luego disminuyen hasta el nivel inicial. La liberación de esta hormona provoca una o más ovulaciones, que comienza aproximadamente 30 horas después del inicio del estro, y convierte el tejido folicular productor de estradiol en tejido lúteo, que comienza a secretar progesterona. El folículo maduro elabora una hormona no esteroide, la inhibina, cuya función es inhibir la liberación de FSH, de este modo se impide el crecimiento folicular adicional con lo que se limita el ritmo de ovulación (Aisen, 2004).

Respecto a cambios anatómicos notorios durante el estro, se puede observar congestión de la vulva y vagina, dilatación e hinchazón del cuello uterino; Las glándulas secretoras del útero, el cuello uterino y la vagina producen grandes cantidades de moco. El tipo y consistencia del mucus, cambia a lo largo del periodo estral, y esto es también utilizado como un indicador del estadio del estro; al inicio del estro el mucus es transparente y fluida, después de 12 a 18 horas es claro, opaco y gelatinoso y a las 25 a 30 horas se hace más denso (espeso) y de consistencia cremosa (Peña, 2018).

2.1.8.3. Fase luteal

Después de la ovulación del folículo de Graaf, bajo la influencia del aumento de LH, forma un cuerpo hemorrágico. Las células de la granulosa proliferan y se transforman en células lúteas que llenan el antro folicular. El cuerpo lúteo secreta la hormona progesterona alcanzando un máximo de concentración a los seis días y manteniéndose toda la gestación si se ha concebido y si no se ha concebido a los 11 -12 días el cuerpo lúteo



disminuye de tamaño y comienza a descender los niveles de progesterona para que al final de esta fase aparezca una nueva onda de crecimiento folicular (Aguilar, 2016). La fase lútea comprende el metaestro y el diestro.

a) El metaestro

El Metaestro empieza después de la ovulación, cuando el folículo de Graaf está repleta de sangre y se convierte en un cuerpo hemorrágico. Todo continua en la secreción preovulatoria de LH, las células de la granulosa de la pared del folículo ovárico roto se convierten en células lúteas, proliferan hacia el antro folicular y comienzan a producir progesterona y se convierten en el cuerpo lúteo. El cuerpo lúteo está formado por células grandes que viven en la granulosa. Las cuales producen la mayor parte de la progesterona y son sensibles a los pulsos de LH, y de células pequeñas (que vienen de la teca del folículo) que secretan la minoridad de la progesterona pero que son sensibles a la LH (Aisen, 2004).

El útero empieza a secretar un agente luteolítico (prostaglandina-F2alfa), quien regula la pérdida del agente biológico del cuerpo lúteo en ovejas no gestantes. Esta circunstancia es de sumo interés pues la administración exógena de prostaglandinas sintéticas puede ser utilizada para sincronizar celos durante la estación reproductiva (Gibbons & Cueto, 2017).



b) El diestro

Dura aproximadamente 14 días. Siete días después del celo el cuerpo lúteo (CL) llega a tener completa funcionalidad, cuando hay una maduración completa de las células de la granulosa y de la teca. Hacia el día 15 si no existe una concepción en el útero, el cuerpo lúteo finaliza bruscamente (luteólisis), los estrógenos se producen en los folículos y luego incrementan su concentración plasmática produciendo la síntesis de receptores de oxitocina y enzimas precursoras de PGF2a (ácido araquidónico, fosfolipasa A, y otros); es decir, la unión de oxitocina a sus receptores depende de la producción de PGF2a. El pulso inicial de la hormona luteolítica es estimulado por la oxitocina producida en la hipófisis, la que ayuda en la secreción de oxitocina lútea, que tiene efecto en el endometrio desencadenando la síntesis de PGF2a, hormona peptídica, que en el cuerpo lúteo baja el flujo sanguíneo. El ciclo empieza nuevamente con una concentración decreciente de progesterona, concurrente desarrollo del folículo y subsecuente incremento de la concentración sérica de estrógenos (Aisen, 2011).

2.1.9. Mecanismo fisiológico de la sincronización de celo y secreción cervical

2.1.9.1. Fisiología de la sincronización de celo

En ovinos tanto inducción y sincronización del estro se realiza empleando métodos farmacológicos y naturales. Los primeros usan la P4 y sus análogos, administrados principalmente con dispositivos intravaginales, también destacan el uso de prostanoides o análogos de la PGF2a, todo por vía parenteral. Entre los métodos naturales, conlleva el



uso de la bio estimulación que produce el morueco conocido también como “efecto macho” (Solís, 2009).

2.1.10. Mecanismo de acción de las esponjas intravaginales con progestágenos

El tratamiento con progestágenos actúa como un cuerpo lúteo inhibiendo la liberación de gonadotropinas, la duración del tratamiento debe superar la vida efectiva del cuerpo lúteo (12 a 14 días) en ovejas, cuando el tratamiento se suprime el estro aparece 2 a 3 días después (Córdova-Izquierdo et al., 2008).

El uso de progestágenos durante el periodo de anestro induce una forma de diestro que produce el desarrollo de folículos ováricos normales, al remover el progestágeno los folículos pueden ovular, es necesario que la gonadotropina estimule la madurez folicular y la ovulación, la aplicación de Gonadotropina Coriónica equina (eCG) debe realizarse 48 a 24 horas antes de remover el progestágeno (Córdova-Izquierdo et al., 2008).

La sincronización del estro y la ovulación que utilizan P4 (progestágenos), en el ciclo estral tienen acción sobre la fase luteal, mimetizando la acción de la progesterona natural que se produce en el cuerpo lúteo después de la ovulación, que a su vez es responsable de suprimir la hormona liberadora de gonadotropina GnRH, que a su vez inhibe la hormona luteinizante y la hormona folículo estimulante. Por lo tanto, controla la vida útil de CL y las concentraciones circulantes de P4, regulando el ciclo estral y la ovulación. La sincronización con P4 provoca que en el primer estro después del tratamiento se presente una menor tasa de fertilidad, al promover la persistencia del folículo dominante con la



consecuente ovulación de ovocitos envejecidos y menos fértiles (Lozano et al., 2012).

Estos progestágenos son utilizados con esponjas intravaginales, las que poseen concentraciones de 30, 40, 45 y 60 mg de acetato de fluorogestona (FGA). Las esponjas que contienen 30 mg se recomiendan en ovejas con anestro, las de 40 mg para ovejas en estación reproductora (Córdova, 2008). Éstas se impregnan con productos sintéticos análogos a la progesterona como el M.A.P (medroxiacetato de progesterona) y FGA (Acetato de fluorogestona) (Raso, 2004).

2.1.11. Mecanismo de acción de la Gonadotropina coriónica equina (eCG)

La Gonadotropina coriónica equina (eCG, PMSG), hormona placentaria, es secretada en las copas endometriales que se han formado alrededor del día 40 en las yeguas gestantes; es una hormona glicoproteica con un peso molecular aproximadamente de 70, 000 Daltons, por lo que no aparece en la orina y circula en la sangre; contiene subunidades alfa y beta similares a las de la LH y FSH; pero, con mayor contenido de carbohidratos (45 % de su masa), especialmente ácido siálico, Hecho que le confiere características propias desde el punto de vista farmacocinético, como una vida media prolongada que favorece su uso en una sola dosis (Shams et al., 1978).

Tiene una importante acción mediante el AMPc, presentando una actividad de las hormonas como la FSH y LH cuando es administrada en una especie distinta a la Equina. Aunque predomina la actividad de FSH, sin embargo, la relación FSH: LH resulta muy variable en función de factores tales como la raza y el momento de gestación de las yeguas de las cuales se obtienen, siendo el



mecanismo de la eCG estimular el desarrollo folicular de la población folicular incrementando la secreción y la multiplicación de las células de la granulosa e induciendo la liberación endógena de LH (Bettencourt et al., 2008). Al tener un elevado contenido de ácido siálico, la eCG no atraviesa el filtro renal, siendo de este modo el periodo de acción bastante largo, teniendo una vida media de aproximadamente 21 horas, siendo esta característica la que le confiere una utilidad práctica de administración única siendo el tratamiento de estimulación de celo y ovulación más sencillo (Bettencourt et al., 2008). Se puede observar que, al suministrar dosis elevadas, producirá un mayor tiempo de crecimiento folicular, haciendo que el periodo de ovulación sea más largo, ocasionando que la ovulación en borregas sea de manera desincronizada (Grazul et al., 2007).

La dosis de ECG varía de 200 a 600 UI dependiendo de la raza, estación, edad y estado fisiológico del animal. La dosis de eCG es una de las variables más importantes en el uso de este tipo de tratamiento, por ejemplo, para ovejas de lana se inyectan (dependiendo del peso) 500 UI y ovejas de pelo 350 UI aproximadamente. Una dosis inadecuada puede provocar una falta de estímulo, y el incremento en la dosis de eCG por arriba de la dosis recomendada provoca aumentos no deseados en tasa de ovulación y prolificidad, por lo tanto, partos múltiples y la presencia de corderos con poca capacidad de sobrevivencia (Shams et al., 1978). Sin embargo, se puede observar que, al suministrar dosis elevadas, producirá un mayor tiempo de crecimiento folicular, haciendo que el periodo de ovulación sea más largo, ocasionando que la ovulación en borregas sea de manera desincronizada (Grazul et al., 2007).



2.1.12. Fisiología de la secreción cervical

El moco cervical es un gel viscoelástico complejo secretado por el epitelio cervical donde actúa como un medio para la lubricación y mantiene una barrera de la mucosa cervical contra los patógenos ascendentes desde la vagina al mismo tiempo que permite la migración de los espermatozoides antes de la ovulación (Katz et al., 1980). El moco cervical se compone principalmente de agua (95% en peso) y mucinas formadoras de gel, que son glicoproteínas grandes que representan > 80% de la fracción orgánica del moco y están codificadas por genes de mucina (Thornton et al., 2008). En el cuello uterino bovino, dos mucinas formadoras de gel (MUC5AC y MUC5B) y cuatro mucinas unidas a la membrana (MUC1, MUC16, MUC20, y MUC4) han sido identificadas (Pluta et al., 2012) mientras que otras dos mucinas formadoras de gel (MUC2 y MUC6) se ha informado que se expresa en el cuello uterino humano. Varios estudios han investigado cómo cambia la expresión del gen de la mucina a lo largo del ciclo estral, mostrando un pico alrededor del momento de la ovulación (Andersch et al., 2007). Las proteínas del núcleo de la mucina se modifican por la acción de las glicosiltransferasas, que agregan residuos de azúcar a los grupos hidroxilo de la treonina y la serina. La mayoría de O-glicanos tienen adiciones terminales que llevan fucosa (Fuc) y ácido siálico (ácido N-acetilneuramínico siálico (Neu5Ac) y ácido N-glicolilneuramínico siálico (Neu5Gc)).

Los terminales de ácido siálico ayudan a proteger el cuello uterino de las glucosidasas y proteasas bacterianas (Nasirud et al., 2007). Además, la reología e hidratación del moco parece estar relacionada con la presencia de grupos terminales cargados negativamente como los ácidos siálicos en O-glicanos. (Andersch et al. 2007), informaron que el moco cervical alrededor del momento



de la ovulación contiene mucinas más neutras y menos ácidas, lo que da como resultado un moco más hidratado y menos viscoso, lo que facilita la penetración de los espermatozoides alrededor del momento de la ovulación. El ácido siálico también facilita la tolerancia por parte de las moléculas de reconocimiento de patrones innatas femeninas, enmascarando las moléculas de esperma antigénicas potenciales. Además de enmascarar los receptores, se ha demostrado que las mucinas cervicales sialiladas bovinas tienen una capacidad antiinflamatoria para modular las trampas extracelulares de neutrófilos (NET), que son liberadas por los neutrófilos para combatir los patógenos invasores, aunque las NET también pueden dañar las células endógenas (Bornhöfft et al., 2019).

Por otro lado, sabemos que el cuello uterino es un órgano diana de la acción de las hormonas esteroideas ováricas que controlan diversas funciones de este órgano. Desde los años 1970 y 1980 se ha informado sobre el efecto de los esteroides ováricos sobre la fisiología cervical. Las hormonas esteroideas ováricas mostraron tener efecto sobre la capacidad cervical de retener los espermatozoides luego de la IA, el flujo sanguíneo (Allison y Robinson 1972), la composición del mucus y la actividad mioeléctrica (García-Villar y col. 1982). Incluso, el cérvix mostró ser blanco de la acción de los fitoestrógenos, sufriendo alteraciones profundas e irreversibles en corderas cuando el consumo es prolongado (Allison y Robinson 1972).

Los E y la P4 ejercen sus acciones genómicas a través de sus proteínas receptoras específicas (RE y RP, respectivamente), localizadas en el núcleo de las células de los tejidos efectoras (Couse y col. 2006). La unión de E y P4 a su receptor resulta en la formación de un complejo hormona-receptor con actividad de factor de transcripción, capaz de modular la expresión de genes específicos de



la acción de E y P4 (Couse y col. 2006). La capacidad de respuesta de los tejidos efectores a una determinada hormona depende de la concentración de la hormona circulante, de la concentración tisular del receptor y de la afinidad de la hormona por su receptor (Clark y col. 1992). La regulación de la expresión de RE y RP la ejercen los propios E y P, estimulando o inhibiendo la expresión de los genes que los codifican (Couse y col. 2006). En general se ha demostrado que el complejo E-RE estimula la expresión de RE y RP, mientras el complejo P-RP inhibe la expresión de ambos receptores (Couse y col. 2006). Se han descrito dos tipos de RE, llamados α y β que están codificados en distintos genes y que tienen estructura molecular y función diferente (Couse y col. 2006). El RE α es predominante en útero y en cérvix de roedores y de oveja (Wang y col. 2000). El RE β fue reportado en útero de roedores (Wang y col. 2000) y oveja, pero no fue detectado en cérvix ovino. Se ha sugerido que, además de los efectos genómicos de E y P4, que requieren minutos, horas o incluso días, las hormonas esteroides ováricas pueden tener un efecto no genómico caracterizado por una duración de segundos y mediado por receptores de membrana. No se ha informado que E o P4 actúen a través de los receptores de la membrana cervical.

En conjunto, estos antecedentes sugieren que el RE y RP cervical estarán influenciados por mecanismos reguladores complejos que involucran E y P4 circulantes, así como otros factores hormonales y locales que dependen de diferentes tipos de células y regiones cervicales.

Las propiedades del moco cervicovaginal también cambian a lo largo del ciclo estral. Está bien descrito que, en la fase lútea, el moco cervical está menos hidratado y es más viscoso (Bigelow et al., 2004), lo que también va acompañado



de un aumento de la producción de proteínas lo que resulta en un moco más turbio que el de la fase folicular (Maddison et al., 2016).

2.1.13. Inseminación artificial laparoscópica

Las biotecnologías referidas a la producción de ovinos han evolucionado considerablemente debido al empleo de tecnologías de reproducción y mejoramiento genético, donde es posible encontrar IA por laparoscopia con semen congelado, la cual ha incrementado la productividad en los rebaños al aumentar el índice de concepción a 78.57% (Godfrey et al., 1998). Esta técnica consiste en que dentro del lumen del útero se realiza la aplicación de semen directamente y de esta manera evitamos la barrera natural del cérvix. La IA por laparoscopia es una técnica que emplea una cirugía menor para depositar directamente semen congelado dentro de la cavidad uterina (Dogan et al., 2004).

Esta tecnología ha dado resultados satisfactorios ya que permite mayor flexibilidad en el uso de sementales y el uso de semen congelado exclusivamente; de todas las tecnologías de mejora genética ovina existentes, la IAL es actualmente la opción más exitosa. La IAL con semen congelado puede programarse y es más eficaz que la IA pericervical, cervical y transcervical; también permite el uso de machos genéticamente superiores y facilita su propagación a gran escala. En la actualidad con la sincronización del estro, e IAL a tiempo fijo, se ha logrado elevar la eficiencia reproductiva y productiva de los rebaños ovinos (Azzarini et al., 1998).

Se les suprime el agua y alimento por 12 a 16 horas, antes de practicar la operación esta medida reduce el contenido de la vejiga y el rumen, lo que da por resultado una más fácil localización del útero y evita, asimismo, la regurgitación



del contenido ruminal durante la laparoscopia, se rasura y esteriliza la piel del área anterior de la ubre, se anestesia localmente en un espacio de 5 a 7 cm delante de la ubre y 3 a 4 cm de cada lado de esa línea (Bearden y Fuquay, 1982). A continuación, se anestesia localmente haciendo uso de clorhidrato de lidocaína al 2% administrada por vía parenteral subcutánea colocadas de 5 cm a 7 cm anteriores a la ubre y de 3 cm a 4 cm lateral a la línea alba; evitar lesionar los vasos sanguíneos al poner la anestesia. Hacer dos pequeñas incisiones con el trocar para la entrada del laparoscopio (Bearden y Fuquay, 1982).

La cavidad se llena de oxígeno o gas para facilitar la manipulación del útero que se halla delante de la vejiga. Luego se inserta una pipeta de inseminación (aguja hipodérmica) que se introduce a través de otro trocar y luego insertar en la luz de la pared uterina, liberando los espermatozoides. Por lo general, se inseminan ambos cuernos uterinos antes de retirar el dispositivo. El tiempo necesario para inseminar a cada hembra mediante esta técnica es de 1 a 2 minutos, dependiendo de la habilidad del operador. Si en este método se utiliza semen fresco, las tasas de fertilización pueden alcanzar más del 80% de concepción (Bearden & Fuquay, 1982).

2.2. ANTECEDENTES

2.2.1. Antecedentes regionales

Chuctaya (2022), comparó el laparoscopio y boroscopio para la inseminación por vía intrauterina en borregas Criollas con semen congelado, se usaron esponjas intravaginales con 60 mg de acetato de medroxiprogesterona para la sincronización de celo por 14 y 7 días, luego se retiró las esponjas y se administró eCG en dosis de 350 UI. La IA se realizó a las 56 horas después del



retiro de las esponjas. El porcentaje de preñez fueron de 55.00 % y 38.46 % tanto grupo de laparoscopia y boroscopia respectivamente. Los resultados dan a concluir que el tipo de equipo empleado no posee influencia sobre el porcentaje de preñez. Las tasas de natalidad fueron 72.73% y 60.00% estos resultados concluyen que el uso de laparoscopia y boroscopia no posee influencia sobre la tasa de natalidad.

Retamozo (2015), trabajó en el Centro de Investigación y Producción de Chuquibambilla con borregas de la raza Corriedale con el objetivo de determinar la tasa de preñez mediante la inseminación intrauterina vía laparoscopia con semen fresco, para lo cual realizó protocolo de sincronización del estro mediante la utilización de esponjas vaginales con 60mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 14 días, inmediatamente después de la remoción se aplicó gonadotropina coriónica equina (eCG) de acuerdo a los siguientes tratamientos T1= 300UI, T2= 400UI y T3= 500UI. Los resultados a continuación muestran 100%, 87,5% y 100% de celo respectivamente. De manera similar, después de 26 días, las tasas de embarazo por ecografía fueron del 25%, 57,1% y 62,5%, respectivamente, según el tratamiento. Se encontró que dosis más altas de gonadotropina coriónica equina (eCG) aumentan las tasas de preñez en ovejas Corriedale.

Mango (2015), realizó un trabajo de investigación en el CIP – Chuquibambilla – Puno. Para esto fueron empleados 60 ovinos de raza Corriedale en anestro estacional, el objetivo fue de comparar el efecto de diferentes dosis de eCG en un protocolo de sincronización de celo, para examinar la tasa de presentación de estro y porcentaje de fertilidad. Se usaron esponjas intravaginales con 60 mg de MAP, colocadas por 14 días, al retiro de las esponjas se agruparon



en tres al azar; administrándose eCG en dosis de 300 UI (G-300), 450 UI (G- 450), 600 UI (G-600), la inseminación fue intrauterina por laparoscopia con semen congelado, realizándose 12 h posterior al inicio del estro. A los 55 días se obtuvo una tasa de preñez del 42.11% en el G-300 siendo significativamente inferior a 55.55% del G-450 y 61.11% del G-600, ($P \leq 0.05$). Concluyéndose que al usar esponjas intravaginales por 14 días y una dosis intramuscular de 450 a 600 UI de eCG, genera una alta tasa de presentación de celo, buena tasa de preñez y mejor sincronización de celo en borregas Corriedale en época no reproductiva.

Manrique (2011), trabajó en el Centro Experimental Carolina, perteneciente a la Universidad Nacional del Altiplano, perteneciente al distrito de Puno, el objetivo tuvo como propósito evaluar protocolos cortos de 5 días y largos de 9 días en la sincronización de celo en borregas que fueron inseminadas con semen criopreservado, además se evaluó el diámetro del cuerno uterino y tasa de preñez. Se hizo uso de 40 ovejas de la raza Corriedale y Criollas las mismas que fueron sometidas a un protocolo de sincronización con esponjas intravaginales, se asignaron un grupo de 20 borregas al protocolo corto de 5 días y el otro grupo de 20 ovejas sometidas a un protocolo largo de 9 días; al momento de extraer las esponjas se aplicó 350 UI de eCG. En el trabajo de medir el diámetro uterino se hizo uso de un ecógrafo a las 36 horas después de extraer la esponja y a las 56 horas se procedió a inseminar vía cervical haciendo uso de semen congelado, finalmente se hizo el diagnóstico de preñes a través de la ecografía transrectal a los 35 días para confirmar la gestación. La tasa de preñez fue de 21.05% y 25%, para el protocolo de sincronización corto y largo de progesterona, respectivamente.



Pérez et al. (2010), evaluaron la fertilidad del semen congelado mediante la, inseminación vía laparoscópica en ovejas Corriedale, con sincronización de celo o celo natural en época reproductiva inseminaron vía laparoscópica con semen congelado 12 a 14 h post detección de celo y en época no reproductiva se sincronizaron con esponjas preparadas que contenían 50 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) por 14 días y se colocaron 333.3 UI. de eCG al momento de remover las esponjas, la inseminación en ambos grupos se realizó a tiempo fijo 52 a 56 h post remoción de la esponja, obteniéndose en época reproductiva 75.0% de ovejas gestantes que fueron sincronizadas, 66.6% ovejas gestantes con celo natural y 66.6% ovejas gestantes sincronizadas en época no reproductiva, es decir que, se puede usar el semen de carnero congelado a campo para inseminar vía intrauterina en ovejas sin reducir el porcentaje de gestación y parición en época reproductiva y época no reproductiva.

Cárdenas (2008), evaluó el efecto de la Gonadotrofina coriónica equina (eCG) y 2 momentos de inseminación artificial por laparoscopia con semen congelado, sobre la fertilidad de ovejas de raza Corriedale, en el CIP. Illpa ubicado a una altura de 3,815 en la región y provincia de Puno. Las borregas fueron divididas en 2 grupos de animales: T1 sin uso de hormonas y T2 inyectando 330 U.I. de eCG. Luego se comparó dos tiempos de inseminación artificial después del celo, uno menor a 06 horas y otro mayor a 06 horas. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba exacta de Fisher y Chi-cuadrado de Pearson. Las ovejas se sometieron a protocolo de sincronización junto con esponjas intravaginales (60 mg de acetato de medroxiprogesterona) y una administración de eCG al final del tratamiento progestacional. Luego se inseminaron a tiempo fijo una vez extraída las esponjas. Las tasas de preñez fueron del 42.9 sin tratamiento hormonal y 35.7%



con tratamiento hormonal ($P > 0,05$), por otro lado, el porcentaje de preñez cuando se insemina en tiempos menores de celo a 6 horas y mayores a 6 horas post celo fue de 47.1 y 27.8% respectivamente ($P \geq 0.05$). Según la prueba estadística no se detectaron diferencias significativas a favor de la eCG, observándose un mayor porcentaje de preñez cuando se insemina en tiempos menores de 6.00 horas post celo.

2.2.2. Antecedentes nacionales

Fernández (2019), evaluó la eficacia de dos fuentes de progesterona (CIDR y ESPONJA) y dos niveles de Gonadotropina Coriónica Equina “ECG” (200 UI a 300 UI) en la sincronización de estro e inseminación artificial en el distrito de Andahuaylillas, Quispicanchi, Cusco. Las borregas distribuidas en 4 tratamientos en estudio: en el T1: (n = 10 borregas) (d 0) inicio del tratamiento con CIDR, (d 14) se retiró el CIDR y se aplicó 200 UI de ECG. T2: (n = 10 borregas), (d 0) inicio del tratamiento con CIDR, (d 14) se retiró el CIDR y se aplicó 300 UI de ECG. T3: (n = 10 borregas), (d 0) inicio del tratamiento con esponja Intravaginal, (d 14) se retiró la esponja y se aplicó 200 UI de ECG. T4: (n = 10 borregas), (d 0) inicio del tratamiento con esponja Intravaginal, (d 14) se retiró la esponja y se aplicó 300 UI de ECG. Se realizó la inseminación artificial en los 4 tratamientos a las 54 a 56 horas de haber retirado el CIDR o la esponja (d 16), con semen de carnero de raza East Friesian. Los resultados de la tasa de preñez fueron: para CIDR 50%, ESPONJA 60%, para las dos dosis de eCG 55%, sin diferencias entre tratamientos.

Angulo y Angulo (2019) en Junín a 3819 msnm, realizaron la inseminación por laparoscopia con semen congelado, mediante dos formas:



congelamiento lento y congelamiento rápido, obteniendo 44% y 50% de tasa de preñez, respectivamente.

Alvarez (2017), trabajo en ovinos criollos y utilizó esponjas MAP y 150 UI, 250 UI ó 350 UI de eCG para sincronizar el celo de las borregas. La inseminación por laparoscopia se realizó 54 horas post aplicación de eCG con semen de carneros de la raza East Friesian. El porcentaje de preñez fue de 72.73%, 41.67% y 66.67%, respectivamente.

Depaz (2011), evaluó el efecto del tratamiento corto de progesterona en la fertilidad de ovinos Pelibuey inseminados vía laparoscopia con semen congelado. La sincronización del estro se realizó con esponjas intravaginales (60 mg de acetato de medroxiprogesterona, MAP) por 06 días (tratamiento corto), además de una aplicación de 300 UI de eCG (Folligon®) al retiro de las esponjas. Se utilizó semen congelado de carnero de East Friesian, La descongelación del semen se realizó en baño de agua a 38 °C, inmediatamente cargadas en aplicador de semen intrauterino. La IA se realizó a tiempo fijo (62-65 h post retiro de la esponja intravaginal), depositando media dosis a cada cuerno. La parición obtenida fue 70% para ovejas y 66,66% para borreguillas;

Santos (2022), realizo un trabajo cuyo objetivo fue conocer la tasa de fecundidad en ovejas Corriedale haciendo uso de la inseminación laparoscópica comparando semen fresco diluido y criopreservado, la investigación se realizó en el centro experimental Casaracra – UNDAC donde se emplearon 200 borregas y 04 carneros corriedale, las mismas que tenían un estado sanitario y nutricional optimo. Para esto se formaron dos grupos experimentales el primero T1: Borregas inseminadas por laparoscopia haciendo uso de semen fresco diluido y el segundo



T2: Borregas inseminadas por laparoscopia con semen criopreservado. La concentración del semen fresco diluido fue de 50×10^6 espermatozoides, el dilutor empleado fue en base a Tris más yema de huevo, además la muestra seminal fue analizada con el sistema computarizado “CASA”. El semen criopreservado mantuvo la misma concentración y mismo diluyente, pero a esto se adiciono glicerol como crioprotector intracelular. Los resultados mostraron diferencias: 90.5% de preñez para el tratamiento 1 y 66.6% de preñez para el tratamiento 2. Los análisis espermáticos fueron buenos tanto en motilidad y concentración momentos antes de la inseminación. A la prueba del chí cuadrado se observa diferencias estadísticas entre cada tratamiento y entre carneros empleados. Se concluye que la a inseminación artificial por laparoscopia en borregas sometidas a sincronización y usando semen fresco diluido, permite alcanzar tasas de preñez por encima del 90 % esto indica que es una buena técnica en el uso de programas empadre y mejora genética en ovinos.

2.2.3. Antecedentes internacionales

Guzmán (2022), realizó la inseminación por laparoscopia en ovejas Katahdin y Katahdin x Criolla, utilizando un protocolo de sincronización de celo con 60 mg de MAP y 400-500 UI de eCG, se utilizó semen congelado y la inseminación se realizó 58 – 66 horas post retiro del dispositivo, obteniendo 60% de preñez.

Sylla et al. (2021), sincronizaron el celo de borregas Soprawissanas con dispositivos vaginales de liberación de progestágenos (CronogestVR 40 mg de cronolona, después de 14 días, se retiraron los dispositivos y se administraron 500 UI de PMSG. Se comprobó el celo de las ovejas a las 48 h después de la retirada



del pesario, utilizando un carnero vasectomizado. Se consideró que las ovejas que se mantenían firmes para ser montadas estaban en celo; sin embargo, sólo las ovejas que mostraban una vulva hiperémica y edematosa fueron sometidas a un procedimiento de inseminación intrauterina laparotómica con semen congelado comercial de carnero Merino. La tasa de preñez fue 60% para borregas y 70% para borreguillas.

Rodriguez et al. (2015), realizaron la inseminación intrauterina por laparoscopia en ovejas mestizas West African con semen congelado de Dorper en pajuelas. La sincronización del estro se realizó mediante un dispositivo intravaginal impregnado con acetato de medroxiprogesterona (MAP). La IA se realiza por vía laparoscópica 48 a 56 horas (h) después de retirar el dispositivo, resultando en una tasa de preñez del 70,97%.

Kulaksiz y Daşkin (2012), trabajaron con cabras primíparas y multíparas de la raza Saanen y la sincronización de celo se realizó con esponjas intravaginales impregnadas con 20 mg de acetato de fluorogestona (FGA) y la administración IM de 125 mg de cloprostenol (PGF 2α) y eCG (400 UI), 48 h antes de la retirada de las esponjas y la inseminación artificial laparoscópica intrauterina con semen congelado, se realizó 55 h después de la retirada de las esponjas FGA. La tasa de preñez para las cabras multíparas fue del 53% y para las cabras primíparas del 66%, sin diferencias significativas

Muñoz (2011), trabajo con un total de 240 ovejas Corriedale que fueron sincronizadas con progesterona y asignadas al azar a 4 grupos, según el tiempo transcurrido entre la detección de celo y la IA con semen de carneros de la raza. Los primeros 3 grupos fueron inseminados luego de 3 y 6, 6 y 12; ó 12 y 18 h de



detectado el celo; el cuarto grupo recibió una sola inseminación 18 h después de detectado el celo. El semen fue extraído y congelado en una solución de leche descremada, glicerol y yema de huevo, descongelado y usado, evaluando la cantidad y naturaleza de la mucosa cervical. Treinta días después se determinó la preñez mediante ecografía. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los porcentajes de preñez, que fueron de 22; 31; 22; y 21%, para los grupos 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Tampoco fueron significativas las diferencias en fertilidad con una o dos inseminaciones.

Asaduzzaman et al. (2023), determinaron las tasas de preñez de ovejas nativas tras distintos métodos de inseminación artificial transcervical (IATC). La IATC se realizó en ovejas en celo inducido utilizando dos pajuelas de semen congelado y descongelado. En el grupo 1, la IATC se realizó una sola vez en celo en ovejas sujetas de forma tradicional/manual (n=20) y en ovejas sujetadas en el laboratorio (n=20). En el grupo 2, la TCAI se realizó en ovejas sujetas manualmente una sola vez después de 46-48 h de la inyección de PGF2a (n=20), y dos veces a las 46-48 h y 52-56 h después de la inyección de PGF2a (n=20). En el grupo 3, el TCAI se realizó en ovejas sujetadas manualmente una sola vez a las 52-56 h después de la inyección de PGF2a y 20 minutos después de la inyección de oxitocina (n=10), y 20 minutos después de la inyección de benzoato de oxitocina-estradiol (n=11). Las tasas de gestación fueron del 35 % y el 45 % en el TCAI tradicional y en el TCAI en el laboratorio, del 35% y el 55% en las IAC de un solo tiempo y de doble tiempo, y del 50% y el 55% en las IAC tratadas con oxitocina y oxitocina-estradiol, respectivamente. Aunque las tasas de preñez no difirieron significativamente ($p>0,05$) por grupo experimental, el TCAI después del tratamiento cervical y la TCAI de doble tiempo tuvieron más preñeces que los



otros enfoques de la TCAI. Por último, TCAI doble sería un método eficaz y aceptable para la reproducción artificial de ovejas de campo con semen congelado.

Fonseca et al. (2017), probó el uso de tres gonadotropinas diferentes para la inducción del estro en cabras lecheras durante la temporada no reproductiva. Todas las cabras recibieron una inyección de 30 µg de d-cloprostenol y esponjas intravaginales que contenían 60 mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP) durante 6 días más 20 UI de FSH porcina (pFSH), 200 UI de eCG o 250 UI de hCG 24 h antes de la retirada de la esponja. En el Experimento 1 (n = 24), se registraron los parámetros ecográficos ováricos y moco cervical durante 5 días después de la retirada de la esponja o hasta la ovulación. En el Experimento 2 (n = 80) se evaluó la eficiencia reproductiva de las hembras inseminadas artificialmente o apareadas naturalmente. El intervalo medio desde la retirada de la esponja hasta la ovulación ($73,5 \pm 23,7$ h), el número de ovulaciones ($1,6 \pm 0,7$) y el diámetro del folículo ovulatorio ($7,2 \pm 0,8$ mm) no variaron ($P > 0,05$) entre los tres grupos. En el momento de la ovulación, el moco cervical tenía cristalino-estriado a estriado (22,2%), estriado a estriado-caseoso (72,2%) y estriado-caseoso a caseoso (5,6%). El diámetro mayor del folículo fue mayor ($P < 0,05$) en los casos con aspecto cristalino ($6,7 \pm 1,4$ mm), cristalino estriado ($7,2 \pm 1,1$ mm) o estriado ($7,3 \pm 1,3$ mm) que en las de aspecto estriado-caseoso ($5,3 \pm 1,4$ mm) o caseoso ($4,5 \pm 1,1$ mm). Porcentaje de animales en celo (92,5%) y tasa de concepción (60,8%) fueron similares ($P > 0,05$) entre los tres grupos de gonadotropinas. Los resultados de este estudio apoyan el uso de eCG (200 UI), hCG (250 UI) y pFSH (20 UI) para los protocolos de inducción del estro. La evaluación del moco cervical puede utilizarse como método adicional para determinar el momento óptimo para la inseminación.



Bigelow et al. (2004), estimaron las probabilidades de concepción en función del momento del coito en relación con la ovulación y de una puntuación de 1 a 4 de la calidad del moco. Se observó una fuerte tendencia al aumento de las probabilidades de embarazo específicas de cada día con el aumento de la puntuación del moco. Al ajustar por la puntuación del moco, las probabilidades específicas del día tuvieron una variabilidad limitada a lo largo del intervalo fértil. Los cambios en la calidad del moco a lo largo del intervalo fértil predicen el patrón observado en las probabilidades de concepción específicas de cada día. Para maximizar la probabilidad de concepción, el coito debe producirse en días con una calidad óptima del moco, como se observa en el flujo vaginal, independientemente del momento exacto en relación con la ovulación.



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE ESTUDIO

La investigación se realizó durante los meses de agosto, setiembre y octubre del 2022 en el Fundo Ñactuiri, Distrito de Nuñoa, Provincia de Melgar y Región Puno. Se encuentra a una latitud Sur 14° 19' 15", Longitud Oeste 70° 43' 59", Altitud de 4361 msnm, presenta un clima Templado - Frío la mayor parte del año, con una temperatura promedio anual de 8.6 °C (máxima de 17.8 °C en abril y mínima de -16°C en Julio), una humedad relativa promedio anual de 59.58% y una precipitación pluvial promedio anual de 628 mm/año (SENAMHI, 2019).

3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

3.2.1. Recurso biológico

Se seleccionaron 36 borregas de raza Corriedale, con cronometria dentaria que comprende borregas diente de leche (10 a 12 meses) hasta boca llena con una condición corporal de 2.5 hasta 3.5 y a su vez fueron alimentadas en praderas naturales, éstas fueron asignadas en tres grupos según el tiempo de inseminación después de ser administrada la hormona eCG (52, 55 y 60 horas).

3.3. METODOLOGÍA

3.3.1. Selección de hembras

La población de estudio se conformó por 36 ovinos hembras de la Raza Corriedale del Fundo “Ñactuiri - Nuñoa”, las cuales fueron distribuidas completamente al azar en 3 grupos experimentales, según el tiempo de



inseminación a aplicarse 52, 55 y 60 horas post retiro de la esponja y cada grupo estuvo compuesto por 12 borregas para cada uno de los tratamientos, respectivamente.

Se incluyó a borregas que tenían entre 10 a 12 meses de edad, de 30 ± 2 Kg de peso vivo, cumpliendo con el 70% del peso aproximado que alcanzarán en la adultez (Edmonson et al., 2012). La condición corporal PCC fue 3 ± 0.5 , considerando la escala de 1 a 5, donde 1 es enflaquecida y 5 es gorda (Cevallos, 2012); lo que refleja el adecuado manejo nutricional proporcionado a las borregas.

Un mes antes de la inseminación las ovejas fueron desparasitadas y vitaminadas (fosforo, selenio, A, D, E y complejo “B”), a su vez se realizó descarte de preñez a través de la ecografía por ultrasonografía como también se las seleccionó verificando que no estuvieran lactantes (Gibbons y Cueto, 2011).

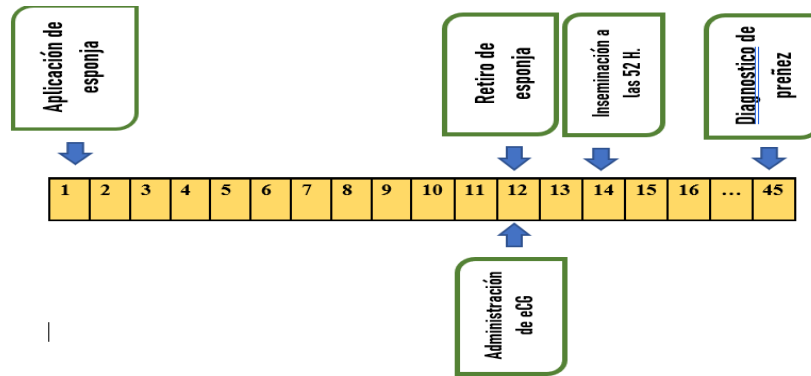
3.3.2. Protocolo de sincronización del estro en hembras ovinas

Se Colocaron esponjas intravaginales con 60mg de acetato de medroxiprogesterona (MAP), (PROGESPON®) el día 0, estas permanecieron por 12 días, al término de este tiempo fueron retiradas e inmediatamente se administró Gonadotrofina Coriónica Equina (eCG) NOVORMON® 5000 UI, a una dosis de 350 UI. (Fonseca et al., 2017).

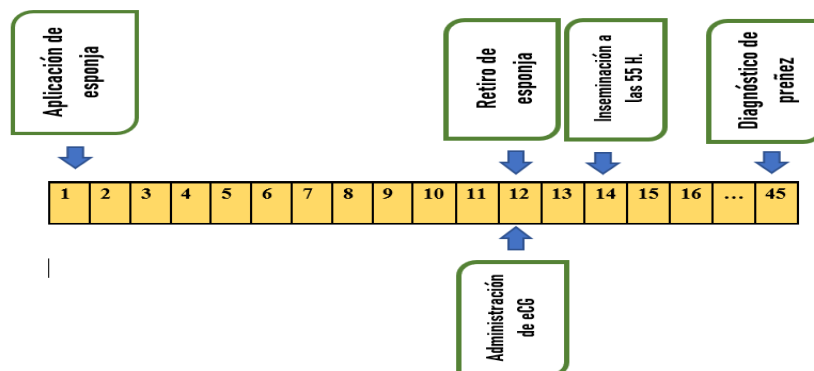
Figura 2

Protocolo de sincronización de celo en ovinos corriedale.

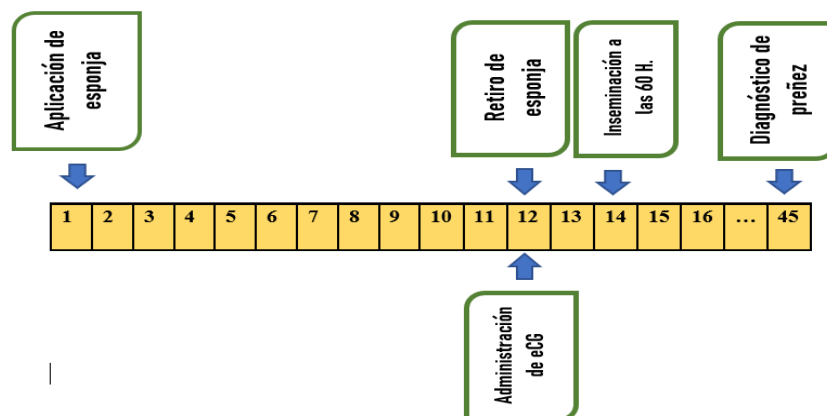
Tratamiento 1



Tratamiento 2



Tratamiento 3



El procedimiento para aplicar las esponjas intravaginales fueron las siguientes:

- a) Se lavó la vulva con agua tibia y jabón posteriormente se secó con papel toalla.
- b) El aplicador fue desinfectado con alcohol, luego cada esponja fue empapada con antibiótico (oxitetraciclina) para evitar futuras adherencias y posibles infecciones.
- c) Se introdujo la esponja intravaginal, para esto primero separamos los labios vulvares y luego se introdujo el aplicador a un ángulo de 45° , una vez que se introdujo la punta del aplicador se procedió a dejar la esponja dentro de la cavidad vaginal y finalmente se retiró el aplicador percatándonos que cuelgue el hilo de algodón de la esponja.

Figura 3

Introducción de esponjas intravaginales con 60mg de acetato de medroxiprogesterona.





3.4. OBTENCIÓN DEL SEMEN Y CRIOPRESERVACIÓN

3.4.1. Elaboración de dilutor

Para la criopreservación se preparó un volumen del diluyente Triladyl®, (MiniTu`b GmbH; Tiefenbach, Alemania), que consiste en agua bidestilada, glicerol, tris, ácido cítrico, fructosa, con antibióticos (espectinomicina, lincomicina, tilosina, gentamicina; tres volúmenes de agua ultrapura (DW; Aqua Purificata; Prolab, Gliwice, Polonia) y un volumen de yema de huevo de Gallus domesticus, es decir 1:3:1 (vol/vol/vol), respectivamente.

Tabla 1

Composición de dilutor para criopreservación de semen.

Dilutor para carnero de raza corriedale 50 ml	
Triladyl	10 ml
Yema de huevo	10 ml
Agua bidestilada	30 ml

Nota: Composición empleada por Lab. Biotecnología

IVITA Marangani (2022).

Los pasos para obtener el dilutor fueron los siguientes:

- Se midieron los reactivos en tubos falcon de acuerdo a lo que indica el cuadro. Para poder obtener la yema de huevo, se tuvo que separar la clara de la yema esto con la ayuda de papel toalla. A continuación, para poder obtener la yema se hizo uso de una jeringa estéril para poder succionar 10 ml de yema de huevo.



- b) Una vez obtenido la yema de huevo se procedió a verter en tubo falcon, seguidamente el dilutor Triladyl y por último el agua ultrapura; finalmente se procedió a homogeneizar y luego almacenar en un frigorífico a 5 °C.

3.4.2. Elaboración de dilutor

Se selecciono un carnero importado chileno perteneciente a Cabaña San Antonio de Padua-Cupi, donde se obtuvo dos eyaculados por medio de vagina artificial.

La colección de semen de realizo siguiendo la técnica descrita por (Gibbons y Cueto, 2016), donde:

a) La vagina se cargó con 40-60 ml de agua caliente a 50 °C o más, según las pérdidas de calor que se produzcan hasta el momento de su utilización, siendo importante que la temperatura interior de la misma al momento de la eyaculación sea de aproximadamente 40 °C.

b) El armado final de la vagina artificial se logró agregando aire a la cámara de agua para estrechar la luz vaginal a aproximadamente 1 cm de diámetro.

c) Asegurada la oveja en el brete de sujeción, el operador se ubicó del lado derecho del macho de modo que su mano diestra sujeto la vagina con el extremo abierto frente al prepucio, en un ángulo de 45° con respecto al piso, debiendo estar preparado para una monta y eyaculación veloz. Cuando el macho monto, el operador desvió el pene lateralmente para enfrentarlo a la vagina artificial. Un "golpe" del animal hacia arriba y hacia adelante indica que la eyaculación ha ocurrido.



d) Inmediatamente después del salto, el tubo de recolección se protegió con la mano de los cambios bruscos de temperatura y se colocó en un baño maría a 36 °C.

e) Es importante evitar la contaminación del semen recolectado, con polvo u otra suciedad. Por lo tanto, la recolección del semen se realizó en un lugar limpio y libre de polvo. Al mismo tiempo se consideró la limpieza previa a la recolección de semen, donde se limpió el área prepucial y el prepucio externamente con un paño húmedo (no mojado).

Finalmente, para que el eyaculado sea utilizado, se consideró que tenga ≥ 1.0 ml de volumen, concentración $\geq 3 \times 10^6$ espermatozoides/ml, ≥ 90 % de motilidad progresiva individual y < 10 % de anomalías totales (García, 2018).

3.4.3. Dilución del semen

a) Se colocó el diluyente preparado en baño maría a 36°C para mezclar con la muestra de semen primero en una predilución 1 vol:1 vol.

b) Se completo la dilución hasta alcanzar 100×10^6 , según la siguiente fórmula:

$$P = \frac{V.S.* M * V}{C}$$

$$P = \frac{2 * 3\,000 * 0.9 * 0.9}{80}$$

$$P = 60.75 = 60 \text{ Pajuelas}$$



Donde:

P = Número de pajuelas

V.S. = Volumen de semen

M = Motilidad (90%)

V = Vitalidad (90%)

C = Concentración

c) Luego se procedió a calcular la cantidad de dilutor a usar para 60 pajuelas de 0.25 ml a una concentración de 80 mil espermatozoides/pajuela.

$$60 * 0.25 = 15 \text{ ml}$$

Volumen total de semen = 2 ml

Volumen total de dilutor = 13 ml

d) Seguidamente se mezcló el dilutor con el semen haciendo uso de tubos falcón de 20 ml.

3.4.4. Evaluación Pre congelación

En la evaluación seminal se consideró, la motilidad total, motilidad progresiva, vitalidad y HOST.



Tabla 2

Características seminales del semen antes de la criopreservación.

Característica	Motilidad Total	Motilidad progresiva	Vitalidad	HOST
Carnero Corriedale	93.56%	91.15%	90.36%	85.21%

3.4.5. Motilidad masal

Se colocó 10 ul. De cada muestra de semen en una lámina portaobjetos precalentada a 37°C y se utilizó un microscopio óptico con un aumento de 100X, para la observación del semen en “gota gruesa”. Se observó la motilidad masal y se categorizó de manera subjetiva usando la siguiente escala:

- 0- Ausencia de espermatozoides motiles
- 1- Algunos espermatozoides se mueven en su sitio
- 2- Presencia de espermatozoides motiles, pero insuficiente cantidad para formar ondas.
- 3- Presencia de ondas o remolinos muy lentos.
- 4- La ondas o remolinos se forman rápidamente.
- 5- Velocidad de formación de ondas extremadamente alta (Aguilar, 2009)



La evaluación de la motilidad total de la muestra de semen diluida se realizó en el sistema CASA AndroVision. Siendo los valores los siguientes: motilidad masal 4.

3.4.6. Evaluación de Vitalidad

El semen se sometio a la tinción vital de eosina/nigrosina. Una gota de 5 ul. de semen se mezcló con 20 ul. de solución de eosina y 40 ul. de solución de nigrosina, esto sobre un portaobjetos precalentado a 37°C, luego de 30 segundos se efectuó un frotis y consiguientemente se secó al aire ambiental, posteriormente fue sometido a observación con un aumento de 400X. Para cada frotis se contabilizaron 200 espermatozoides como mínimo en campos tomados al azar. Los espermatozoides penetrados por la eosina mostraron color rosa, estos son considerados como espermatozoides muertos. Se estableció la relación entre el número de espermatozoides vivos y el número de muertos llevándolos al porcentaje.

La evaluación de vitalidad se realizó mediante la tinción eosina-nigrosina. Obteniéndose los siguientes porcentajes:

$$\frac{97 + \text{espermatozoides vivos}}{\frac{52}{149} \text{ espermatozoides muertos}} \quad \text{Viabilidad} = \frac{97 \times 100}{149}$$

$$149 \quad \text{total} \quad \text{Viabilidad} = 65.10 \% = 65\%$$

3.4.7 Evaluación Host

La evaluación de la integridad funcional de membrana se realizó mediante la prueba hiposmótica (Host). De acuerdo al siguiente procedimiento:



a) 20 microlitros de semen + 180 microlitros de solución host de solución hiposmótica de 140 milihosmoles por el tiempo de 30 minutos. Obteniéndose los siguientes porcentajes:

72 membrana Intacta Integridad Membrana = $72 \times 100 = 63.15 \% = 63\%$

42 membrana Rota 114

114 total

3.4.8 Proceso de congelación de semen

Para el proceso de congelación del semen se siguió la técnica descrita por (Vozaf et al., 2021).

- a) Una vez realizada la evaluación de las características seminales microscópica, se dejó enfriar el semen diluido en una refrigeradora hasta alcanzar una temperatura de 5 °C.
- b) La muestra refrigerada se mantuvo a 5°C durante 2 horas (fase de equilibrio), posteriormente se procedió al rotulado de las pajillas.
- c) El semen diluido fue aspirado en pajillas de 0.25 ml y se sellaron con alcohol polivinílico en polvo.
- d) Las pajillas con semen se transfirieron a la rejilla flotante de la caja de polietileno de congelación (Minitube, Alemania), las pajillas fueron suspendidas horizontalmente sobre nitrógeno líquido a 5 cm por encima del nivel del nitrógeno líquido durante 10 minutos (-125 a -130°C) y se sumergieron en el nitrógeno líquido (-196°C).

3.4.9 Evaluación Post descongelamiento

Esto se efectuó de la siguiente manera:



Se extrajeron 3 pajillas del termo de conservación para luego ser descongeladas en baño maría a una temperatura de 37° C durante 30 segundos (Gibbons & Cueto, 2008).

Motilidad total y Progresiva se evaluaron las pajillas, esto haciendo uso del Sistema AndroVision CASA.

Vitalidad: Se realizo de manera similar al procedimiento descrito en la precongelaion.

HOST: Se realizo de manera similar al procedimiento descrito en la precongelaion y a continuación se observa los resultados de motilidad total, motilidad progresiva, vitalidad y HOST.

Tabla 3

Características seminales del semen a la descongelación.

Característica	Motilidad Total	Motilidad progresiva	Vitalidad	HOST
Carnero	70.56%	67.34%	65.10%	63.15%
Corriedale				

3.4.10 Inseminación artificial por laparoscopia

Se inseminaron 36 ovejas independientemente de si hayan presentado celo o no, esta inseminación se realizó a las 52, 55 y 60 horas posteriores a la remoción de la esponja intravaginal con progestágeno.



- a) Las ovejas a inseminar fueron aisladas y sometidas a ayuno de forraje y agua 18 horas antes de la inseminación, para facilitar la localización de órganos del aparato reproductor y evitar dañar el rumen.
- b) Se realizó la tricotomía del lugar donde ingresaron los trocares, esto ubicado entre dos a tres centímetros por debajo de la ubre, para lo cual se usó una máquina de esquila para facilitar el proceso.
- c) Se administró, el tranquilizante en base a clorhidrato de xilazina; esto por vía intramuscular a dosis de 0.2 ml, esto con el objetivo de tener un mejor manejo a la hora de realizar la IAL.
- d) Luego cada borrega se colocó en la camilla donde los miembros posteriores fueron sujetados por la parte superior de la camilla donde la oveja quedo en un plano inclinado de unos 40 a 45° (posición de Trendelenburg), además se utilizó una bomba de CO₂ para producir el neumoperitoneo y de esta forma conseguir que las vísceras abdominales se sitúen en la cara peritoneal del diafragma facilitando de esta manera la visualización y manejo del aparato genital y su vez evitar daños al rumen al momento de introducir los trocares.
- e) Se procedió a introducir los trocares haciendo uso de una hoja de bisturí con la que se hizo una pequeña incisión para facilitar la introducción de los trocares; esto a 3 a 5 cm de la parte anterior de la ubre.
- f) Se descongeló el semen criopreservado haciendo uso de baño maría a una temperatura de 37°C por el periodo de 30 segundos, seguidamente se secó y se introdujeron en el aplicador, manteniéndolos a 37°C.



- g) Seguidamente el lente de laparoscopia se introdujo por medio del trocar izquierdo, esto con el fin de ubicar los cuernos uterinos y por medio del trocar derecho se introdujo el aplicador juntamente con el semen cargado. Una vez ubicado los cuernos uterinos se procedió a inyectar la mitad de dosis de semen en cada cuerno uterino, la inyección se realizó en el tercio medio de los cuernos uterinos lo más cranealmente posible.
- h) Después de ser depositado el semen se procedió a retirar los trocates y aplicar la curabichera en la zona invasiva donde ingresaron los trocates.

3.4.11 Determinación del tipo de secreción cervical

- a) Las borregas a evaluar fueron sujetadas de los miembros posteriores elevándolas y exponiendo la región de la vulva.
- b) Luego se realizó la higienización de la vulva para luego introducir el vaginoscopio previamente lubricado, por último, se procedió a ubicar la apertura cervical y anotar los resultados.

Para denotar el de tipo de celo y/o secreción se utilizó el cuadro Nro. 4 propuesto por Muñoz (2011).

Tabla 4

Clasificación de la mucosa vaginal y características físicas del mucus (Muñoz, 2011).

Tipo de celo	COLOR	SECRECION
Tipo de celo 1	Muy enrojecida	Fluido cristalino, claro y brillante.
Tipo de celo 2	Enrojecida	Fluido estriado, claro y lechoso.
Tipo de celo 3	Poco enrojecida a pálida	Fluido caseoso, lechoso y espeso.

- Tipo de celo 1: mucosa vaginal muy enrojecida con abundante mucus fluido, claro y brillante.
- Tipo de celo: mucosa vaginal enrojecida, fluido menos abundante, claro a lechoso.
- Tipo de celo 3: mucosa vaginal poco enrojecida, fluido poco abundante, lechoso y espeso.

3.4.12 Diagnóstico de gestación

Uno de los principales objetivos de este trabajo es obtener una cifra de cuantas borregas preñaron respecto a cada tratamiento que recibieron. Para esto se empleó el método de detección de preñez con ayuda de un ecógrafo “BMV ultrasonografía” con transductor convexo, esto a los 45 días después de la inseminación artificial, el método fue empleado por su alta confiabilidad.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. TASA DE PREÑEZ SEGÚN EL TIEMPO DE INSEMINACIÓN INTRAUTERINA POST RETIRO DE DISPOSITIVO VAGINAL EN BORREGAS CORRIEDALE

Tabla 5

Tasa de preñez según el tiempo de inseminación intrauterina a las 52, 55 y 60 horas post retiro de dispositivo vaginal en borregas Corriedale.

Tratamiento	Tiempo post retiro de dispositivo.	Preñadas	No Preñadas	Total
1	52 h	5	7	12
		41.67	58.33	
2	55 h	6	6	12
		50	50	
3	60 h	7	5	12
		58.33	41.67	
	Total	18	18	36

Fuente: Elaborada por el autor

En la Tabla 5, se observan los resultados que muestran el porcentaje de preñez a las 52, 55 y 60 horas post retiro de la esponja e inseminación intrauterina por laparoscopia. Estos resultados nos indican que, no existen diferencias significativas entre la tasa de preñez y los tiempos de inseminación post retiro de la esponja ($p > 0.05$).

Nuestros resultados de las 52 a 55 horas, son ligeramente inferiores al reporte de otros autores que trabajaron bajo similares condiciones ambientales. Así, Chuctaya (2022), quién realizó la inseminación artificial por laparoscopia en borregas criollas a las



56 horas post retiro de las esponjas y obtuvo una tasa de fertilidad del 55%. También, Retamoso (2015), realizó un trabajo de inseminación por laparoscopia en ovinos Corriedale haciendo uso de semen fresco, donde obtuvo un porcentaje de preñez del 57.1%. Estas diferencias se atribuirían a la raza, debido a que los ovinos criollos son más prolíficos (Bravo, 1986) o al tipo de semen empleado ya que el semen criopreservado tiene menos viabilidad que el semen fresco. En adición, resultados mayores en la tasa de preñez fueron obtenidos por Pérez et al. (2010), quienes realizaron la inseminación vía laparoscópica con semen congelado en ovejas Corriedale en época no reproductiva 52 a 56 h post remoción de la esponja, obteniendo 66.6% de ovejas gestantes. Resultados que son mayores a comparación de nuestro trabajo que puede deberse al factor altitud, ya que nosotros trabajamos la técnica de inseminación artificial intrauterina por laparoscopia a más de 4300 metros sobre el nivel del mar, esto debido a la hipoxia hipobárica de altura, la cual tiene efectos significativos en varias características del proceso de reproducción ovino, donde la formación de ROS y el estrés oxidativo cumplen un rol fundamental (Parraguez et al., 2011). También, Martínez et al. (2006), trabajó en ovinos cruzados Damara por Merino e inseminaron por laparoscopia entre las 42 y 46 horas obteniendo un porcentaje de preñez del 46,6 %, esta diferencia puede estar atribuidas a las diferencias genéticas de las razas (Damara por Merino y Corriedale). Por lo tanto, la fertilidad en ovejas inseminadas artificialmente depende de muchos factores, tales como la técnica de inseminación, raza, edad, intervalo parto-inseminación, establecimiento, estación, año, efecto macho, y estado nutricional, entre otros (Anel et al., 2005).

Nuestros resultados son superiores al reporte de Mango (2015), realizó un trabajo de inseminación por laparoscopia en borregas Corriedale con mayores dosis de eCG al momento de retiro de esponjas, en comparación a nuestro trabajo, obteniendo una tasa de preñez del 42.11%. Además, Manrique (2011), trabajo con borregas Corriedale y Criollas



en la inseminación laparoscópica con protocolos cortos (5 días) y largos (9 días), inseminando a las 56 horas vía cervical con semen criopreservado obteniendo una tasa de preñez del 21.05% y 25%, respectivamente. Esta diferencia sería por la vía de inseminación realizada en este estudio.

En cuanto a los resultados de tasa de preñez a las 60 horas, nuestros resultados son inferiores a lo indicado por Depaz (2011), quienes utilizaron un tratamiento corto de progesterona en ovinos Pelibuey inseminados vía laparoscopia con semen congelado, donde la IAL se realizó a tiempo fijo (62-65 h post retiro de la esponja intravaginal), obteniendo una tasa de preñez del 70% para ovejas y 66,66% para borreguillas, esta diferencia se debería a que la raza Pelibuey es más prolífica (Boretto et al., 2002). También, Mellisho (2006), utilizó ovinos Black Belly, después de un protocolo de sincronización realizó la inseminación artificial por laparoscopia a tiempo fijo (62-65 h del retiro de la esponja intravaginal) usando un pellet de semen congelado, reportando un porcentaje de preñez del 68.4 %, esta diferencia se puede atribuir al efecto raza, ya que la oveja Black Belly tiene una mayor tasa ovulatoria que otras razas ovinas.

Contrariamente a nuestros resultados, Martemucci & D'Alessandro (2011), investigaron en ovinos Altamurana, y al comparar los resultados de preñez post inseminación por laparoscopia a las 52 y a las 60 horas post retiro de la esponja, obtuvieron porcentajes de preñez del 20 y 60 % respectivamente, con mejor resultado a las 60 horas. En adición Gibons y Cueto (2008) indican que la inseminación intrauterina se debe realizar próxima a la ovulación ósea entre 58 a 66 horas post tratamiento.

Sin embargo, debemos indicar que, cada rebaño o animal posee características propias tales como la raza o cruce, la edad, la genética, el estado nutricional, época del año, el medio ambiente, la respuesta hormonal intrínseca, la condición física y social que

intervienen en los resultados de fertilidad influyendo así también el procedimiento de congelación seminal y la metodología utilizada por cada autor (Boretto et al., 2002; Anel et al., 2005). Por lo tanto, existen variabilidad en los resultados de preñez.

4.2. TASA DE PREÑEZ SEGÚN EL TIPO DE SECRECIÓN CERVICAL EN LA SINCRONIZACIÓN DE CELO EN BORREGAS CORRIEDALE INSEMINADAS POR LAPAROSCOPIA

Tabla 6

Tasa de preñez según el tipo de secreción cervical en la sincronización de celo en borregas Corriedale inseminadas por laparoscopia.

Tipo de secreción	Preñadas	No Preñadas	Total
TIPO1	4	13	17
	23.53	76.47	
TIPO2	11	5	19
	68.75	31.25	
Total	15	18	33

Fuente: Elaborada por el autor

En la tabla 6, podemos visualizar los resultados que muestran la tasa de preñez según el tipo de secreción cervical donde se obtuvo una tasa preñez del 23.53% y 68.75% para la secreción cervical tipo 1 y tipo 2 respectivamente, hallándose diferencias altamente significativas ($p < 0.01$). Además, se observa que la secreción cervical tipo 2 muestra el mayor porcentaje de preñez (68.75%) frente a la secreción cervical tipo 1 (23.53%).



Resultados similares fueron obtenidos por Fonseca (2017), cuando se clasificó el moco cervical en cabras como cristalino a estriado con folículos antrales más grandes en comparación con los animales con moco cervical estriado/caseoso y caseoso. Esto puede indicar que la mayoría de las ovulaciones ocurren durante la secreción de moco estriado/caseoso, ya que la reducción en el diámetro de los folículos preovulatorios generalmente ocurre justo antes de la ruptura del folículo (es decir, la ovulación) en pequeños rumiantes. También, Bigelow et al. (2004), estimaron las probabilidades de concepción en relación con la ovulación y de una puntuación de 1 a 4 de la calidad del moco. Se observó una fuerte tendencia al aumento de las probabilidades de embarazo específicas de cada día con el aumento de la puntuación del moco. Esto concuerda con (Gibbons y Cueto, 2017), donde menciona que la inseminación cervical sistemática se realiza alrededor de 12 horas antes de la ovulación, o sea entre las 48 y 54 horas post tratamiento hormonal; mientras que la inseminación intrauterina, se realiza próxima al momento de la ovulación, o sea entre las 58 y 66 horas post tratamiento.

En adición, Gourley y Riese (1990), mencionan que la mayoría de las ovejas están en celo dentro de las 24 a 48 horas y la ovulación se produce entre 60 y 70 horas después de la retirada de los progestágenos. Por lo tanto, los tiempos recomendados para la IA laparoscópica son de 52 a 60 horas después de la retirada del progestágeno para el semen fresco y 55 a 60 horas después de la extracción cuando se utiliza semen congelado. Las borreguillas se deben ser inseminar primero, porque tienden a ovular antes que las ovejas de más edad, y las ovejas en lactación deben ser inseminadas al final, porque su ovulación se retrasa más. Las razas de lana fina pueden inseminarse más tarde, entre las 56 y las 64 horas, porque también suelen ovular más tarde.

Por otro lado, los resultados obtenidos en el tipo de celo y/o secreción 1 mostraron características propias como el enrojecimiento, edematización vulvar y descarga de flujo



vaginal claro y translucido, las mencionadas manifestaciones de celo se deben primordialmente a la alta concentración de estrógenos (E2) contenidos en el líquido del folículo preovulatorio produciendo una retroalimentación positiva de diferentes hormonas reproductivas como los estrógenos, las activinas y las inhibinas principalmente (Rodríguez, 2016).

Los resultados obtenidos en la presentación de tipo de celo y/o secreción 2, probablemente se debe a un pico medio de producción de estrógenos debido al estado nutricional, al momento de la inseminación. La secreción de LH luego de iniciado el estro se incrementa hasta alcanzar un pico entre 12 horas en ovinos desencadenando el pico preovulatorio de la secreción de LH (Arroyo, 2011).



V. CONCLUSIONES

PRIMERA: A las 60 horas se observó un mayor porcentaje de preñez con 58.33%.

Aunque el análisis estadístico no muestra diferencias significativas para la tasa de preñez en la inseminación artificial por laparoscopia a las 52, 55 y 60 horas post retiro de la esponja.

SEGUNDA: La secreción cervical tipo dos, muestra mejor tasa de preñez 68.75% en contraste a la secreción cervical tipo uno 23.53% hallándose diferencias significativas.



VI. RECOMENDACIONES

- PRIMERA:** En función a los resultados; cuando se haga uso de semen criopreservado en la inseminación laparoscópica recomendamos inseminar a las 60 horas debido a que se obtienen mejores tasas de preñez en borregas Corriedale.
- SEGUNDA:** De acuerdo a nuestros resultados es razonable sugerir que el momento más adecuado para la IAL con semen criopreservado es cuando las ovejas presentan el tipo de secreción 2 fluido estriado, claro y lechoso. Que demostraron tener altas tasas de preñez en borregas Corriedale.
- TERCERA:** Realizar evaluaciones laboratoriales en la presentación de celos tipo 1, 2 y 3 incluyendo la concentración de estrógenos, LH, etc., que en consecuencia constituyan un método estandarizado de la relación celo con las tasas de fertilidad.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alencastre, R. (1997). Producción de Ovinos. Puno: Editorial Universitaria UNAP.
- Alvarez, M. (2019). Current challenges in sheep artificial insemination: A particular insight. *Reproducción en animales domésticos*, 54. 35 - 44. Recuperado el 20 de Setiembre de 2020, de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/rda.13523>.
- Álvarez, U. E. (2017). Evaluación De La Fertilidad En Inseminación Artificial Por Laparoscopia Bajo Tres Niveles De Gonadotropina Coriónica Equina En Ovinos Criollos. Cusco, cusco, Peru.
- Anel, L., Kaabi, M., Abroug, B., Álvarez, M., Anel, E., Boixo, J., De la Fuente, L, De Paz, P. (2005). Factor que influye en el éxito de la cirugía vaginal y Inseminación artificial laparoscópica en ovejas Churra: un ensayo de campo. *Teriogenología* 63, 1235–1247.
- Angulo Dominguez, A. R., & Angulo Dominguez, E. F. (2019). Estudio comparativo de dos sistemas de congelamiento de semen y su efecto sobre la fertilidad en ovinos, Centro Experimental Casaracra.
- Arroyo, J. (2011). Reproductive sea sonality of sheep in México. *Tropical and subtropical Agroecosystems*. 14: 829-845.
- Asaduzzaman, M., Jha, P. K., Saha, A., Alam, M. G. S., & Bari, F. Y. (2023). Different approaches of trans-cervical artificial insemination in oestrus synchronized indigenous field ewes using frozen ram semen. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 45(2).
- Baker TG. (1982). Oogénesis y ovulación. En: C. R. Austin y R. V. Short Procesos de reproducción en los mamíferos. Células germinales y fertilización. Ed. Científicas, La prensa medica mexicana, S.A., Capítulo II, 15-48.
- Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Rawlings NC. (1998). Ovarian follicular dynamics during anoestrus in ewes. *J Reprod. Fertil.* 113 (2): 275-285. DOI: 10.1530/JRF.0.1130275.



- Bartlewski PM, Beard AP, Cook SJ, Chandolia RK, Honaramooz A, Rawlings NC. (1999). Ovarian antral follicular dynamics and their relationships with endocrine variables throughout the oestrus cycle in breeds of sheep differing in prolificacy. *J Reprod Fertil.* 115 (1): 111-124.
- Becaluba (2007). Métodos de sincronización de celos en ovinos y bovinos. México: UNAM.
- Bettencourt, E.M., C.M. Bettencourt, J. Chagas e Silva, P. Ferreira, C.I. Manito, C.M. Matos, R.J. Romao and A. Rocha. 2008. Effect of season and gonadotrophin preparation on superovulatory response and embryo quality in Portuguese Black Merinos. *Small Rumin. Res.* 74, 134-139.
- Bigelow, J. L., Dunson, D. B., Stanford, J. B., Ecochard, R., Gnoth, C., & Colombo, B. (2004). Mucus observations in the fertile window: a better predictor of conception than timing of intercourse. *Human Reproduction*, 19(4), 889-892.
- Blaschi, W. (2014). Effects of progestagen exposure duration on estrus synchronization and conception rates of crossbreed ewes undergoing fixed time artificial insemination. *Journal of Veterinary Science.* 433 - 437.
- Bravo Matheus, P. W. (1986). Factors Affecting Puberty, Estrus and Ovulation in Corriedale and Criollo Sheep of the Southern Peruvian Highlands.
- Boretto, J., Gibbons, A., Bunge, M., Cueto, M., y Bidinost, F. (2002). Calidad seminal post-descongelamiento en relación con la eficiencia reproductiva de la inseminación artificial laparoscopia en ovinos. *Revista de medicina veterinaria.* 83 (4): 185-188
- Buckrell, B., Halbert, G., W., y Garley, C. (1991). Artificial insemination of small ruminant. In: *Theriogenology handbook.* 4Th Ed. Sydney. Pp. 10-91.
- Buratovich, O. (2010). Eficiencia reproductiva en ovinos: Factores no nutricionales. In *Sitio Argentino de Producción Animal.*, (p. 1-4).
- Cahill LP, Mauléon P. 1980. Influences of season, cycle and breed on follicular growth rates in sheep. *J Reprod Fertil.* 58 (2): 321-328.



- Canqui, J., Mollo, J., y Pérez, M. (2011). Sincronización de celo con prostaglandina y esponjas vaginales en vientres criollas y corriedale en dos épocas. *Revista Científica de Investigaciones en Ovinos*.
- Cárdenas Minaya, O. E., Gonzáles Castillo, M. L., Alencastre, R., & Huanca Mamani, T. (2008). Efecto de la Gonadotropina coriónica equina (eCG) y momento de inseminación artificial intrauterina con semen congelado sobre la fertilidad de ovejas Corriedale con semen de Dohne merino en el altiplano.
- Cevallos, P. (2012). Implementación de las técnicas de inseminación artificial laparoscópica y transcervical con semen fresco y congelado en ovinos de la hacienda “Agrícola Pura Vida” ubicada en la provincia de Santa Elena. Informe del proyecto de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de ingeniero agropecuario. IASA1. Sangolquí-Ecuador.
- Córdova-izquierdo, A. (2008). Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y cabras. *Sitio argentino de Producción Animal*, (p. 68-78).
- Cueto, M., García, J., Gibbons, A., Wolff, M. y Arriaga, J. (1993). animal.com.ar/produccion_ovina/inseminacion_ovinos/07manual_ia.pdf.
- Díaz, R. (2007). Sectores ovinos en el Perú con perspectivas al 2015 Vº Congreso de Especialistas en Pequeños. Rumiantes y Camélidos Sudamericanos, Mendoza, Argentina. Ministerio de Agricultura del Perú.
- Delgado, M. M., Ilian, D. S., Lopez, G. M., Moreno, M. A., & Bautista, I. (2016). Endocrinología en el Ganado Ovino de Leche. *Producción Animal I*. Castilla, España: Universidad de Castilla-La Mancha.
- Donovan, A., Hanrahan, J., Kummen, E., Duffy, P., & Boland, M. (2004). Fertilidad en la oveja después de la inseminación cervical con semen fresco o congelado-descongelado en estro natural o sincronizado. *Animación reprod. ciencia* 84, 359–368.
- Eckery DC, Moeller L, Nett TM, Sawyer HR. 1997. Localization and quantification of binding sites for follicle-stimulating hormone, luteinizing hormone, growth hormone, and insulin-like growth factor I in sheep ovarian follicles. *Biol Reprod.* 57 (3): 507-513



- Edmonson, M., Roberts J., Baird, A., Bychawski, S. & Pugh, D. (2012). *Theriogenology of sheep and goat*. 2ª edición. P. 150-230.
- Fernandez Condori, W. (2019). Evaluación de dos fuentes de progesterona y dos niveles de gonadotropina coriónica equina en la sincronización del Estro y tasa de gestación en ovinos Assaf inseminados por laparoscopia.
- Fonseca, J., Souza-Fabjan, J., Oliveira, M., Cruz, R., Esteves, L., Matos de Paiva, M., Brandão, F., & Mancio, A. (2017). Evaluation of cervical mucus and reproductive efficiency of seasonally anovular dairy goats after short-term progestagen-based estrous induction protocols with different gonadotropins. *Reproductive Biology*, 17(4), 363-369.
- Gallegos, S., Arellano, L., Fraire, C., Cadena, V., & Hernández, M. (2015). Manejo reproductivo del rebaño. 7 congreso Internacional Del Borrego., (p.1-24).
- García, H. (2018). *Manual de prácticas de colecta y procesamiento de semen ovino Condición corporal*, Centro Universitario Querétaro, Qro.
- Gibbons, A. & Cueto, M. (2008). *Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino* (1 ed.). Bariloche: INTA
- Gibbons, A., & Cueto, M. (2017). *Manual de Inseminación Artificial en la Especie Ovina*. Grupo de reproducción del INTA Barilloche. Bariloche, Patagonia del Norte. Obtenido de INTA.
- Ginther OJ, Knopf L, Kastelic JP. (1989). Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J Reprod Fertil*. 87(1): 223-230.
- Ginther OJ, Kot K, Wiltbank MC. 1995. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrus cycle in ewes. *Theriogenology* 43 (3): 689-703. doi:10.1016/0093- 691X(94)00074-5.
- Grazul-Bilska, A.T., J.D. Kirsch, J.J. Bilski, K.C. Kraft, E.J. Windorski, J.S. Luther, K.A. Vonnahme, L.P. Reynolds and D.A. Redmer. 2007. Superovulation in sheep: number and weight of the corpora lútea and serum progesterone. *Sheep & Goat Res. J.* 22, 26-31.



- Gonzales, C. (2007). Sincronización e inducción de celos en ovejas lecheras en lactancia [MAP, PMSG].
- Hafez, E. & Hafez, B. (2002). Reproducción e inseminación artificial en animales. Ed. McGraw-Hill Interamericana, 7a Ed. México, D.F
- Hammerstedt, R., Graham, J., & Nolan J. (1990). Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. *J. Androl.* 11. 73-88
- Henderson KM, Savage LC, Ellen RL, Ball K, McNatty KP. 1988. Consequences of increasing or decreasing plasma FSH concentrations during the preovulatory period in Romney ewes. *J Reprod Fertil.* 84(1):187-196
- Hirshfield AN. 1991. Theca cells may be present at the outset of follicular growth. *Biol Reprod.* 44 (6): 1157-1162.
- Hosseinzadeh, A., Masoudi, R., Shahneh, A., Asadzadeh, S., Dirandeh, E., & Sadeghipanah, H. (2016). The effect of equine chorionic gonadotrophin (eCG) injection combined with prostaglandin F₂ α (PGF₂ α) and gonadotrophin releasing hormone (GnRH) treatment on reproductive performance of Zandi ewes during non-breeding season. *Archives Razi Institute.* 71(4):269-276
- Hunter MG, Robinson RS, Mann GE, Webb R. 2004. Endocrine and paracrine control of follicular development and ovulation rate in farm species. *Anim. Reprod Sci.* 82-83: 461- 477.
- CENAGRO (2012). INEI - IV Censo Nacional Agropecuario.
- Jesús, R. (2000). “Efecto del flunixin Meglumine en el ciclo estral y la fertilidad de ovejas pelibuey bajo condiciones de trópico”. Tesis para obtener el grado de doctor, México
- Jeyendran, R., H. Van Der Ven, M. Perez-Pelaes, Crabo, B., & Zaneveld., L. (1984). Development of an assay to asses the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J. Reprod. Fert.* 70: 219-228.



- Kaabi, M., Paz, P., Álvarez, M., Anel, E., Boixo, J., Rouissi, H., & Anel, L. (2003). Efecto de las condiciones de manipulación del epidídimo sobre la calidad de los espermatozoides de carnero. *Teriogenología*, 60, 1249–1259.
- Kulaksiz, R., & Daşkin, A. (2012). Reproductive performance of primiparous and multiparous Saanen goats after laparoscopic intrauterine insemination: a field study. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 36(2), 201-204.
- Lindsay, R. (1991). *Reproduction in the sheep and goat*. anim. reprod. sci. 4:491- 515. Cañada. 274p. Austria.
- Lozano-G., Jhon F.; Uribe-V., Luis F.; Osorio, J. H. (2012). Control hormonal de la reproducción en hembras ovinas (Ovisaries). *Veterinaria y Zootecnia ISSN*. 6(2), (p.134-147).
- Luther, J., Grazul-Bilska, A., Kirsch, J., Weigl, R., Kraft, K., Navanukraw, C., Pant, D., Reynolds, L., & Redmer, D. (2007). El efecto de GnRH, eCG y progestina tipo de sincronización estral después de la inseminación laparoscópica en ovejas. *Pequeño Rumín. Res.* 72, 227–231.
- Maddison, J. W., Rickard, J. P., Mooney, E., Bernecic, N. C., Soleilhavoup, C., Tsikis, G., ... & de Graaf, S. P. (2016). Oestrus synchronisation and superovulation alter the production and biochemical constituents of ovine cervicovaginal mucus. *Animal reproduction science*, 172, 114-122.
- Mango, R. (2015). Efecto de diferentes niveles de eCG sobre la fertilidad de borregas Corriedale inseminadas en época no reproductiva. (Tesis para optar el título de Médico Veterinario Zootecnista). Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Manrique Quispe, Y. P. Evaluación de dos protocolos de sincronización de celo con progesterona en borregas inseminadas con semen congelado.
- Martemucci, G., D'Alessandro, A. (2011). Synchronization of oestrus and ovulation by short time combined FGA, PGF2 α , GnRH, ECG treatments for natural service or AI fixed-time [resumen]. *Animal Reproduction Science*, 123, 32-39.



- Meikle A, Forsberg M. 2001. Conceptos básicos sobre progesterona y reproducción bovina. Radioinmunoanálisis. Control de calidad del Radioinmunoensayo (RIA). Swedish University of Agricultural Sciences. Report 17.
- Mellisho S., Pinazo, R., Chauca, L., Cabrera, V., & Rivas, V. (2006). Inseminación intrauterina vía laparoscópica de ovejas Black Belly con semen congelado. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 17(2), 131-136.
- Martinez, J., Sánchez, E., Bucio, A., Rojo, R., Mendoza, M., Cordero, M., & Mejia, V. (2006). Efecto de eCG e inseminación laparoscópica sobre el comportamiento reproductivo en ovejas F1 (Damara x Merino). *Rev. Científ. FCV-LUZ.*, 16, (1), 72-77.
- Monget P, Monniaux D. 1995. Growth factors and the control of folliculogenesis. *J Reprod Fertil. Suppl.* 49: 321-333.
- Monget P, Fabre S, Mulsant P, Lecerf F, Elsen F, Mazerbourg S, Pisselet C, Monniaux D. 2002. Regulation of ovarian folliculogenesis by IGF and BMP system in domestic animals. *Domest Anim Endocrinol.* 23(1-2): 139-54.
- Moses, D., Martinez, A., Iorio, G., Valcárcel, A., Ham, A., & Pessi, H. (1997). A large-scale program in laparoscopic intrauterine insemination with frozen thawed semen in Australian Merino sheep in Argentine Patagonia. Centro de Investigaciones Reproductivas Perez Compagnon, Buenos Aires, Argentina.
- Murphy B, Pescador N. 1996. Biología celular de la foliculogénesis bovina. En: II Simposio Internacional de Reproducción Animal. IRAC. pp: 1-11.
- Olivera, J., Fierro, S., López, V., & Gil, J. (2011). Comparison of prostaglandin and progesterone-based protocols for timed artificial insemination in sheep. *Theriogenology*, 75, 1232-1238.
- Parraguez V.; Atlagich M.; Araneda O.; García C.; Muñoz A.; De Los Reyes M.; Urquieta B. (2011). Effects of antioxidant vitamins on newborn and placental traits in gestations at high altitude: comparative study in high and low altitude native sheep. *Reprod. Fertil. Dev.* 23:285-96.



- Pau, S., Falchi, L., Ledda, M., Pivato, I., Valentino, M., Bogliolo, L., ... & Zedda, M. T. (2020). Reproductive performance following transcervical insemination with frozen thawed semen in ewes submitted to surgical incision of cervical folds (SICF): Comparison with Laparoscopic Artificial Insemination. *Animals*, 10(1), 108.
- Peña, E. (2018). Evaluación de los índices reproductivos y mortalidad de crías de borregas Corriedale inseminadas en la comunidad San Juan de Ondores- Junín. (Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Zootecnista). Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo - Junín.
- Pérez, M., Quispe, T., Quispe, F., Aguirre, E., Quispe, M., Pérez, U. (2010). Porcentaje de Gestación y Partición en Ovejas Usando Inseminación Laparoscópica con Semen Congelado. Lima – Perú.
- Porras, A., Zarco, A., Valencia M. (2003). Estacionalidad reproductiva en ovejas. *Ciencia Veterinaria.*, (p.3-25).
- Prieto, M., García, G., Lateulade, I. & Villa, M. (2010). sincronización de celos en ovinos con doble dosis de prostaglandina.
- Raso, M. (2004). Comparación de 4 tratamientos de sincronización de celos en ovinos. *Rev. Ganadería* (1-4).
- Ravindra JP, Rawlings NC, Evans ACO, Adams GP. 1994. Ultrasonographic study of ovarian follicular dynamics in ewes during the oestrous cycle. *Journal of Reproduction and Fertility* 101: 501- 509.
- Retamozo Lozano, F. (2015). Evaluación de la tasa de preñez utilizando diferente dosis de gonadotrofina coriónica equina (ECG) por inseminación intrauterina vía laparoscopia con semen fresco en borregas de la raza Corriedale.
- Rippe, C. (2009). El Ciclo Estral. Conferencia de reproducción de ganado lechero 2009. Minneapolis, USA.: ABS Global Inc.
- Rodríguez-Márquez, J., Mavarez, M., Chango, R., Morales, R., Rodríguez, M., Hidalgo, G., & Aranguren, J. A. (2015). Inseminación intrauterina por laparoscopia en



- ovejas mestizas West African utilizando semen Dorper congelado en pajuelas y pellets. *Revista Científica*, 25(5), 395-401
- Rota, A., Bastianacci, V., Mgelli, C., Panzani, D., Camilo, F. (2010). Evaluation of plasma membrane integrity of donkey spermatozoa. *Reprod Dom Anim* 45: 228-232. doi: 10.1111/j.1439- 0531.2008.01241.x
- Rubianes E, Beard A, Dieschke DJ, Bartlewki P, Adams GP, Rawlings NC. (1997). Endocrine and ultrasound evaluation of the response to PGF 2α and GnRH given at different stages of the luteal phase in cyclic ewes. *Terioenology* 48 (7): 1093-1104.DOI: 10.1016/S0093-691X(97)00342-7.
- Rubianes, E. (2000). Ondas de desarrollo folicular y respuesta ovárica en la oveja. (Tesis Doctoral). Universidad de la Republica. Uruguay.
- Santos, J. (2022). Tasa de fecundidad en borregas Corriedale usando inseminación artificial laparoscópica con semen fresco diluido vs congelado en estación reproductiva en el centro experimental Casaracra – UNDAC. (Tesis para optar el título profesional de Ingeniero Zootecnista). Universidad Nacional Daniel Alcides Carrión, Pasco.
- Scaramuzzi RJ, Adams NR, Baird D, Campbell BK, Dowing JA, Findlay JK, Henderson KM, Martin GG, McNatty KP, McNeilly AS and Tsonis CG.1993. A model for follicle selection and the determination of ovulation rate in the ewe. *Reprod. Fertil Dev.* 5 (5): 459-478. Review
- Sasa, A. (2002). Concentraciones plasmáticas de Progesterona en ovejas de lana y ovejas de pelo en periodo de abril a septiembre. *Revista Brasileña de Zootecnia*. Sao Paulo. Brasil.
- Shams, D; Menzer, C., Schalleberger, E., Hoffmann, B; Hahn, J. & Hahn, R. (1978). Some studies on pregnant serum gonadotrophin (PMSG) and on endocrine responses after application for superovulation in cattle. In: *Cattle. En Control for Reproduction in the cow.* (págs. 122-143). Sreenan J. M.: M. Nijhoff. The Hague
- Solis, I. (2009). Protocolo corto de sincronización del celo mediante la aplicación de cloprostenol y el uso del “efecto macho”, en ovejas west african en condiciones de trópico. 32.



- Swenson, M., & Reece, W. (1999). *Fisiología de los Animales Domésticos de Dukes*. Mexico: Limusa Uthea, Mexico.
- Sylla, L., Pistolesi, A., Corsi, I., Crociati, M., Stradaioli, G., & Monaci, M. (2021). Laparotomic intrauterine insemination with frozen-thawed semen in Sopravissana breed ewes in Central Italy. *Italian Journal of Animal Science*, 20(1), 928-934.
- Vega, V., & Escondido, P. (2011). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 14, (p. 829-845).
- Webb R, Nicholas B, Gong JG, Campbell BK, Gutierrez CG, Garverick HA, Armstrong DG. 2003. Mechanisms regulating follicular development and selection of the dominant follicle *Reprod Suppl.* 61: 71-90. Review
- Yanagimachi, R. (1993). Mammalian Fertilization. *Physiology of Reproduction*. En: Knobil, E., J. Neil. Ed. NY Raven Press, pp. 189-317

ANEXOS

ANEXO 1. Panel fotográfico

Figura 4

Ovinos corriedale sometidos a sincronización de celo.



Figura 5

Equipos y materiales de Inseminación artificial por laparoscopia.



Figura 6

a) ovinos en pleno ayudo 18 horas antes de la inseminación b) pleno proceso de IAL.



Figura 7.

a) sujeción y evaluación del tipo de secreción cervical b) observación de las características del cérvix.





ANEXO 2. Análisis estadístico con SAS para tiempo post retiro de dispositivo vaginal

Sistema SAS

Procedimiento FREQ

Frecuen cia	Pct fila	TR T	Tabla de TRT por RESPONSE		Tot al
			PRENA DA	NOPREN AD	
		52	5	7	12
	H		41.67	58.33	
		55	6	6	12
	H		50.00	50.00	
		60	7	5	12
	H		58.33	41.67	
	Total		18	18	36

Estadísticos para la tabla de TRT por RESPONSE

Estadístico	DF	Valor	Prob
Chi-cuadrado	2	0.6667	0.7165
Chi-cuadrado de ratio de verosimilitud	2	0.6698	0.7154
Chi-cuadrado Mantel-Haenszel	1	0.6481	0.4208



Estadístico	DF	Valor	Prob
Coficiente Phi		0.1361	
Coficiente de contingencia		0.1348	
V de Cramer		0.1361	

Test chi-cuadrado de Pearson

Chi-cuadrado	0.6667
DF	2
Pr asintótico > ChiSq	0.7165
Exacto Pr >= ChiSq	0.9131

Test chi-cuadrado de ratio de verosimilitud

Chi-cuadrado	0.6698
DF	2
Pr asintótico > ChiSq	0.7154
Exacto Pr >= ChiSq	0.9131

Test chi-cuadrado de Mantel-Haenszel

Chi-cuadrado	0.6481
DF	1
Pr asintótico > ChiSq	0.4208
Exacto Pr >= ChiSq	0.5470



Tamaño de la muestra = 36

Fuente: Elaborado por el autor

ANEXO 3. Análisis estadístico SAS para tipo de secreción cervical

Sistema SAS

Procedimiento FREQ

Frecuencia

Tabla de TRT por RESPONSE

fila	Pct	TRT	RESPONSE		Total
			PRENAD A	NOPRENA D	
1		TIPO	4	13	17
			23.53	76.47	
2		TIPO	11	5	16
			68.75	31.25	
		Total	15	18	33

Estadísticos para la tabla de TRT por RESPONSE

Estadístico	DF	Valor	Prob
Chi-cuadrado	1	6.7982	0.0091
Chi-cuadrado de ratio de verosimilitud	1	7.0496	0.0079



Estadístico	DF	Valor	Prob
Chi-cuadrado adj. de continuidad	1	5.0966	0.0240
Chi-cuadrado Mantel-Haenszel	1	6.5922	0.0102
Coefficiente Phi		-0.4539	
Coefficiente de contingencia		0.4133	
V de Cramer		-0.4539	

Test chi-cuadrado de Pearson

Chi-cuadrado	6.7982
DF	1
Pr asintótico > ChiSq	0.0091
Exacto Pr >= ChiSq	0.0149

Test chi-cuadrado de ratio de verosimilitud

Chi-cuadrado	7.0496
DF	1
Pr asintótico > ChiSq	0.0079
Exacto Pr >= ChiSq	0.0149

Test chi-cuadrado de Mantel-Haenszel

Chi-cuadrado	6.5922
---------------------	--------



Test chi-cuadrado de Mantel-Haenszel

DF	1
Pr asintótico > ChiSq	0.0102
Exacto Pr >= ChiSq	0.0149

Test exacto de Fisher

Celda (1,1) Frecuencia (F)	4
Alineado a la izquierda Pr <= F	0.0113
Alineado a la derecha Pr >= F	0.9987
Tabla de probabilidad (P)	0.0100
De dos caras Pr <= P	0.0149

Tamaño de la muestra = 33

Fuente: Elaborado por el autor



ANEXO 4. Declaración jurada de autenticidad de tesis



Universidad Nacional
del Altiplano Puno



Vicerrectorado
de Investigación



Repositorio
Institucional

DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Yosip Hanmerly Dragon Puelas,
identificado con DNI 70169445 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

Medicina Veterinaria y Zootecnia

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

“Determinación de la Asociación entre la secreción cervical
y la tasa de Píñez después de la sincronización de celo
en Borregas Comedales de Altura”

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 27 de Marzo del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella



ANEXO 5. Autorización para el depósito de tesis en el Repositorio Institucional



Universidad Nacional
del Altiplano Puno



Vicerrectorado
de Investigación



Repositorio
Institucional

AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo Yosip Hanmerly Dragon Ruelas,
identificado con DNI 70169443 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado
Medicina Veterinaria y Zootecnia

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

“ Determinación de la Asociación entre la secreción
Cervical y la Tasa de Piñez después de la sincronización
de celo en Borregas Comedales de Altura ”

para la obtención de Grado, Título Profesional o Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 27 de Marzo del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella