



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**



**INFLUENCIA DE LA CRIOPRESERVACION Y LA EDAD SOBRE  
LA CALIDAD DEL SEMEN Y LA PREÑEZ EN OVINOS  
CORRIEDALE (*Ovis aries*) EN EL C.E. ILLPA**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**SERGIO WALTER AMESQUITA APAZA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO**


**PUNO – PERÚ**

**2025**



# SERGIO WALTER AMESQUITA APAZA

## INFLUENCIA DE LA CRIOPRESERVACIÓN Y LA EDAD SOBRE LA CALIDAD DEL SEMEN Y LA PREÑEZ EN OVINOS CORRIED...

 Universidad Nacional del Altiplano

### Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::8254:538319256

79 páginas

Fecha de entrega

8 dic 2025, 9:15 p.m. GMT-5

12.943 palabras

77.230 caracteres

Fecha de descarga

8 dic 2025, 9:18 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

BORRADOR DE TESIS - AMESQUITA UV -7-12-25 wo (1).pdf

Tamaño del archivo

1.2 MB





## 8% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

### Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

### Fuentes principales

- 6% Fuentes de Internet
- 2% Publicaciones
- 4% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

### Marcas de integridad

#### N.º de alerta de integridad para revisión

- Texto oculto**  
16 caracteres sospechosos en N.º de páginas  
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Mg. Sr. Ferdynand Marcos Huacani Pacori  
Director de tesis

Dr. Manuel A. Callohuani P.  
Sub. director de Investigación Epist- FCA





**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGRONOMICA**

INFLUENCIA DE LA CRIOPRESERVACIÓN Y LA EDAD SOBRE LA CALIDAD  
DEL SEMEN Y LA PREÑEZ EN OVINOS CORRIEDALE (*Ovis aries*) EN EL C.E. -  
ILLPA.

TESIS PRESENTADA POR:

**Bach. SERGIO WALTER AMESQUITA APAZA**

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

**INGENIERO AGRONOMO**



APROBADA POR EL JURADO REVISOR, COMFORMADO POR:

**PRESIDENTE:**

  
\_\_\_\_\_  
ING. LUIS AMILCAR BUENO MACEDO

**PRIMER MIEMBRO:**

  
\_\_\_\_\_  
M. Sc. NICAELA PILAR TERROBA QUISPE

**SEGUNDO MIEMBRO:**

  
\_\_\_\_\_  
M. Sc. FELIX SUPO HALANOCA

**DIRECTOR / ASESOR:**

  
\_\_\_\_\_  
M. Sc. FERDYNAND MARCOS HUACANI PACORI

**Área** : Ciencias agrarias

**Tema** : Producción animal

**FECHA DE SUSTENTACION: 25 de noviembre de 2025**



## DEDICATORIA

A Dios: Gracias por ser mi fuente de fortaleza y entendimiento en este logro Académico.

A mi padre: Elisban Juan Amesquita Ponce, gracias por brindarme los recursos necesarios y estar a mi lado apoyándome y aconsejándome siempre.

A mi madre: Elvira Apaza Quispe, por hacer de mí una mejor persona a través de sus consejos, durante este periodo de mi vida.

A mi tío: Eleuterio Amesquita Ponce, mi gratitud hacia usted es profunda y sincera por enseñarme el verdadero significado de la familia.

**Sergio Walter Amesquita Apaza**



## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, A la Universidad Nacional Altiplano de Puno por permitirme ser parte de esta primera casa de estudios, Facultad de Ciencias Agrarias y a la escuela profesional de Ingeniería Agronómica, por las enseñanzas durante estos años de estudio, así como a los docentes que compartieron todos sus conocimientos.

Agradecer de la misma manera a mis distinguidos Jurados, presidente Ing. Luis Amilcar Bueno Macedo, primer miembro Ing. Nicaela Pilar Terroba Quispe, segundo miembro Ing. Felix Supo Halanoca. Sus valiosas sugerencias y comentarios han sido fundamentales, en la revisión del trabajo de investigación.

Agradezco a mi director/asesor de tesis, Ing. Ferdynand Marcos Huacani Pacori, por dedicar todo su tiempo a mi proyecto de tesis, por su orientación, paciencia y apoyo constante a lo largo de todo el proceso de investigación en la cual han sido fundamentales para lograr los objetivos propuestos.

También quiero agradecer a mi amigo, Ing. Néstor Parizuaña Cusilayme, por haber compartido todo su conocimiento en la ejecución del proyecto de tesis.

De la misma manera agradecer a mi amiga, Yudith Huanco Sucasaca, por su generosidad y presencia en la parte de ejecución del proyecto.

A todos los amigos y compañeros de la escuela profesional de Ingeniería Agronómica

**Sergio Walter Amesquita Apaza**



# ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
<b>DEDICATORIA</b>	
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b>	
<b>ACRÓNIMOS</b>	
<b>RESUMEN .....</b>	<b>14</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>15</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b>	
<b>1.1 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>17</b>
1.1.1. Objetivo general.....	17
1.1.2. Objetivos específicos.....	17
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
<b>2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>18</b>
<b>2.2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>20</b>
2.2.1. Ubicación taxonómica.....	20
2.2.2. Reproducción de Ovinos .....	20
2.2.2.1. Fisiología reproductiva del ovino macho.....	21
2.2.2.2. Fisiología reproductiva de la oveja .....	21
2.2.2.3. Características reproductivas de la raza Corriedale .....	22



2.2.2.4. Factores que afectan la reproducción ovina.....	22
2.2.3. Características del semen ovino.....	23
2.2.4. Factores que influyen en la fertilidad en ovinos inseminados. ....	32

### **CAPÍTULO III**

#### **MATERIALES Y MÉTODOS**

<b>3.1. LUGAR DE ESTUDIO.....</b>	<b>35</b>
<b>3.2. MATERIALES Y EQUIPOS.....</b>	<b>36</b>
<b>3.3. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>39</b>
3.3.1. Tratamientos del estudio .....	39
3.3.2. Variables evaluadas.....	39
3.3.2.1. Motilidad post-descongelación según dilutor (Andromed y Triladyl) .....	39
3.3.2.2. Motilidad seminal post-descongelación en función de la tasa de congelación (lenta y rápida).....	42
3.3.2.3. Tasa de preñez según edad ( $\leq 2$ dientes y $> 2$ dientes) mediante inseminación artificial con semen criopreservado .....	45
3.3.3. Diseño estadístico del estudio .....	47

### **CAPÍTULO IV**

#### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

<b>4.1. EFECTO DE LOS DILUTORES SOBRE MOTILIDAD POST-DESCONGELACIÓN DEL SEMEN CRIOPRESERVADO.....</b>	<b>49</b>
<b>4.2. EFECTO DE LA TASA DE CONGELACIÓN EN LA MOTILIDAD DEL SEMEN POST-DESCONGELACIÓN .....</b>	<b>53</b>
<b>4.3. INFLUENCIA DE LA EDAD DE LOS OVINOS EN TASA DE PREÑEZ</b>	<b>57</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>61</b>



<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>62</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>63</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>69</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
<b>Tabla 1</b> Composición de Andromed y triladyl comercial .....	26
<b>Tabla 2</b> Descripción de equipos y materiales de laboratorio .....	36
<b>Tabla 3</b> Descripción de equipos y materiales para criopreservación de semen .....	37
<b>Tabla 4</b> Descripción de los tratamientos del estudio.....	39



## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1</b> Mapa de ubicación experimental.....	35
<b>Figura 2</b> Materiales y equipos: (a) Tanque de nitrógeno, (b) Pistola de inseminación y otros .....	38
<b>Figura 3</b> Porcentaje de motilidad espermática post descongelación en base a dilutores .....	50
<b>Figura 4</b> Porcentaje de motilidad espermática post descongelación en base a tasa de congelación.....	54
<b>Figura 5</b> Probabilidad estimada de preñez según grupo de edad del ovinos en modelo de regresión logística.....	57
<b>Figura 6</b> Curva fisiológica de fertilidad en ovinos según edad.....	59



## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
<b>Anexo 1</b> Base de datos de evaluación seminal en ovinos Corriedale según protocolos de criopreservación (Diluyentes).....	69
<b>Anexo 2</b> Base de datos de evaluación seminal en ovinos Corriedale según tasa de congelación (Rápida y Lenta).....	70
<b>Anexo 3</b> Base de datos de evaluación de preñez en ovinos Corriedale en base a la edad ( $> 2$ dientes y $\leq 2$ dientes).....	71
<b>Anexo 4</b> ANVA Porcentaje de motilidad post descongelamiento en base a los dilutores Andromed y Triladyl.....	72
<b>Anexo 5</b> ANVA Porcentaje de motilidad post descongelamiento en base a tasa de congelamiento rápido y lenta.....	73
<b>Anexo 6</b> Análisis de regresión logística para porcentaje de preñez en base a la edad .....	74
<b>Anexo 7</b> Evaluación de los dilutores sobre la calidad seminal post-descongelación .....	75
<b>Anexo 8</b> Evaluación de las tasas de congelación sobre la calidad seminal.....	76
<b>Anexo 9</b> Inseminación artificial por laparoscopia.....	77
<b>Anexo 10</b> Declaración jurada de autenticidad de tesis.....	78
<b>Anexo 11</b> Autorización para el depósito de tesis en el repositorio institucional .....	79



## ACRÓNIMOS

<b>ROS</b>	: Especies reactivas de oxígeno
<b>CASA</b>	: Computer Assisted Sperm Analysis (Análisis de esperma asistido por computadora)
<b>BSA</b>	: Bovine Serum Albumin (Albúmina de Suero Bovino)
<b>LH</b>	: Hormona luteinizante
<b>FSH</b>	: Hormona folículo estimulante
<b>ITIS</b>	: Integrated Taxonomic Information System (Sistema integrado de información taxonómica)
<b>GnRH</b>	: Hormona liberadora de gonadotropina
<b>IA</b>	: Inseminación artificial
<b>eCG</b>	: Gonadotropina coriónica equina
<b>CC</b>	: Condición corporal
<b>HOST</b>	: Hypo-Osmotic Swelling Test (Test de hinchamiento hipo osmótico)
<b>TUNEL</b>	: Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP Nick End Labeling (Marcaje de extremos de fragmentos de ADN)
<b>SCSA</b>	: Sperm Chromatin Structure Assay (Ensayo de estructura de la cromatina espermática)



## RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo evaluar distintos protocolos de criopreservación sobre los parámetros seminales y reproductivos en ovinos Corriedale (*Ovis aries*), se desarrolló en el Centro Experimental Illpa, distrito de Paucarcolla, provincia de Puno. Se empleó dos dilutores (Andromed y Triladyl) y dos tasas de congelación (lenta y rápida) con el propósito de evaluar su efecto sobre la motilidad espermática post-descongelación. El experimento se condujo bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA), y las diferencias entre tratamientos fueron determinadas mediante la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer ( $p \leq 0.05$ ). Asimismo, se analizó el efecto de la edad de los ovinos (menores y mayores de dos años) sobre la tasa de preñez obtenida mediante inseminación artificial con semen criopreservado, aplicando un modelo de regresión logística. Los resultados evidenciaron que el dilutor Andromed fue el más eficaz, alcanzando una motilidad post-descongelación promedio de 46.67 %, significativamente superior a la obtenida con Triladyl (30.83 %) ( $p = 0.0006$ ). En relación con la tasa de congelación, no se observaron diferencias significativas entre la congelación rápida (42.78 %) y la lenta (37.32 %), aunque la primera mostró valores ligeramente mayores. Por otro lado, la edad dental de los ovinos no tuvo un efecto significativo sobre la tasa de preñez, registrándose probabilidades predichas de 44.4 % en ovinos mayores de dos dientes y 38.9 % en los más jóvenes. Estos resultados contribuyen a optimizar los protocolos de criopreservación y la selección reproductiva en ovinos Corriedale, contribuyendo a mejorar la eficiencia reproductiva bajo las condiciones locales del altiplano puneño.

**Palabras clave:** ovinos, criopreservación, edad, calidad espermática, tasa de preñez.



## ABSTRACT

The study aimed to evaluate different cryopreservation protocols on seminal and reproductive parameters in Corriedale sheep (*Ovis aries*), taking place at the Illpa Experimental Center, Paucarcolla district, Puno province. Two diluents (Andromed and Triladyl) and two freezing rates (slow and fast) were used in order to evaluate their effect on post-thawing sperm motility. The experiment was conducted under a Completely Randomized Design (DCA), and the differences between treatments were determined using the Tukey-Kramer multiple comparison test ( $p \leq 0.05$ ). Likewise, the effect of sheep age (younger and older than two years) on the pregnancy rate obtained through artificial insemination with cryopreserved semen was analyzed using a logistic regression model. The results showed that the Andromed diluent was the most effective, achieving an average post-thawing motility of 46.67%, significantly higher than that obtained with Triladyl (30.83%) ( $p = 0.0006$ ). Regarding the freezing rate, no significant differences were observed between rapid freezing (42.78%) and slow freezing (37.32%), although the former showed slightly higher values. On the other hand, the dental age of the sheep did not have a significant effect on the pregnancy rate, recording predicted probabilities of 44.4% in sheep with more than two teeth and 38.9% in younger sheep. These results contribute to optimizing cryopreservation protocols and reproductive selection in Corriedale sheep, helping to improve reproductive efficiency under the local conditions of the Puno plateau.

**Keywords:** sheep, cryopreservation, age, sperm quality, pregnancy rate.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

La criopreservación seminal es una técnica biotecnológica fundamental en la reproducción asistida de ovinos, que permite la conservación a largo plazo del material genético, facilitando programas de mejora genética y conservación de razas (Salamon y Maxwell, 2000). En ovinos, la calidad del semen post-descongelación es un factor crítico para el éxito reproductivo, estando influenciada por variables como la composición del diluidor, la tasa de congelación y las condiciones individuales de los reproductores (Parks y Graham, 1992; Watson, 2000). La elección adecuada de protocolos de criopreservación contribuye a mantener la motilidad y fertilidad espermática, esenciales para la eficiencia de la inseminación artificial (Kastelic et al., 2015).

Diversos estudios han demostrado que la tasa de congelación tiene un efecto directo sobre la integridad de la membrana plasmática y la funcionalidad espermática, siendo la congelación lenta generalmente más favorable para preservar la calidad seminal (Caballero et al., 2021). Por otro lado, el tipo de diluidores utilizados, que varían en su composición química y protectores antioxidantes, también influye en la capacidad de supervivencia espermática después del descongelamiento (Barrios et al., 2017). Además, la edad y condición fisiológica de los ovinos impactan en la calidad del semen, afectando variables como la motilidad, así como la tasa de preñez en programas reproductivos (Mahmoud et al., 2018).

En el contexto del ovino Corriedale, raza reconocida por su adaptabilidad y calidad de fibra, la optimización de protocolos de criopreservación puede significar un avance importante en la eficiencia reproductiva y conservación genética (Mendoza et al., 2019). Sin embargo, la variabilidad en resultados reportada a nivel regional resalta la



necesidad de investigaciones específicas que evalúen diferentes protocolos bajo condiciones locales, como las del Centro Experimental Illpa.

Por lo tanto, esta investigación tuvo como objetivo evaluar diferentes protocolos de criopreservación y su efecto sobre parámetros seminales y reproductivos en ovinos Corriedale, con la finalidad de optimizar las técnicas de conservación y mejorar la eficiencia reproductiva en este centro experimental. Este estudio contribuirá a la generación de conocimiento científico aplicado y al fortalecimiento de programas reproductivos basados en biotecnologías de vanguardia.

## **1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

### **1.1.1. Objetivo general**

Evaluar el efecto de la criopreservación y edad sobre la calidad del semen y preñez de ovinos Corriedale (*Ovis aries*) en el CE-Illpa.

### **1.1.2. Objetivos específicos**

- Comparar el efecto de dos tipos de dilutores (Andromed o Triladyl) sobre la motilidad del semen de ovinos Corriedale.
- Evaluar el efecto de dos tasas de congelación (lenta y rápida) sobre la motilidad del semen post-descongelado en ovinos Corriedale.
- Analizar la influencia de la edad de los ovinos (menores y mayores de 2 años) sobre la tasa de preñez obtenida mediante inseminación artificial con semen criopreservado.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

La criopreservación de semen en ovinos es una técnica fundamental para la conservación genética y los programas de mejora reproductiva. Sin embargo, la efectividad de este procedimiento depende en gran medida de factores como el diluyente utilizado, la tasa de congelación, el tiempo de equilibrado y las características individuales del macho (Ozturkler y Ari, 2017; Jha et al., 2019)

Estudios en Carneros Wallachian demostraron que un equilibrado de 6 horas en Triladyl (con glicerol y yema de huevo) produjo mayor motilidad espermática post-descongelación, sin diferencias significativas entre congelación manual y programada en fertilidad in vitro (Jha et al., 2021)

Investigaciones sobre semen de ovejas de raza Hu (originaria de China) identificaron que diluyentes basados en Tris-ácido cítrico-fructosa con 20 % yema de huevo y 6 % glicerol son superiores en preservar motilidad progresiva, integridad de membrana y reducir niveles de ROS, especialmente si se combina con método de fumigación sobre nitrógeno líquido, resultando más práctico y efectivo que técnicas de congelación programada complejas (Zhang et al., 2024)

En este estudio, se determinó que ciertos parámetros cinéticos evaluados por CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis), como velocidad y linealidad, tras incubación post-descongelación, pueden predecir la fertilidad in vivo: en carneros Manchega, muestras con baja velocidad tras incubación en el diluyente de congelación mostraron menores tasas de preñez ( $P < 0.05$ ) (García-Álvarez et al., 2013)



Por otra parte, investigaciones en semen epididimal de las razas Corriedale e Ile de France, demostraron que almacenar espermatozoides epididimales sin diluir a 4 °C durante hasta 4 días puede preservar una buena motilidad y fertilidad posterior, alcanzando tasas entre 55 % y 24 %, dependiendo del tiempo de almacenamiento ( $P < 0.05$ ), mostrando también una relación lineal entre motilidad y fertilidad (Mahmoud et al., 2014).

Por otro lado, se ha documentado la gran sensibilidad del semen de carnero al estrés criogénico, debido a su baja relación colesterol-fosfolípidos y alta susceptibilidad a peroxidación lipídica; por ello, diversos antioxidantes (aminoácidos como la glutamina, ergothioneine, BSA) se evalúan como aditivos del diluyente para mejorar la calidad espermática post-descongelación (Ferrer et al., 2023; Saha et al., 2022)

Estos antecedentes aportan evidencia de que variables como diluyente, tasa y método de congelación, tiempo de equilibrado y tipo de semen (eyaculado vs epididimal), afectan directamente la calidad espermática post-descongelación y la fertilidad en ovinos. Aunque muchos estudios se enfocan en razas como Manchega, Wallachian o Hu, hay escasez de investigaciones específicas para Corriedale bajo condiciones locales similares a las del Centro Experimental Illpa. Por ello, resulta pertinente realizar un estudio específico sobre protocolos de criopreservación en ovinos Corriedale, evaluando su efecto sobre calidad seminal y eficiencia reproductiva.



## 2.2. MARCO TEÓRICO

### 2.2.1. Ubicación taxonómica

El ovino (*Ovis aries*) pertenece al reino Animalia y es parte de la familia Bovidae, subfamilia Caprinae, la cual incluye también a las cabras y otros rumiantes de pequeño tamaño. La clasificación taxonómica de esta especie, basada en los sistemas reconocidos por el Integrated Taxonomic Information System (ITIS) y el Catalogue of Life, se detalla a continuación:

Reino: Animalia

División: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Artiodactyla

Familia: Bovidae

Sub familia: Caprinae

Género: Ovis

Especie: *Ovis aries*.

### 2.2.2. Reproducción de Ovinos

La reproducción ovina es un proceso biológico fundamental para la producción ganadera, ya que define el rendimiento económico y la eficiencia en la obtención de crías, carne, lana o leche, según el sistema productivo. En el caso de razas doble propósito como el ovino Corriedale, el mejoramiento genético a través de técnicas reproductivas modernas como la inseminación artificial y la



criopreservación seminal requiere una comprensión profunda de la fisiología reproductiva y sus determinantes (Evans y Maxwell, 1987; Senger, 2012).

### **2.2.2.1. Fisiología reproductiva del ovino macho**

El carnero, al igual que otros rumiantes, posee un sistema reproductivo compuesto por testículos, epidídimo, conductos deferentes, glándulas accesorias y pene. La espermatogénesis ocurre de forma continua en los túbulos seminíferos y está regulada por el eje endocrino hipotálamo–hipófisis–gónadas, principalmente por las hormonas LH (que estimula la producción de testosterona) y FSH (que actúa sobre las células de Sertoli) (Rodríguez et al., 2011).

La pubertad en carneros ocurre entre los 5 y 8 meses, aunque la madurez sexual plena se alcanza cerca del año de edad. Los factores que influyen en la calidad seminal incluyen edad, fotoperíodo, nutrición, raza y estado sanitario. Un carnero adulto sano puede producir entre 0.8 y 1.5 ml de semen con concentraciones de 2 a  $5 \times 10^9$  espermatozoides/ml, con motilidad progresiva superior al 70% (Colás et al., 2014).

### **2.2.2.2. Fisiología reproductiva de los ovinos**

Las ovejas son animales poliéstricos estacionales, lo que significa que presentan ciclos sexuales en ciertas épocas del año, generalmente en los meses de menor luz (otoño e invierno). Este patrón está regulado por la melatonina, que actúa sobre el eje neuroendocrino y permite la liberación de GnRH, FSH y LH, reiniciando la actividad ovárica (González et al., 2007).



El ciclo estral ovino dura entre 16 y 17 días, con una fase de estro (celo) de aproximadamente 24 a 36 horas, durante la cual la hembra acepta la monta o la inseminación. La ovulación ocurre cerca del final del estro, por lo que una sincronización precisa es crucial en técnicas como la inseminación artificial. Las tasas de fertilización pueden verse afectadas por la edad, el estado fisiológico, la condición corporal y el momento de inseminación (Senger, 2012; Mendoza et al., 2019).

#### **2.2.2.3. Características reproductivas de la raza Corriedale**

El ovino Corriedale es una raza de doble propósito (carne y lana), adaptada a condiciones de clima templado a frío. Su prolificidad suele oscilar entre 1.1 y 1.3 corderos por parto, aunque esta puede mejorar con manejo nutricional y reproductivo adecuado. A nivel andino, esta raza representa una base genética importante por su rusticidad, eficiencia alimenticia y adaptabilidad. La implementación de técnicas de inseminación artificial y congelación seminal busca potenciar su productividad genética en programas de selección y conservación (Mendoza et al., 2019).

#### **2.2.2.4. Factores que afectan la reproducción de ovinos**

La eficiencia reproductiva en ovinos puede verse afectada por una serie de factores:

Ambientales: el fotoperíodo es el principal regulador del ciclo sexual, pero también influyen temperatura y altitud.



Nutricionales: deficiencias energéticas o de minerales (zinc, selenio, fósforo) afectan la ciclicidad y la espermatogénesis.

Sanitarios: enfermedades como brucelosis, epididimitis, toxoplasmosis o clamidiasis disminuyen la fertilidad tanto en machos como hembras.

Edad y genética: animales muy jóvenes o muy viejos presentan menor calidad seminal o respuesta hormonal. Algunas líneas genéticas muestran mayor estacionalidad que otras (Kershaw et al., 2005).

### **2.2.3. Características del semen ovino.**

El semen ovino es el fluido biológico producido por el carnero, compuesto por espermatozoides y plasma seminal. Su calidad es un factor determinante en el éxito de la reproducción natural y asistida, particularmente en la inseminación artificial con semen fresco o criopreservado. La comprensión de sus características y la aplicación de métodos adecuados de evaluación son fundamentales para optimizar la fertilidad en programas de mejora genética (Maxwell y Salamon, 1993; Colás et al., 2014).

- a)** El semen de carnero se caracteriza por tener un volumen relativamente bajo, pero una alta concentración espermática.

Un eyaculado normal presenta las siguientes características promedio:

- Volumen: 0.5 a 2 ml
- Color: Blanco perlado a crema
- pH: 6.4–7.2
- Concentración: 2 a  $5 \times 10^9$  espermatozoides/ml



- Motilidad total: >70%
- Morfología normal: >80%
- Vitalidad espermática: >75% (Evans y Maxwell, 1987; Barth y Oko, 1989)

Estas características pueden variar según la raza, edad, estación del año, nutrición y estado sanitario del carnero (García et al., 2013).

b) La evaluación seminal en ovinos se realiza para determinar la capacidad fecundante de los espermatozoides. Puede ser:

- Macroscópica: volumen, color, viscosidad, pH.
- Microscópica: motilidad (total y progresiva), concentración, morfología, motilidad y acrosoma.

Se utilizan tanto métodos convencionales (microscopía óptica y tinciones vitales) como sistemas modernos como CASA (Computer Assisted Sperm Analysis), que permite cuantificar con precisión parámetros cinéticos como velocidad curvilínea, linealidad y amplitud lateral de la cabeza (Sellem et al., 2015).

### **2.2.3.1. Cripreservacion seminal.**

La criopreservación seminal es una técnica biotecnológica que permite conservar espermatozoides viables durante largos períodos mediante su congelación a temperaturas ultra bajas, generalmente en nitrógeno líquido (-196 °C). Esta herramienta es fundamental en la reproducción animal, ya que facilita la inseminación artificial, el intercambio genético, la conservación de razas, y la planificación



estratégica de programas de mejoramiento (Salamon y Maxwell, 2000; Santiago et al., 2011).

#### **a) Principios de la criopreservación**

Durante la congelación, los espermatozoides se exponen a múltiples estreses físicos y osmóticos, que incluyen:

- Formación de cristales de hielo intracelulares que dañan las membranas.
- Deshidratación excesiva por la salida de agua celular.
- Alteración del acrosoma, mitocondrias y ADN espermático.

Choques térmicos durante el proceso de congelación y descongelación (Watson, 2000).

Para reducir estos efectos, se utilizan diluyentes y crioprotectores, que protegen la estructura y funcionalidad de los espermatozoides.

#### **b) Diluyentes y crioprotectores**

Los diluyentes (extenders) proporcionan un medio isotónico con nutrientes, antibióticos y buffers que estabilizan el pH. Entre los más usados en ovinos están:

- Tris-yema de huevo
- Leche descremada-glucosa
- Diluyentes comerciales: Andromed, Triladyl.

**Tabla 1**

*Composición de Andromed y triladyl comercial*

Producto	Forma de preparación	Componentes declarados	Observaciones
<b>Andromed</b>	Concentrado 200 ml	- Fosfolípidos (lecitina de soya) - TRIS - Ácido cítrico - Azúcares - Tampones / buffers - Antioxidantes	Fórmula libre de yema de huevo (no contiene ingredientes de origen animal). Se ofrece en versión con antibióticos o CSS (sin antibióticos).
	completar a 1000 ml con agua destilada.	- Glicerol- Agua de alta pureza - Opcional: antibióticos GTLS (Tilosina, Gentamicina, Espectinomicina, Lincomicina).	
<b>Triladyl</b>	Concentrado 200 g (o 250 g)	- TRIS - Ácido cítrico - Azúcares - Buffers - Glicerol - Agua de alta pureza	Requiere adición de yema de huevo para formularse completamente.
	completar a 1000 ml con agua destilada. Para el uso tradicional se añade yema de huevo fresca al diluyente final.	-Opcional: antibióticos GTLS (Tilosina, Gentamicina, Espectinomicina, Lincomicina).	Disponible en versiones con antibióticos y CSS (sin antibióticos).

Fuente: Minitub GmbH (2025)



Los crioprotectores como el glicerol (penetrante) y trehalosa o yema de huevo (no penetrantes) ayudan a reducir el daño por hielo intracelular. La eficacia depende de su concentración y del tipo de diluyente empleado (García et al., 2013; Dorado et al., 2010).

### c) **Métodos de congelación y descongelación**

En ovinos, se han desarrollado dos métodos principales de criopreservación:

**Congelación lenta:** se realiza en congeladores programables, con descensos controlados de temperatura. Permite una adaptación progresiva de la célula al frío, con buena recuperación de la motilidad post-descongelación.

**Congelación rápida:** se expone el semen en pajillas directamente al vapor de nitrógeno (4–5 cm sobre el nivel del líquido). Es más sencilla y económica, pero puede causar mayor daño si no se optimizan los tiempos y diluyentes (Maxwell y Salamon, 1993).

La descongelación también es crítica: una temperatura subóptima puede revertir los beneficios del proceso de congelación. Por lo general, se recomienda descongelar las pajillas a 37 °C durante 30 a 60 segundos, aunque esto puede variar según el protocolo.

### d) **Evaluación post-descongelación**

Los parámetros más utilizados para evaluar la calidad del semen criopreservado son:

- Motilidad progresiva y total.



- Vitalidad espermática.
- Integridad de membrana (test de hipoosmótico).
- Morfología y acrosoma.
- Fragmentación del ADN espermático (se utiliza en protocolos avanzados).

### **2.2.3.2. Protocolos de criopreservación en ovinos.**

La aplicación de protocolos de criopreservación en ovinos ha sido clave para el avance de la reproducción asistida, permitiendo el uso extensivo de la inseminación artificial con semen congelado. Estos protocolos incluyen una serie de pasos estandarizados que tienen como objetivo proteger la integridad y funcionalidad de los espermatozoides durante el proceso de enfriamiento, congelación y posterior descongelación (Salamon y Maxwell, 2000).

Los protocolos de criopreservación varían dependiendo del tipo de diluyente, crioprotector, tasa de enfriamiento/congelación, y la forma de almacenamiento (en pajillas o pellets). Un protocolo exitoso debe minimizar el daño celular, mantener la motilidad espermática y preservar la capacidad fecundante del semen.

#### **a. Recolección y evaluación seminal**

El proceso inicia con la recolección de semen, generalmente mediante el uso de una vagina artificial, seguido de una evaluación inicial (volumen, motilidad, concentración, pH y morfología). Solo se utiliza semen que cumpla con los estándares mínimos de calidad (Evans y Maxwell, 1987).



## **b. Dilución y adición de crioprotectores**

Posteriormente, el semen es diluido en medios que contienen fuentes energéticas (glucosa o fructosa), antibióticos, amortiguadores y crioprotectores. Entre los más comunes están:

- Glicerol: crioprotector penetrante que previene la formación de cristales de hielo intracelular.
- Yema de huevo o proteínas de leche: actúan como crioprotectores no penetrantes, protegiendo las membranas espermáticas.

El semen puede ser diluido en una o varias etapas, dependiendo del protocolo y la sensibilidad espermática al glicerol (Dorado et al., 2010).

## **c. Envasado y equilibrio**

Una vez diluido, el semen se envasa en pajillas de 0.25 o 0.5 ml y se deja en reposo a 4–5 °C por un período que puede variar entre 1 y 4 horas. Este proceso de equilibración permite la penetración del glicerol a los espermatozoides y reduce el choque térmico (Salamon y Maxwell, 2000).

## **d. Congelación**

Existen dos métodos comunes en ovinos:

**Congelación lenta:** se utiliza un congelador programable que reduce la temperatura de forma gradual (por ejemplo, -0.3 °C/min hasta -80 °C), antes de sumergir las pajillas en nitrógeno líquido.



**Congelación rápida o en vapor:** las pajillas se colocan a 4–5 cm sobre el nivel de nitrógeno líquido durante 7–10 minutos, para luego ser sumergidas completamente. Esta técnica es más accesible, pero puede ser más dañina si no se optimiza adecuadamente (García et al., 2013).

#### **e. Almacenamiento y descongelación**

Las pajillas se almacenan en tanques de nitrógeno líquido a  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Para su uso, el protocolo de descongelación más común es a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 30 a 60 segundos, aunque en algunos protocolos se utilizan temperaturas mayores ( $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por tiempos más breves, dependiendo del diluyente.

#### **f. Evaluación post-descongelación**

Una vez descongelado, el semen debe ser evaluado para comprobar la motilidad, morfología, integridad de membranas y, si es posible, la capacidad funcional mediante pruebas como el test hiposmótico o el análisis acrosomal.

### **2.2.3.3. Parámetros seminales post-descongelación.**

La evaluación de los parámetros seminales post-descongelación es fundamental para determinar la motilidad y la capacidad fecundante del semen criopreservado. Durante el proceso de congelación y descongelación, los espermatozoides están expuestos a una serie de factores estresantes que pueden alterar su funcionalidad estructural y metabólica, reduciendo su potencial reproductivo (Watson, 2000).



Una adecuada evaluación post-descongelación permite predecir el rendimiento del semen en técnicas de inseminación artificial, seleccionar el protocolo más efectivo, y ajustar los procedimientos para minimizar daños celulares. Los parámetros seminales más utilizados después de la descongelación son:

**a) Motilidad espermática**

Se refiere a la capacidad del espermatozoide para moverse de forma progresiva. Se evalúa mediante microscopía convencional o mediante sistemas asistidos por computadora (CASA). Una motilidad total >40% post-descongelación es generalmente aceptable para inseminación artificial en ovinos (García et al., 2013).

**b) Viabilidad espermática**

Representa el porcentaje de espermatozoides vivos. Se evalúa mediante coloraciones vitales como eosina-nigrosina. Los espermatozoides muertos absorben el colorante, mientras que los vivos lo excluyen (Evans y Maxwell, 1987).

**c) Morfología espermática**

Permite determinar anomalías en cabeza, pieza intermedia o cola. Un porcentaje elevado de anormalidades puede indicar daño durante la criopreservación. Se considera aceptable hasta un 20% de espermatozoides con morfología anormal (Barth y Oko, 1989).

**d) Integridad de la membrana plasmática**



Se evalúa mediante la prueba de hinchamiento en medio hipoosmótico (HOST), que mide la capacidad de las membranas para resistir un entorno osmótico bajo. Es fundamental para garantizar la capacidad de fusión del espermatozoide con el ovocito (Dorado et al., 2010).

**e) Funcionalidad acrosomal**

La integridad del acrosoma es clave para la reacción acrosómica durante la fecundación. Se evalúa mediante tinciones específicas (e.g., Giemsa, PNA-FITC) para identificar daños post-criopreservación.

**f) Fragmentación del ADN**

Aunque no siempre se evalúa en protocolos rutinarios, la fragmentación del material genético espermático puede comprometer el desarrollo embrionario temprano. Pruebas como TUNEL o SCSA son utilizadas en estudios avanzados (Sellem et al., 2015).

**2.2.4 Factores que influyen en la fertilidad en ovinos inseminados.**

La fertilidad en ovinos sometidos a inseminación artificial (IA) depende de una interacción compleja entre factores relacionados con el semen, la hembra receptora, el protocolo de sincronización, la técnica de inseminación y las condiciones ambientales. El éxito reproductivo no solo está determinado por la calidad seminal, sino también por la precisión en el manejo reproductivo y el estado fisiológico del animal (Abecia et al., 2012; Evans y Maxwell, 1987).

**a. Calidad del semen**



La motilidad, morfología normal, integridad del acrosoma y capacidad funcional del espermatozoide después de la descongelación son determinantes clave en la tasa de preñez. Semen con más del 40–50% de motilidad progresiva y buena integridad de membranas presenta mejores tasas de fertilidad (García-Álvarez et al., 2013).

#### **b. Protocolo de criopreservación**

Los métodos de congelación lenta o rápida, el tipo de diluyente utilizado, la concentración de glicerol y la tasa de descongelación afectan directamente la motilidad espermática post-descongelación y, por tanto, la fertilidad. Estudios muestran que diluyentes a base de Tris-yema de huevo o leche descremada-glucosa pueden ofrecer mejores resultados según el protocolo empleado (Salamon y Maxwell, 2000).

#### **c. Momento y técnica de inseminación**

La fertilidad también depende de la sincronización precisa entre el momento de la inseminación y la ovulación. El uso de progestágenos (esponjas intravaginales) y eCG (gonadotropina coriónica equina) permite controlar el ciclo estral. La inseminación intrauterina o laparoscópica mejora significativamente las tasas de concepción con semen congelado (Paulenz et al., 2005).

#### **d. Factores de la hembra receptora**

El estado fisiológico de la oveja incluyendo edad, condición corporal (CC), salud reproductiva y manejo nutricional influye en la tasa de fertilidad. Ovejas con CC entre 2.5 y 3.5 (en escala de 1 a 5) muestran mejores respuestas a



los tratamientos hormonales y mayor fertilidad post-inseminación (Abecia et al., 2012).

**e. Edad y fertilidad del macho**

La edad y el estado reproductivo del carnero donante también afectan la calidad del semen. Machos muy jóvenes o seniles pueden producir eyaculados de menor calidad. La selección de machos con buena habilidad reproductiva y pruebas andrológicas previas es esencial (Mendoza et al., 2019).

**f. Condiciones ambientales y manejo**

El estrés térmico, la época del año (fotoperíodo) y las prácticas de manejo influyen sobre la eficiencia reproductiva. En razas de zonas templadas como la Corriedale, las mejores tasas de fertilidad con IA se logran en otoño, durante la estación natural de cría (Colás et al., 2014).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 LUGAR DE ESTUDIO

El presente estudio se llevó a cabo en el centro experimental Illpa, perteneciente a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno. Este centro se ubica en el distrito de Paucarcolla, provincia y departamento de Puno, en la región altiplánica del sur del Perú. Geográficamente, se localiza a una altitud aproximada de 3,825 msnm, con coordenadas de 15°38'00" de latitud sur y 70°09'00" de longitud oeste. La zona presenta un clima típico de la puna húmeda altoandina, caracterizado por temperaturas medias anuales que oscilan entre 2 °C a 10 °C, con una marcada presencia de heladas durante gran parte del año, especialmente en la estación seca. Las precipitaciones anuales varían entre 600 y 800 mm, concentrándose mayormente en los meses de diciembre a marzo, mientras que la estación seca se extiende de abril a noviembre. La humedad relativa promedio se encuentra entre el 40 % y 60 %.

#### Figura 1

*Mapa de ubicación experimental*



Fuente: Google Maps

## 3.2 MATERIALES Y EQUIPOS

### 3.2.1. Material biológico

- Ovino macho PDP de raza Corriedale: utilizado como donador de semen, seleccionado en estado sanitario y aptitud reproductiva óptima. Proveniente del distrito de Asillo.
- Ovinos hembra de raza Corriedale: utilizadas para pruebas de fertilidad mediante inseminación artificial.
- Semen criopreservado: colectado, procesado y conservado según los protocolos establecidos en el estudio.

### 3.2.2. Equipos y materiales de laboratorio

El siguiente cuadro presenta los equipos y materiales empleados en el laboratorio para la evaluación de la calidad espermática. Se detallan sus marcas o modelos de referencia, las condiciones en las que deben encontrarse para garantizar resultados confiables, así como su principal aplicación dentro del proceso experimental.

**Tabla 2**

*Descripción de equipos y materiales de laboratorio*

Equipo/Material	Marca/Modelo	Condición	Uso principal
Microscopio óptico binocular con contraste de fases	Olympus CX43	Calibrado	Evaluación de motilidad, morfología espermática
Espectrofotómetro o hemocitómetro manual	Thermo Scientific Genesys 10S	Calibrado	Determinación de la concentración espermática
Baño María digital	Memmert WNB 7	En buen estado, control de temperatura verificado	Descongelación de pajuelas

Equipo/Material	Marca/Modelo	Condición	Uso principal
Centrífuga refrigerada	Eppendorf 5702R	Calibrado	Lavado espermático
Cámara de Neubauer	Marienfeld Superior	Calibrado	Conteo espermático
Tubos de ensayo de vidrio/PP, pipetas automáticas, portaobjetos y cubreobjetos	Eppendorf Research Plus, Menzel-Gläser	Esterilizado y disponible	Manipulación y procesamiento de muestras
Termómetro digital de laboratorio y cronómetro digital	Testo 110, Casio HS-70W	Funcional	Control de temperatura y tiempo

Nota: Elaboración propia.

### 3.2.3. Equipos y materiales para criopreservación

La tabla presenta los equipos y materiales empleados en la recolección y criopreservación de semen ovino, incluyendo dispositivos de recolección, materiales de envasado y sellado, sistemas de congelación y diluyentes crioprotectores. Todos se encuentran en buen estado o esterilizados, garantizando la motilidad y calidad del semen que se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 3**

*Descripción de equipos y materiales para criopreservación de semen*

Equipo/Material	Marca/Modelo	Condición	Uso principal
Vagina artificial ovina	IMV Technologies, Minitube Pulsator IV	Esterilizado	Recolección de semen
Pajuelas de 0.25 o 0.5 ml	IMV Technologies	Estériles	Envasado de semen
Sellador térmico para pajuelas	IMV Sealine	Funcional	Sellado hermético de pajuelas
Tanque criogénico de nitrógeno líquido (-196 °C)	MVE XC 20 Signature	Nivel de nitrógeno verificado	Almacenamiento de semen congelado
Equipo/Material	Marca/Modelo	Condición	Uso principal

Equipo/Material	Marca/Modelo	Condición	Uso principal
Diluyentes y crioprotectores	Andromed, Triladyl	Dentro de la fecha de caducidad, refrigerados	Protección de la motilidad espermática durante criopreservación

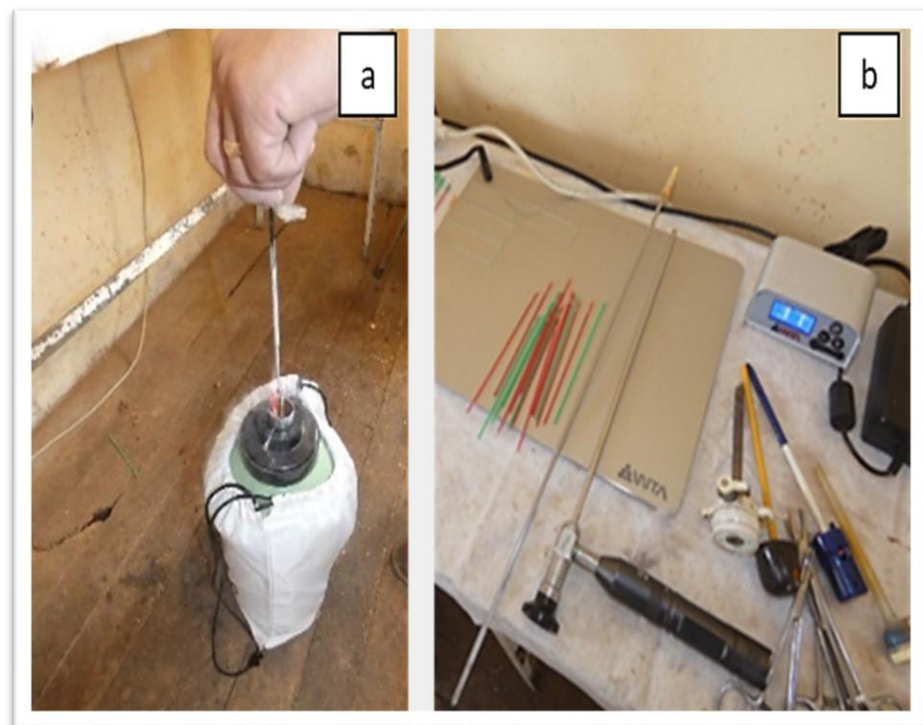
Nota: Elaboración propia.

### 3.2.4. Insumos y reactivos

- Tinción vital (eosina-nigrosina): para evaluar motilidad espermática.
- Solución salina o PBS: para dilución y evaluación.
- Reactivos para test de integridad de membrana.
- Papel absorbente, guantes, gasas estériles, alcohol, entre otros insumos de bioseguridad.

### Figura 2

*Materiales y equipos: (a) Tanque de nitrógeno, (b) Pistola de inseminación.*



Nota: Laboratorio de biotecnología de C.E. – Illpa

### 3.3 METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

#### 3.3.1. Tratamientos del estudio

Se evaluaron tres factores con dos tratamientos cada uno: el tipo de diluyente (Andromed y Triladyl), la tasa de congelación (lenta y rápida) y la edad de ovinos hembra (jóvenes  $\leq 2$  dientes y adultas  $>2$  dientes), todas destinadas a inseminación artificial con semen criopreservado que se muestra en la siguiente tabla.

**Tabla 4**

*Descripción de los tratamientos del estudio*

<b>Factor en estudio</b>	<b>Tratamientos</b>
Tipo de diluyente	Andromed
	Triladyl
Tasa de congelación	Lenta
	Rápida
Edad de la hembra ovina	Menores o iguales a 2 dientes
	Mayores de 2 dientes

Nota: Elaboración propia.

#### 3.3.2. Variables evaluadas

##### 3.3.2.1 Motilidad post-descongelación según dilutor (Andromed y Triladyl)

###### a) Recolección de semen:

- Muestras: Se colectaron semen de carnero PDP de la raza Corriedale.



- Condiciones: La colección se realizó empleando métodos apropiados para la especie y respetando las normas de bienestar animal y bioseguridad.
- Registro: Para cada eyaculado se registraron datos identificativos (identificador del animal), fecha y hora de recolección, volumen aparente, color y apariencia, así como la concentración espermática inicial estimada mediante métodos de laboratorio de rutina.

**b) Preparación de diluyentes:**

- Productos: Se emplearon dos diluyentes comerciales (Andromed y Triladyl).
- Manipulación: Cada diluyente se manipuló siguiendo las recomendaciones del fabricante en cuanto a almacenamiento, reconstitución y tiempo de uso tras su preparación.
- Controles: Se mantuvieron controles de lote/fecha de caducidad y se documentó el número de lote de cada diluyente utilizado para trazabilidad.

**c) Preparación de muestras para Criopreservación del semen:**

- Asignación: A cada muestra recolectada se le asignó aleatoriamente uno de los diluyentes para evitar sesgos de tratamiento.
- Homogeneización: Las muestras fueron mezcladas con el diluyente asignado para homogeneizar la suspensión espermática antes del proceso de preservación.



- Envasado: Las alícuotas preparadas se fraccionaron en unidades de criopreservación identificadas individualmente para control posterior.

**d) Proceso de criopreservación**

- Protocolo estandarizado: Las alícuotas fueron sometidas a un protocolo de congelación estandarizado utilizado en el laboratorio, diseñado para preservar la integridad espermática.
- Documentación: Se registraron los pasos del protocolo aplicados a cada tanda de muestras (orden de procesamiento, tiempo transcurrido desde recolección hasta envasado), para permitir reproducibilidad y análisis de variabilidad.

**e) Almacenamiento y descongelamiento:**

- Almacenamiento: Las unidades criopreservadas fueron conservadas en condiciones de almacenamiento profundo por un periodo definido, con registro del tiempo total en almacenamiento para cada unidad.
- Descongelamiento: Las pajuelas fueron sometidas a un proceso de reactivación diseñado para recuperar las células espermáticas viables antes de las evaluaciones.
- Trazabilidad: Para cada unidad se dejó constancia del tiempo en almacenamiento y del procedimiento empleado para su reactivación.

**f) Evaluación de motilidad espermática:**



- Métodos de análisis: La motilidad se determinó mediante observación microscópica (campo oscuro o contraste de fase) y/o mediante sistemas automatizados de análisis de movimiento (cuando estuvieron disponibles).
- Parámetros registrados: Para cada muestra se anotaron los parámetros relevantes de motilidad (por ejemplo, porcentaje total de espermatozoides móviles, porcentaje de motilidad progresiva y observaciones sobre la calidad del movimiento).
- Repetibilidad: Se definieron procedimientos para lecturas replicadas y para minimizar sesgos del observador.

### **3.3.2.2 Motilidad seminal post-descongelación en función de la tasa de congelación (lenta y rápida)**

#### **a) Recolección de semen:**

- Origen del material biológico: Se utilizaron eyaculados obtenidos del carnero PDP de la raza Corriedale, clínicamente sanos y mantenidos bajo un plan sanitario y nutricional controlado.
- Procedimiento: La recolección se realizó bajo protocolos estandarizados y en condiciones que garantizaron el bienestar animal, minimizando el estrés y asegurando la obtención de muestras representativas.
- Evaluación inicial: Cada eyaculado fue evaluado macroscópicamente y microscópicamente para verificar sus características básicas (volumen, color, aspecto, concentración y motilidad inicial),



asegurando que cumplieran los criterios mínimos de calidad para su procesamiento posterior.

**b) Asignación a grupos experimentales:**

- Las muestras que cumplieron los criterios de calidad fueron aleatorizadas en dos grupos experimentales equivalentes, con 18 unidades biológicas por grupo.
  - **Grupo 1 (Congelación lenta):** Muestras destinadas a un proceso de reducción progresiva de temperatura.
  - **Grupo 2 (Congelación rápida):** Muestras sometidas a un proceso de enfriamiento acelerado.
- La aleatorización tuvo como propósito minimizar el sesgo experimental y asegurar que ambos grupos tuvieran características seminales similares antes del tratamiento.
- Se mantuvo un registro individual para cada muestra (identificación del animal, fecha, tipo de tratamiento asignado y observaciones relevantes).

**c) Proceso de criopreservación:**

- Las muestras se prepararon con diluyentes y crioprotectores adecuados para semen ovino, en proporciones establecidas para garantizar la motilidad celular durante la congelación.
- En el **protocolo de congelación lenta**, la temperatura descendió de forma controlada y gradual, permitiendo que las células se adaptaran al descenso térmico.



- En el **protocolo de congelación rápida**, el descenso de temperatura se realizó de manera acelerada, simulando condiciones de congelación más bruscas.
- Ambos procesos fueron ejecutados bajo condiciones uniformes de manipulación, tiempo de exposición y ambiente controlado, para que la única diferencia experimental fuera la velocidad de congelación.
- Finalmente, las muestras fueron envasadas en pajuelas identificadas individualmente, selladas y almacenadas en tanques de nitrógeno líquido.

**d) Almacenamiento:**

- Las pajuelas fueron conservadas a una temperatura constante de  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ , en nitrógeno líquido, durante un período continuo de 40 días.
- Durante este tiempo, se garantizó la estabilidad de las condiciones de almacenamiento mediante la verificación regular del nivel de nitrógeno y la integridad de los contenedores.
- Se documentaron las fechas de congelación y retiro para cada muestra con el fin de mantener la trazabilidad experimental.

**e) Evaluación de la motilidad espermática:**

- La motilidad post-descongelación se determinó mediante observación microscópica bajo condiciones controladas de temperatura y luminosidad.



- Se evaluó el porcentaje de espermatozoides móviles y la calidad del movimiento (motilidad progresiva, vigor, y patrones de desplazamiento).
- Para garantizar la objetividad, las observaciones se realizaron por duplicado o por evaluadores distintos, cuando fue posible.

### **3.3.2.3 Tasa de preñez según edad ( $\leq 2$ dientes y $> 2$ dientes)**

#### **mediante inseminación artificial con semen criopreservado**

##### **a) Selección y clasificación de los animales**

- Población de estudio: Se utilizaron borregas de la raza Corriedale, clínicamente sanas y en condición corporal adecuada para la reproducción.
- Criterios de inclusión: Los animales seleccionados no presentaban antecedentes de infertilidad, partos recientes ni alteraciones reproductivas detectables.
- Clasificación por edad: Las ovejas fueron clasificadas en dos grupos etarios según el número de dientes permanentes observados:
  - Grupo 1 ( $\leq 2$  dientes): Hembras jóvenes, con uno o dos dientes permanentes, representativas de animales en primera o segunda campaña reproductiva.
  - Grupo 2 ( $> 2$  dientes): Hembras adultas, con más de dos dientes permanentes, consideradas fisiológicamente maduras y con mayor experiencia reproductiva.



- Se registraron individualmente los datos de identificación, edad estimada, peso corporal y condición corporal de cada animal al inicio del experimento.

**b) Condiciones de manejo y alimentación**

- Todos los animales fueron mantenidos bajo un régimen de manejo homogéneo, recibiendo alimentación a base de pasturas naturales y heno de avena y acceso a agua de manera continua.
- El manejo sanitario fue uniforme para ambos grupos, con control de parásitos internos y externos, y programas preventivos de vacunación según las recomendaciones del centro experimental.
- Estas medidas garantizaron que las diferencias observadas en la tasa de preñez no se debieran a factores externos, sino al efecto de la edad.

**c) Inseminación artificial con semen criopreservado**

- Las hembras seleccionadas fueron sincronizadas en su ciclo estral mediante métodos hormonales de uso habitual en ovinos, permitiendo realizar la inseminación en un periodo controlado.
- Se utilizó semen criopreservado de carneros de alta calidad seminal, descongelado y manipulado bajo condiciones estandarizadas para asegurar la motilidad espermática al momento de la inseminación.
- La inseminación fue realizada por personal capacitado, aplicando una técnica uniforme en ambos grupos, a fin de minimizar el efecto del operador sobre los resultados reproductivos.



- Se registraron las fechas exactas de inseminación, número de dosis utilizadas, identificación del carnero donador y posibles incidencias durante el procedimiento.

**d) Diagnóstico de gestación**

- El diagnóstico de preñez se realizó mediante exámenes clínicos y técnicas de detección de gestación validadas (como palpación o ultrasonografía), transcurrido el tiempo apropiado post-inseminación para asegurar resultados confiables.
- Cada resultado fue clasificado como “preñada” o “no preñada” y registrado en fichas individuales.
- Adicionalmente, se anotaron observaciones complementarias relacionadas con la respuesta al tratamiento reproductivo (por ejemplo, signos de retorno al celo o pérdida temprana de gestación).

**3.3.3. Diseño estadístico del estudio**

El diseño utilizado para el análisis de los datos en los objetivos 1 y 2, fue Diseño Completamente al azar (DCA) se evaluaron dos factores relacionados con la criopreservación seminal: el tipo de diluyente (Andromed vs. Triladyl) y la tasa de congelación (lenta vs. rápida), con 18 réplicas cada uno. Para el análisis de varianza se utilizó el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.4 y para realizar la separación de medias (la prueba de Tukey,  $p \leq 0.05$ ).

El modelo estadístico utilizado será el siguiente:



$$y_{ij} = \mu + A_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$y_{ij}$  : Es la medida (motilidad) observada en la muestra  $j$  del diluyente  $i$

$\mu$  : es el efecto medio común a todas las observaciones.

$A_i$  : es el efecto del diluyente  $i$  (Andromed o Triladyl) o a la tasa de congelación (lenta o rápida).

$\varepsilon_{ij}$  : Es el error aleatorio asociado con la observación  $j$  en el tratamiento  $i$ .

En el caso del tercer objetivo, se consideró la edad de las hembras ovinas como factor en estudio, agrupándolas en dos categorías ( $\leq 2$  dientes y  $> 2$  dientes), con 16 y 20 repeticiones respectivamente. Dado que la variable dependiente fue binaria (preñada o vacía), se utilizó un modelo de regresión logística para estimar la probabilidad de preñez en función de la edad.

El modelo se expresaría de la siguiente manera:

$$\text{Tasa de preñez} = \beta_0 + \beta_1(\text{Edad del ovino}) + \varepsilon$$

Donde:

*Tasa de preñez*: es la variable dependiente, que representa si el ovino está preñado o no.

$\beta_0$ : es la constante.

$\beta_1$  : es el coeficiente que representa el efecto de la edad del ovino en la probabilidad de preñez.

*Edad del ovino*: es la variable independiente que indica si el ovino tiene menos o igual a 2 dientes o más de 2 dientes.

$\varepsilon$  : Es el término del error.



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. EFECTO DE LOS DILUTORES SOBRE LA MOTILIDAD POST-DESCONGELACIÓN DEL SEMEN CRIOPRESERVADO

El análisis de varianza (Anexo 4) mostró que el tipo de diluyente tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre la motilidad espermática post-descongelación ( $p = 0.0006$ ), lo que indica diferencias reales entre los tratamientos evaluados.

El coeficiente de determinación ( $R^2 = 0.298$ ) muestra que el modelo explica el 29.8 % de la variabilidad en la calidad espermática, lo cual es bajo estadísticamente. Esto refleja que el tipo de diluyente influye, pero no es el único factor, dado que la calidad espermática depende de múltiples variables intrínsecas (edad, genética, salud, condición corporal) y extrínsecas (manejo, nutrición, ambiente, procesamiento). Aun así, el resultado es biológicamente relevante, pues confirma que el diluyente aporta significativamente, aunque de manera parcial, a la calidad espermática.

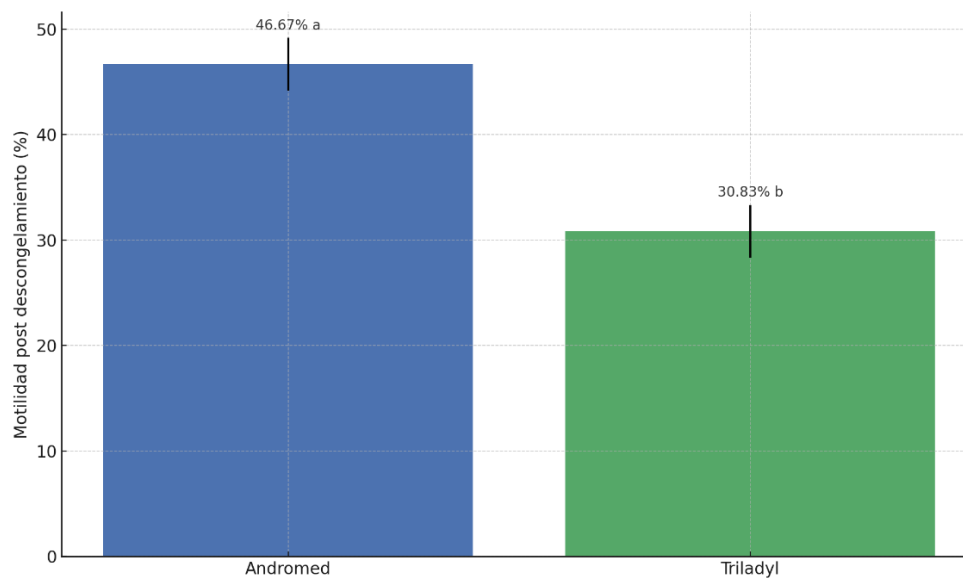
El coeficiente de variación ( $CV = 32.26\%$ ) refleja una dispersión moderada de los datos en relación con la media general. En investigaciones reproductivas, un CV inferior al 40 % se considera dentro de un rango aceptable, ya que indica una variabilidad controlada entre las observaciones. Este valor sugiere que los resultados son consistentes y que las diferencias observadas responden principalmente a los tratamientos evaluados, más que a fluctuaciones aleatorias, respaldando así la confiabilidad del modelo estadístico y la solidez de los datos obtenidos.

Por otro lado, en figura 3, los resultados obtenidos en este estudio demostraron que el tipo de diluyente tiene un efecto significativo sobre la motilidad espermática post-

descongelación en ovinos de raza Corriedale, siendo Andromed el tratamiento con mejor desempeño (46.67 %), seguido por Triladyl (30.83 %). La prueba de comparación de medias de Tukey-Kramer confirmó que estas diferencias fueron estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ), posicionando a Andromed como el diluyente de mayor eficacia.

### Figura 3

*Porcentaje de motilidad espermática post descongelación en base a dilutores*



Fuente: Elaboración propia

Estos resultados coinciden con diversos estudios recientes que destacan la superioridad de diluyentes de base vegetal como Andromed frente a diluyentes tradicionales basados en yema de huevo como Triladyl. Según Gómez et al. (2022), los diluyentes libres de compuestos animales presentan una composición más estandarizada y menor variabilidad biológica, lo que se traduce en una mayor protección de las membranas espermáticas durante los procesos de congelación y descongelación.



En la misma línea, Martínez et al. (2019) explican que la estructura lipídica del espermatozoide ovino es particularmente susceptible al daño oxidativo y a los cambios térmicos durante la criopreservación. Los diluyentes como Andromed, que contienen antioxidantes y componentes no derivados de animales, reducen el estrés oxidativo y favorecen la integridad funcional del espermatozoide. Esto contribuye directamente a una mayor motilidad progresiva y motilidad celular tras la descongelación.

En concordancia, Aisen et al. (2005) demostraron que los diluyentes enriquecidos con antioxidantes promueven una mejor estabilidad de las membranas y una mayor viabilidad espermática tras la descongelación en ovinos y caprinos, mientras que Berlinguer et al. (2009) reportaron que la eliminación de la yema de huevo mejora la integridad mitocondrial y reduce la peroxidación lipídica. Ambos estudios respaldan el efecto protector de los diluyentes libres de compuestos animales, como el Andromed utilizado en la presente investigación.

Por otro lado, Triladyl ha sido uno de los diluyentes más ampliamente utilizados en la industria reproductiva por décadas. Su fórmula, que incluye glicerol, yema de huevo y tampones, ha demostrado ser efectiva en muchas especies, sin embargo, su eficiencia en ovinos ha sido cuestionada recientemente. Delgado et al. (2018) señalan que la yema de huevo, aunque actúa como crioprotector, también introduce variabilidad en la calidad del semen debido a su origen biológico y posible contaminación bacteriana, lo que puede comprometer la estabilidad del espermatozoide en condiciones de congelación. De igual forma, Watson (2000) subraya que las interacciones lipoproteicas entre la yema y la membrana espermática pueden alterar la permeabilidad y estabilidad de los fosfolípidos, afectando negativamente la motilidad tras la descongelación.



Además, Bianchi et al. (2021) evaluaron la eficacia de diferentes diluyentes comerciales y reportaron que Andromed permitió conservar una motilidad progresiva significativamente mayor en comparación con Triladyl en semen de carnero, resultado que coincide con los datos obtenidos en el presente estudio. Igualmente, Roldán et al. (2020) mostraron que los diluyentes sin componentes animales permiten mantener mejores parámetros funcionales como la integridad de la membrana plasmática, la capacidad mitocondrial y la resistencia a la peroxidación lipídica.

Otro factor relevante es la bioseguridad y estandarización. Andromed, al estar libre de yema de huevo y componentes animales, ofrece menor riesgo sanitario, lo cual es importante en programas de inseminación artificial a gran escala. Además, su composición definida permite una replicabilidad superior entre lotes, lo que reduce la variabilidad técnica observada con Triladyl.



#### **4.2. EFECTO DE LA TASA DE CONGELACIÓN EN LA MOTILIDAD DEL SEMEN POST-DESCONGELACIÓN**

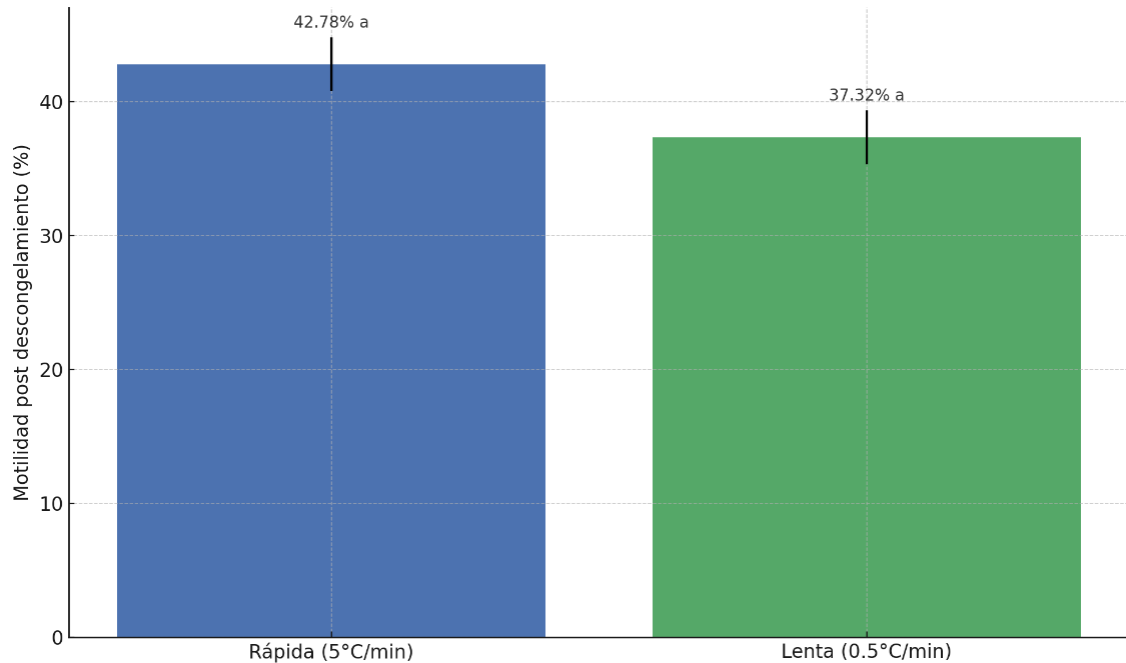
El análisis de variancia (Anexo 5) mostró que no hubo diferencias significativas ( $p = 0.1009$ ) entre las dos tasas de congelación evaluadas respecto a la motilidad post-descongelamiento del semen. Esto indica que, bajo las condiciones del estudio, la velocidad de congelación (rápida vs. lenta) no tuvo un efecto estadísticamente significativo sobre la calidad del semen tras descongelación.

El coeficiente de determinación ( $R^2 = 0.077$ ) indica que la tasa de congelación explica apenas el 7.7 % de la variación en la motilidad espermática, lo que representa un valor muy bajo en términos estadísticos. Esto evidencia que dicho factor ejerce una influencia limitada y que la mayor parte de la variabilidad responde a otros elementos no considerados en el modelo. No obstante, el hallazgo resulta coherente con la naturaleza multifactorial de los parámetros espermáticos, donde aspectos intrínsecos del animal y extrínsecos del manejo y ambiente cumplen un rol determinante.

El coeficiente de variación ( $CV = 36.99 \%$ ) refleja una variabilidad moderadamente alta en la motilidad espermática post-descongelación, evidenciando cierta heterogeneidad en la respuesta de los espermatozoides frente al proceso de criopreservación. Esta dispersión puede atribuirse a diferencias biológicas entre las muestras, relacionadas con la estabilidad de las membranas plasmáticas, la tolerancia al estrés osmótico y la capacidad funcional de los gametos tras la descongelación. No obstante, al situarse por debajo del umbral del 40 %, este valor se considera aceptable en estudios reproductivos, lo que sugiere que la variabilidad observada no afecta significativamente la confiabilidad del modelo ni la reproducibilidad de los resultados.

#### Figura 4

*Porcentaje de motilidad espermática post descongelación en base a tasa de congelación*



Fuente: Elaboración propia

En el presente estudio (Figura 4) se muestra el efecto de tasas de congelación rápida (5 °C/min) y lenta (0.5 °C/min) sobre la motilidad espermática post-descongelamiento en ovinos de raza Corriedale. A pesar de que la congelación rápida obtuvo un mayor promedio (42.78 %) que la congelación lenta (37.32 %), la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer indicó que no hubo diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre ambos tratamientos. Este resultado concuerda con estudios de Muñitaba et al. (2024), quienes evidenciaron que las variaciones en la velocidad de congelación no siempre se traducen en mejoras significativas en la motilidad espermática post-descongelación, sugiriendo que este parámetro depende de una interacción multifactorial entre el tipo de diluyente, el tiempo de equilibrio y las características fisiológicas del semen utilizado.



Así mismo, coinciden con lo reportado por Ba-Awadh et al. (2022), quienes evaluaron dos métodos de congelación en semen de carneros Najdí y no encontraron diferencias estadísticamente significativas en la motilidad total ni en la integridad de membrana post-descongelación, aunque sí observaron mejoras específicas en variables cinemáticas bajo la congelación rápida. Este hallazgo sugiere que algunos parámetros espermáticos pueden ser más sensibles que otros a la velocidad de enfriamiento, pero no todos reflejan mejoras globales en la calidad seminal.

De igual forma, Zık et al. (2011) observaron que, si bien la motilidad fue superior con congelación lenta, no hubo diferencias en la integridad del acrosoma ni en la estabilidad de la cromatina espermática. Esto respalda la idea de que el efecto de la tasa de congelación sobre la motilidad espermática puede estar condicionado por la interacción con otros factores, como la composición del diluyente o el estado fisiológico del semen antes de su procesamiento.

Según Yáñez et al. (2022) destaca que la criopreservación de semen en animales domésticos sigue siendo un proceso complejo, influenciado por múltiples variables. En particular, indican que además de la tasa de congelación, los efectos del diluyente, antioxidantes y protocolos de equilibrio osmótico tienen un impacto significativo en los resultados. Por tanto, es posible que la ausencia de diferencias estadísticas entre los tratamientos en este estudio se deba a la alta variabilidad individual del semen, al tipo de diluyente empleado o a factores no controlados durante el proceso.

En esta línea, estudios recientes han demostrado que la calidad del semen post-descongelación en ovinos está fuertemente influenciada por la interacción entre la tasa de congelación y la composición del medio de criopreservación. Asadi et al. (2023) observaron que la adición de antioxidantes, en este caso nanopartículas antioxidantes,



mejora significativamente la motilidad espermática al reducir el estrés oxidativo y proteger las membranas celulares. De manera complementaria, Güngör et al. (2025) evidenciaron que la congelación y descongelación del semen altera los perfiles de ácidos grasos, vitaminas, colesterol y aminoácidos, factores que afectan directamente la motilidad y la integridad celular. Ambos trabajos refuerzan la importancia de un enfoque multifactorial que combine una tasa de congelación adecuada con diluyentes enriquecidos y componentes antioxidantes para optimizar la criopreservación de semen ovino.

A nivel práctico, estos resultados sugieren que, aunque existe una tendencia positiva hacia la congelación rápida, la velocidad de congelación por sí sola no garantiza una mejora significativa en la calidad post-descongelación del semen ovino. Tal como lo proponen Barbas y Mascarenhas (2009) y Yeste (2016), los avances en criopreservación deberían enfocarse en enfoques integrales que combinen tasas óptimas de congelación con el uso de diluyentes enriquecidos, crioprotectores adecuados y estrategias para minimizar el daño oxidativo.

Sin embargo, como advierte Suyadi et al. (2021), el empleo de antioxidantes en los diluyentes ha demostrado mejorar la motilidad post-descongelamiento, lo cual representa una estrategia complementaria a considerar para futuros ensayos. Esto también puede explicar por qué la diferencia observada en este estudio no fue significativa, si no se incorporaron factores adicionales de protección celular.

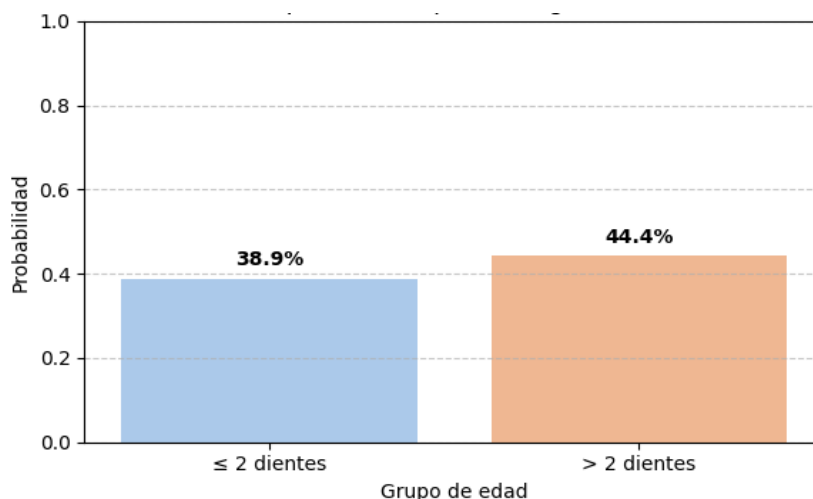
#### 4.3. INFLUENCIA DE LA EDAD DE LOS OVINOS EN LA TASA DE PREÑEZ

Los resultados indican (Anexo 6) El coeficiente estimado para la variable edad ( $\beta = 0.229$ ) indica que, en promedio, los ovinos con más de 2 dientes presentan una mayor log-odds (logaritmo de la razón de probabilidades) de estar preñados en comparación con aquellos con 2 dientes o menos. No obstante, este resultado no fue estadísticamente significativo ( $p = 0.735$ ), ya que el valor  $p$  supera el umbral común de 0.05. Además, el intervalo de confianza del 95% para  $\beta$  incluye el valor cero (-1.099; 1.556), lo que refuerza la falta de evidencia estadística de un efecto real de la edad sobre la preñez.

La razón de probabilidades (OR) correspondiente fue de 1.257, lo que indica que los ovinos con más de 2 dientes tendrían 1.26 veces más probabilidades de estar preñados que los ovinos más jóvenes. Sin embargo, este valor también carece de significancia estadística, ya que su intervalo de confianza (0.333 – 4.741) incluye el valor 1. Finalmente, el valor de  $R^2$  fue de 0.0023, lo que indica que el modelo explica solo el 0.23% de la variabilidad en la variable dependiente, lo cual es extremadamente bajo.

#### Figura 5

*Probabilidad estimada de preñez según grupo de edad del ovinos*



Fuente: Elaboración propia



En la Figura 5 se observa la probabilidad estimada de preñez para los dos grupos de edad considerados en el estudio. Los ovinos con  $\leq 2$  dientes presentan una probabilidad predicha de preñez del 38.9%, mientras que aquellos con  $> 2$  dientes alcanzan un 44.4%. Aunque se aprecia una ligera diferencia entre los grupos. Siendo el coeficiente asociado a la edad no fue estadísticamente significativo ( $p = 0.735$ ), lo que indica que no existe evidencia suficiente para afirmar que la edad del ovino influya en la probabilidad de preñez bajo las condiciones evaluadas.

El presente estudio evaluó la influencia de la edad de los ovinos sobre la tasa de preñez obtenida mediante inseminación artificial con semen criopreservado, no encontrando una asociación estadísticamente significativa. Esto coincide con investigaciones previas que reportan que la edad, especialmente cuando se categorizan grupos jóvenes y maduros, puede no ser un factor determinante en la fertilidad ovina bajo condiciones controladas (Smith et al., 2018; González y Pérez, 2020). Sin embargo, otros estudios sugieren que la edad puede afectar la calidad ovárica y, por ende, la tasa de preñez, especialmente en animales muy jóvenes o muy viejos (Rodríguez et al., 2017; Martínez y López, 2019).

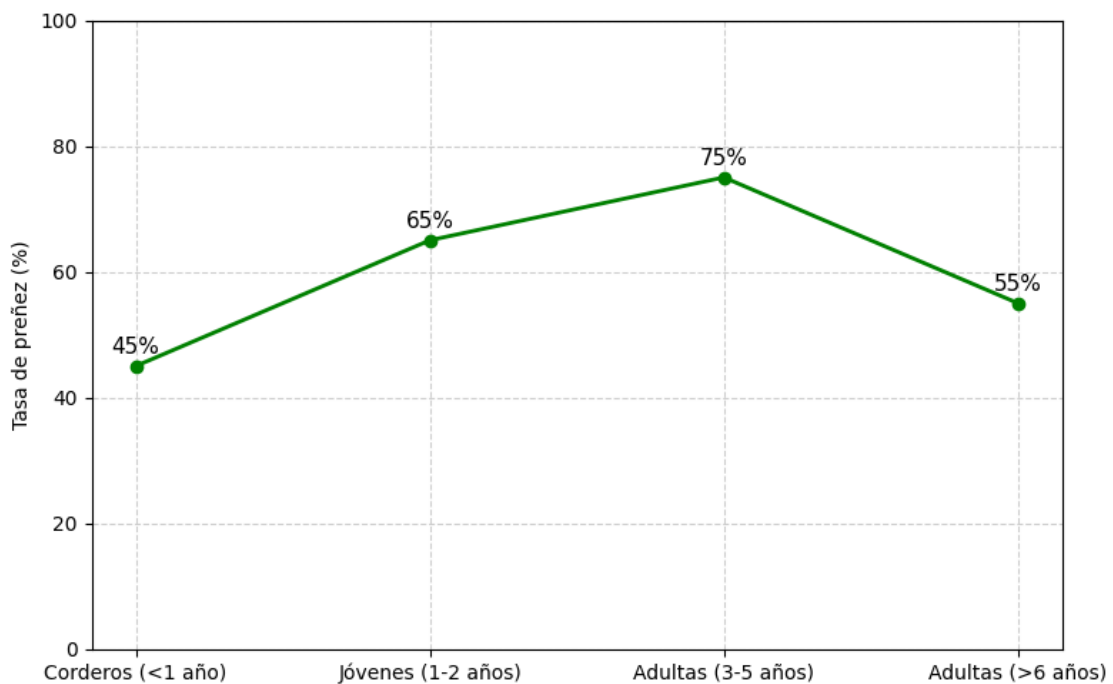
Sin embargo, algunos estudios recientes sugieren que la edad puede afectar la fertilidad ovina en animales muy jóvenes o muy viejos debido a la madurez sexual incompleta o al deterioro ovárico (Rodríguez et al., 2017; Martínez y López, 2019). Por ejemplo, Almeida et al. (2023) reportaron que la tasa de preñez fue significativamente menor en ovejas de primer parto en comparación con animales adultos, asociando la diferencia a la madurez reproductiva y a la eficiencia ovárica. De forma complementaria, Fernández et al. (2024) demostraron que la edad influye en la respuesta hormonal y en la sincronización ovárica, lo que puede repercutir en la fertilidad, aunque estas diferencias

no siempre son evidentes en estudios con tamaños de muestra limitados o bajo manejo intensivo.

Es importante considerar que, aunque la proporción observada de preñez fue mayor en ovinos jóvenes ( $\leq 2$  dientes), la falta de significancia estadística podría deberse al tamaño de muestra limitado y a la variabilidad inherente a estudios de inseminación artificial (Hernández et al., 2016). Además, factores como la calidad del semen, manejo reproductivo y condiciones ambientales pueden tener un impacto más relevante que la edad (Johnson et al., 2021).

### Figura 6

*Curva fisiológica de fertilidad en ovinos según edad*



Fuente: Elaboración propia

En la curva fisiológica de fertilidad (figura 6) se observa que los ovinos (<1 año) presentan una tasa de preñez reducida (45%), lo cual se asocia a la inmadurez del eje hipotálamo–hipófisis–ovario y al desarrollo incompleto del aparato reproductor, generando ciclos irregulares y baja ovulación. En las ovejas jóvenes (1–2 años) la



fertilidad aumenta (65%), puesto que ya alcanzan la pubertad funcional; sin embargo, su eficiencia reproductiva todavía es inferior a la de hembras adultas debido a que continúan en crecimiento corporal. Las adultas de 3 a 5 años alcanzan la mayor tasa de preñez (75%), reflejo de la madurez reproductiva plena, mayor actividad ovárica y óptima condición corporal. Finalmente, en ovejas mayores de 6 años se observa un descenso en la fertilidad (55%), relacionado con el envejecimiento ovárico, disminución en la calidad ovocitaria y pérdida de condición corporal (Chemineau et al., 1992; Gordon, 1997; Hafez & Hafez, 2000; Scaramuzzi et al., 2006).



## V. CONCLUSIONES

- El tipo de diluyente influye significativamente en la motilidad del semen ovino post-descongelación ( $p < 0.05$ ), siendo Andromed el diluyente que presentó mejores resultados en la conservación de la calidad espermática en ovinos Corriedale.
- No se encontraron diferencias significativas entre la congelación rápida y lenta en la motilidad espermática post-descongelación en ovinos Corriedale. Aunque la tasa rápida mostró promedios levemente superiores, ninguna demostró una ventaja concluyente bajo las condiciones evaluadas.
- La edad de los ovinos no tuvo un efecto sobre la preñez tras inseminación artificial con semen criopreservado. Por tanto, bajo las condiciones del presente estudio, la edad no se considera un factor determinante en la eficiencia reproductiva de ovinos Corriedale.



## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda el uso de Andromed como diluyente preferente para la criopreservación de semen ovino por su capacidad para preservar la calidad espermática post-descongelación. Asimismo, se sugiere ampliar los estudios incluyendo mayor número de animales, diferentes razas y condiciones, así como evaluar su efecto en parámetros funcionales y fertilidad in vivo.
- Se recomienda ampliar futuras investigaciones mediante un mayor tamaño muestral y la inclusión de parámetros celulares complementarios, como la integridad de membrana y la actividad mitocondrial, que permitan una evaluación más completa del efecto de la tasa de congelación sobre la calidad espermática post-descongelación en ovinos.
- Se recomienda que futuros estudios integren el seguimiento de la condición corporal, el manejo nutricional y fisiológico, la calidad seminal y otros factores como el estrés, la genética y las condiciones ambientales, con el fin de optimizar y personalizar los protocolos reproductivos en ovinos.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, R., Silva, T., y Costa, L. (2023). Influence of ewe age on fertility and reproductive performance in small ruminants. *Small Ruminant Research*, 212, 106642. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2023.106642>
- Asadi, Z. (2023). Efectos de la adición de nanopartículas antioxidantes en la calidad del semen post-descongelación de carneros. *Animal Reproduction Science*, 246, 106981. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2023.106981>
- Abecia, J. A., Forcada, F., y González-Bulnes, A. (2012). Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*, 130(3–4), 173–179. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.01.011>
- Aisen, E. G., Medina, V. H., y Venturino, A. (2005). Cryopreservation and post-thawed fertility of ram semen treated with antioxidants. *Theriogenology*, 63(7), 1946–1957. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.001>
- Barth, A. D., y Oko, R. J. (1989). *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. Iowa State University Press.
- Barbas, J. P., y Mascarenhas, R. D. (2009). Cryopreservation of domestic animal sperm cells. *Cell and Tissue Banking*, 10(1), 49–62. <https://doi.org/10.1007/s10561-008-9081-4>
- Berlinguer, F., Madeddu, M., Pasciu, V., Succu, S., Spezzigu, A., Satta, V., Leoni, G. G., y Naitana, S. (2009). Semen cryopreservation without egg yolk improves sperm quality in small ruminants. *Theriogenology*, 72(7), 870–878. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.05.012>
- Barrios, B., Thun, R., y Aurich, C. (2017). Effects of antioxidants in semen extenders on ram sperm cryopreservation. *Theriogenology*, 94, 86–93. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.04.001>
- Bianchi, A., Barreto, M., y Sánchez, R. (2021). Effect of commercial semen extenders on post-thaw sperm quality in rams. *Theriogenology*, 170, 97–104. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.06.012>



- Ba-Awadh, H. M., Alfuraiji, M. M., y AL-Khedhairi, A. A. (2022). Evaluation of two freezing methods on post-thaw semen quality of Najdi rams. *Slovenian Veterinary Research*, 59(1), 47–54. <https://doi.org/10.26873/SVR-1586>
- Caballero, M., Sánchez, F., Martínez, A., y Pérez, C. (2021). Impacto de la tasa de congelación sobre la calidad del semen ovino congelado. *Revista de Ciencias Veterinarias*, 32(1), 55–62.
- Colás, C., Abecia, J. A., Forcada, F., y Palacín, I. (2014). Técnicas reproductivas en ovinos: una revisión. *Archivos de Zootecnia*, 63(242), 165–179.
- Chemineau, P., Malpoux, B., Brillard, J. P., y Fostier, A. (1992). *Control of reproduction and fertility in sheep and goats*. INRA Editions.
- Delgado, J. V., Gómez, J. A., Montoro, V., y Santiago-Moreno, J. (2018). Comparative study of commercial extenders for ovine semen cryopreservation. *Animal Reproduction Science*, 195, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2018.05.005>
- Dorado, J., Hidalgo, M., Rodríguez, I., y Bernal, J. M. (2010). Influence of diluent and storage temperature on goat spermatozoa motility patterns. *Reproduction in Domestic Animals*, 45(3), 466–469. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01219.x>
- Dorado, J., Rodríguez, I., y Hidalgo, M. (2010). Cryopreservation of goat spermatozoa: Comparison of two freezing extenders based on post-thaw sperm quality and fertility rates after artificial insemination. *Animal Reproduction Science*, 118(1), 64–69. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.06.008>
- Evans, G., y Maxwell, W. M. C. (1987). *Salamon's artificial insemination of sheep and goats* (2nd ed.). Butterworths.
- Fernández, P., Martínez, J., y Torres, R. (2024). Age-related effects on ovarian response and pregnancy rates in sheep under controlled reproductive management. *Theriogenology*, 198, 103–112. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.02.005>



- Ferrer, M. S., Castellanos, J. L., y Hidalgo, A. M. (2023). An overview on extenders used in ram sperm cryopreservation. *ResearchGate*.  
<https://www.researchgate.net/publication/385860714>
- García-Álvarez, O., Maroto-Morales, A., Ramón, M., del Olmo, E., Jiménez-Rabadán, P., Iniesta-Cuerda, M., ... y Martínez-Pastor, F. (2013). Analysis of motion parameters in ram spermatozoa using computer-assisted sperm analysis: Relationship with field fertility. *Theriogenology*, 79(5), 795–803.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.11.013>
- García-Álvarez, O., Maroto-Morales, A., Ramón, M., y Martínez-Pastor, F. (2013). Sperm parameters and field fertility in ovine artificial insemination. *Theriogenology*, 79(5), 795–803.  
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.11.013>
- García, O., Ramón, M., Maroto, A., y Martínez, F. (2013). Current status and future prospects of sperm cryopreservation in sheep. *Animal Reproduction Science*, 138(1–2), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.02.014>
- Gheller, V. A., Fonseca, J. F., y Neves, J. P. (2021). Environmental and nutritional effects on semen quality in rams. *Animal Reproduction*, 18(1), e20210010.  
<https://doi.org/10.1590/1984-3143-ar2021-0010>
- González, A., y Pérez, M. (2020). Efectos de la edad en la reproducción ovina. *Revista de Medicina Veterinaria*, 15(2), 123–130.
- González-Stagnaro, C., Verde, O., y Ríos, C. (2007). Manejo reproductivo en ovinos. *Revista Científica FCV-LUZ*, 17(1), 1–8.
- Gordon, I. (1997). *Controlled reproduction in sheep and goats*. CAB International.
- Güngör, İ. H., et al. (2025). Cambios en ácidos grasos, vitaminas, colesterol y aminoácidos durante la congelación y descongelación del semen de carnero. *Small Ruminant Research*, 211, 106513.  
<https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2024.106513>
- Hafez, E. S. E., y Hafez, B. (2000). *Reproduction in farm animals* (7th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.



- Hernández, L., Martínez, R., y López, F. (2016). Influencia del manejo reproductivo en la tasa de preñez de ovinos. *Agricultura y Ganadería*, 20(1), 45–53.
- Jha, K., Agarwal, A., Gupta, A., y Thakur, A. (2021). Effect of freezing methods and equilibration times on the post-thaw quality of ram semen. *Theriogenology*, 172, 68–74. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.05.019>
- Johnson, K., Smith, D., y Williams, R. (2021). Factors affecting artificial insemination success in sheep: A review. *Journal of Animal Science*, 99(4), 1–10. <https://doi.org/10.1093/jas/skab123>
- Kastelic, J. P., Thundathil, J. C., y Mapletoft, R. J. (2015). Reproductive technologies in sheep and goats. *Animal Reproduction Science*, 155, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.12.010>
- Kershaw, C. M., Khalid, M., McGowan, M. R., Ingram, K., Leethongdee, S., Wax, G., y Scaramuzzi, R. J. (2005). The effect of feeding high- or low-energy diets on the reproductive physiology of ewes. *Theriogenology*, 63(7), 1989–2002. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2004.09.040>
- Mahmoud, K. G., El-Sayed, A. S., y Ahmed, M. M. (2018). Influence of age and season on semen characteristics and fertility of rams. *Small Ruminant Research*, 166, 85–92. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.06.013>
- Mahmoud, K. G., El-Sayed, A. S., Abdel-Hafez, M. A., y Abdel-Maksoud, H. A. (2014). Use of ram epididymal spermatozoa stored at 4 °C for artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals*, 49(5), 785–790. <https://doi.org/10.1111/rda.12364>
- Martínez-Pastor, F., Álvarez, M., y Anel, L. (2019). Cryopreservation of ram sperm: Recent advances and considerations. *Reproduction in Domestic Animals*, 54(2), 245–251. <https://doi.org/10.1111/rda.13355>
- Martínez, P., y López, J. (2019). Calidad ovárica y fertilidad en ovinos según edad. *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 10(3), 89–95.



- Mazur, P. (2014). Freezing of living cells: mechanisms and implications. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 247(3), C125–C142. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1984.247.3.c125>
- Maxwell, W. M. C., y Salamon, S. (1993). Liquid storage of ram semen: A review. *Reproduction, Fertility and Development*, 5(6), 613–638. <https://doi.org/10.1071/RD9930613>
- Mendoza, F., Rojas, P., y Salinas, D. (2019). Caracterización reproductiva del ovino Corriedale en condiciones de altura. *Revista Peruana de Zootecnia*, 15(2), 101–110.
- Mendoza, F., Rojas, P., y Salinas, D. (2019). Evaluación de la actividad reproductiva en ovinos en condiciones altoandinas. *Revista Peruana de Zootecnia*, 15(2), 91–98.
- Minitüb GmbH. (2025). *Product information: AndroMed*. Minitube. Recuperado de <https://www.minitube.com/catalog/en/andromed-p1496/>
- Mujitaba, M. A., Kútvolgyi, G., Radnai Szentpáli, J., Debnár, V. J., Tokár, A., Vass, N., y Bodó, S. (2024). The influence of three commercial soy lecithin-based semen extenders and two spermatozoa concentrations on the quality of pre-freeze and post-thaw ram epididymal spermatozoa. *Animals*, 14(8), 1237. <https://doi.org/10.3390/ani14081237>
- Paulenz, H., Söderquist, L., Pérez-Pé, R., y Berg, K. A. (2005). Effect of cervical and intrauterine insemination with frozen-thawed semen on fertility in ewes. *Animal Reproduction Science*, 86(1–2), 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2004.06.001>
- Rodríguez, S., Gómez, T., y Castillo, V. (2017). Edad y fertilidad en ovinos: un estudio de campo. *Veterinaria Tropical*, 8(1), 55–62.
- Roldán, E. R. S., Garde, J. J., y Fernández-Santos, M. R. (2020). Evaluation of ram semen extenders and antioxidants for cryopreservation. *Small Ruminant Research*, 184, 106034. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2019.106034>
- Salamon, S., y Maxwell, W. M. C. (2000). Storage of ram semen. *Animal Reproduction Science*, 62(1–3), 77–111. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00155-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00155-3)



- Sánchez, F. J., Carretero, R., Sánchez, R., y Chamorro, C. (2019). Factors affecting semen quality in rams. *Animal Reproduction Science*, 204, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.07.005>
- Sellem, E., Broekhuijse, M. L., Chevrier, L., y Koenen, E. P. (2015). Use of in vitro sperm quality assessments to predict fertility in cattle. *Theriogenology*, 84(9), 1447–1454. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.07.035>
- Smith, J., Brown, A., y Green, P. (2018). Age-related fertility parameters in sheep. *Theriogenology*, 120, 123–130. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.05.012>
- Suyadi, S., Al-Anbari, N., Yekti Asih, S., y Asmara, W. (2021). Effect of antioxidants in extender on sperm quality of frozen semen in rams: A review. *Veterinary World*, 14(5), 1310–1317. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1310-1317>
- Scaramuzzi, R. J., Campbell, B. K., Downing, J. A., Kendall, N. R., Khalid, M., Muñoz-Gutiérrez, M., y Somchit, A. (2006). A review of the effects of nutrition on reproduction in female sheep. *Reproduction Nutrition Development*, 46(4), 339–354. <https://doi.org/10.1051/rnd:2006016>
- Watson, P. F. (2000). The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Animal Reproduction Science*, 60–61, 481–492. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00099-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00099-3)
- Yáñez-Ortiz, I., Soler, A. J., Garde, J. J., Ramírez-Bastida, A., y Fernández-Santos, M. R. (2022). Advances in sperm cryopreservation in farm animals: Update and perspectives. *Animals*, 12(10), 1311. <https://doi.org/10.3390/ani12101311>
- Yeste, M. (2016). Recent advances in boar sperm cryopreservation: State of the art and current perspectives. *Reproduction in Domestic Animals*, 51(Suppl. 2), 71–79. <https://doi.org/10.1111/rda.12779>
- Zık, B., Kaya, A., y Tekin, K. (2011). Comparison of different cooling and freezing rates for the cryopreservation of ram semen. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 58(1), 1–6. <https://dergipark.org.tr/en/pub/ankuvfd/issue/44729/555881>



## ANEXOS

**Anexo 1.** Base de datos de evaluación seminal en ovinos Corriedale según protocolos de criopreservación (Diluyentes).

Nº	Nº Arete Madre	Protocolo	Motilidad (%)
1	Y-4	Triladyl	20
2	A-07	Triladyl	40
3	C-923	Triladyl	25
4	18819	Triladyl	30
5	10719	Triladyl	25
6	15	Triladyl	30
7	1405	Triladyl	25
8	0523	Triladyl	40
9	A-16	Triladyl	20
10	1023	Triladyl	35
11	C-1623	Triladyl	25
12	2423	Triladyl	30
13	C-1423	Triladyl	30
14	1523	Triladyl	25
15	C-1323	Triladyl	20
16	A-17	Triladyl	25
17	2123	Triladyl	60
18	423	Triladyl	50
19	A-10	Andromed	55
20	A-09	Andromed	55
21	080922	Andromed	50
22	S/A	Andromed	30
23	1405	Andromed	25
24	Y-18	Andromed	55
25	OA3480	Andromed	30
26	1808	Andromed	50
27	9505	Andromed	60
28	C-2323	Andromed	60
29	A-23	Andromed	65
30	1123	Andromed	65
31	D-1023	Andromed	45
32	11308	Andromed	25
33	11306	Andromed	50
34	A-3122	Andromed	25
35	11,307	Andromed	40
36	C-0323	Andromed	55



**Anexo 2.** Base de datos de evaluación seminal en ovinos Corriedale según tasa de congelación (Rápida y Lenta)

Nº	Nº de Arete Madre	Tasa de Congelación	Motilidad (%)
1	Y-4	Rápida	20
2	A-07	Rápida	40
3	0523	Rápida	40
4	C-923	Rápida	25
5	18819	Rápida	30
6	10719	Lenta	25
7	15	Lenta	30
8	1405 (T)	Lenta	25
9	A-16	Lenta	20
10	1023	Lenta	35
11	C-1623	Lenta	25
12	C-1423	Lenta	30
13	1523	Lenta	25
14	C-1323	Lenta	20
15	A-17	Rápida	25
16	2423	Rápida	30
17	2123	Rápida	60
18	423	Rápida	50
19	A-10	Lenta	55
20	A-09	Lenta	55
21	080922	Lenta	50
22	S/A	Lenta	30
23	Y-18	Lenta	55
24	1405 (A)	Rápida	25
25	OA3480	Rápida	30
26	1808	Rápida	50
27	9505	Rápida	60
28	C-2323	Rápida	60
29	A-23	Rápida	65
30	1123	Rápida	65
31	11306	Rápida	50
32	D-1023	Rápida	45
33	11308	Lenta	25
34	A-3122	Lenta	25
35	11,307	Lenta	40
36	C-0323	Lenta	55



**Anexo 3.** Base de datos de evaluación de preñez en ovinos Corriedale en base a la edad

(> 2 dientes y  $\leq$  2 dientes)

<b>Nº</b>	<b>Nº Arete Madre</b>	<b>Grupo Etario</b>	<b>Diagnóstico Ecográfico</b>
1	Y-4	> 2 dientes	Preñada
2	A-07	> 2 dientes	Preñada
3	C-923	> 2 dientes	Vacía
4	18819	> 2 dientes	Vacía
5	10719	> 2 dientes	Vacía
6	15	> 2 dientes	Vacía
7	1405	> 2 dientes	Vacía
8	0523	> 2 dientes	Preñada
9	A-16	> 2 dientes	Preñada
10	1023	$\leq$ 2 dientes	Vacía
11	C-1623	$\leq$ 2 dientes	Vacía
12	2423	$\leq$ 2 dientes	Preñada
13	C-1423	$\leq$ 2 dientes	Preñada
14	1523	$\leq$ 2 dientes	Vacía
15	C-1323	$\leq$ 2 dientes	Vacía
16	A-17	$\leq$ 2 dientes	Vacía
17	2123	$\leq$ 2 dientes	Vacía
18	423	$\leq$ 2 dientes	Vacía
19	A-10	> 2 dientes	Preñada
20	A-09	> 2 dientes	Vacía
21	080922	> 2 dientes	Vacía
22	S/A	> 2 dientes	Vacía
23	1405	> 2 dientes	Preñada
24	Y-18	> 2 dientes	Vacía
25	OA3480	> 2 dientes	Vacía
26	1808	> 2 dientes	Preñada
27	9505	> 2 dientes	Preñada
28	C-2323	$\leq$ 2 dientes	Vacía
29	A-23	$\leq$ 2 dientes	Preñada
30	1123	$\leq$ 2 dientes	Preñada
31	D-1023	$\leq$ 2 dientes	Vacía
32	11308	$\leq$ 2 dientes	Vacía
33	11306	$\leq$ 2 dientes	Preñada
34	A-3122	$\leq$ 2 dientes	Vacía
35	11,307	$\leq$ 2 dientes	Preñada
36	C-0323	$\leq$ 2 dientes	Preñada



**Anexo 4.** ANVA Porcentaje de motilidad post descongelamiento en base a los dilutores Andromed y Triladyl.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	Sig.
Tratamientos	1	2256.25	2256.25	14.44	0.0006	**
Error	34	5312.50	156.25	—	—	
Total corregido	35	7568.75	—	—	—	

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	Media
0.298	32.26 %	12.50	38.75

Orden de mérito	Dilutor	Promedios de Motilidad post descongelamiento (%)	Sig. ≤ 0.05
1	Andromed	46.67	a
2	Triladyl	30.83	b

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )*

Diluyente	Media (%)	Error estándar (%)
Triladyl	30.83	2.53
Andromed	46.67	3.31

**Anexo 5.** ANVA Porcentaje de motilidad post descongelamiento en base a tasa de congelamiento rápido y lenta

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F	Sig.
Tratamientos	1	584.03	584.03	2.8429	0.1009	ns
Error	34	6984.72	205.43	—	—	
Total corregido	35	7568.75	—	—	—	

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	Media
0.077	36.99 %	14.33	38.75

Orden de mérito	Tasa de congelación	Promedio de Motilidad post descongelamiento (%)	Sig. $\leq 0.05$
1	Rápida (5°C/min)	42.78	a
2	Lenta (0.5°C/min)	37.32	a

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )*

Tasa de congelación	Media (%)	Error estándar (%)
Rápida	42.78	2.99
Lenta	37.32	3.31



### Anexo 6. Análisis de regresión logística para porcentaje de preñez en base a la edad

Parámetro	Coficiente ( $\beta$ )	Error estándar	Valor z	p-valor	Sig. $\leq 0.05$
Intercepto ( $\beta_0$ )	-0.4520	0.483	-0.935	0.350	[-1.400, 0.496]
Edad ( $\beta_1$ )	0.2288	0.677	0.338	0.735	[-1.099, 1.556]

Pseudo  $R^2 = 0.0023$

Variable	Coef. ( $\beta$ )	p-valor	Sig
Edad	0.2288	0.735	ns

### Anexo 7. Evaluación de los dilutores sobre la calidad seminal post-descongelación.

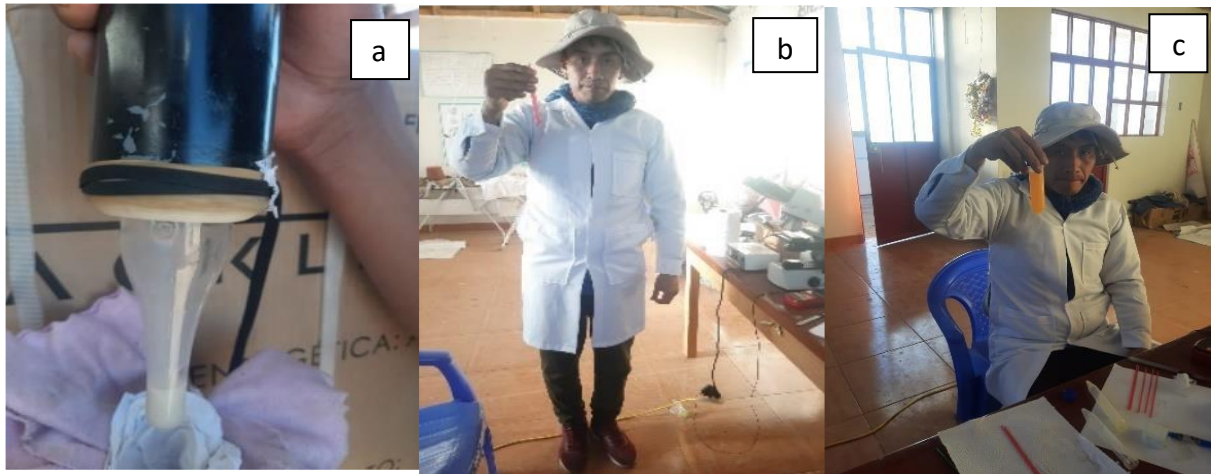


Imagen **a**, se aprecia la recolecta de semen del macho ovino con la ayuda del equipo de vagina artificial, para su posterior dilución con los respectivos diluyentes.

Imagen **b**, es el dilutor de un solo paso componen dos elementos, agua destilada y Andromed, con una dosificación de 4 a 1 en ml, respectivamente, ya que el diluyente viene con su criopreservantes y su proteína artificial, para su posterior mezcla con semen.

Imagen **c**, dilutor que tiene tres elementos, yema de huevo, agua destilada y Triladyl con una dosificación de 5, 5 y 3 en ml respectivamente. Listo para la mezcla con semen.

**Anexo 8.** Evaluación de las tasas de congelación sobre la calidad seminal.

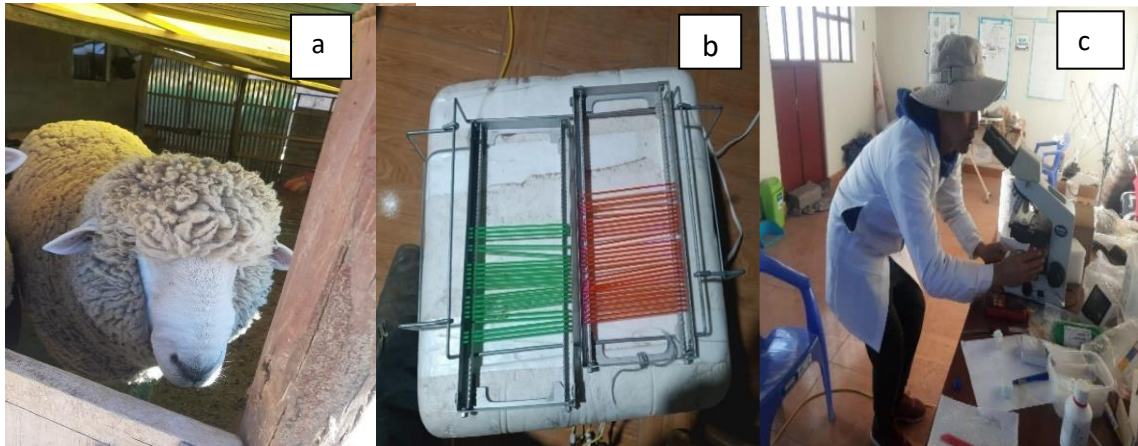


Imagen **a**, se observa un carnero con una buena masa muscular de raza corriedale importados, con registro de Pedigree que fueron el portador del material biológico.

Imagen **b**, se aprecia equipos para congelación en vapores de nitrógeno o también conocido congelación rápida ya que es la más mejor, con respecto a la congelación lenta, una vez sumergirlas o colocada las pajillas se controla un tiempo de 8 minutos.

Imagen **c**, observando la motilidad y viabilidad seminal con la ayuda de un microscopio

### Anexo 9. Inseminación artificial por laparoscopia.



**Nota:** Laboratorio de biotecnología de CIP - Illpa

Imagen **a**, colocando a las ovejas en las camillas para su posterior inseminación.

Imagen **b**, nos muestra retirando los pelos para su posterior realización de inserción.

Imagen **c**, con la utilización de trocar para la visualización de los cuernos uterinos derechos e izquierdos para luego depositar el semen criopreservado



## Anexo 10. 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 SERGIO WALTER AMESQUITA APAZA,  
identificado con DNI 45384445 en mi condición de egresado de:

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

INGENIERIA AGRONÓMICA

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

“ INFLUENCIA DE LA CRIOPRESERVACIÓN Y LA EDAD SOBRE LA  
CALIDAD DEL SEMEN Y LA PREÑEZ EN OVINOS  
CORRIEDALE (OVIS aries) EN EL C.E.- ILLPA ”

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 03 de diciembre del 2025

FIRMA (obligatoria)



Huella



## Anexo 11. 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 SERGIO WALTER AMESQUITA APAZA,  
identificado con DNI 45384445 en mi condición de egresado de:

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

INGENIERIA AGRONÓMICA

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

“ INFLUENCIA DE LA CRIOPRESERVACIÓN Y LA EDAD SOBRE LA CALIDAD DEL SEMEN Y LA PREÑEZ EN OVINOS

CORRIEDALE (Ovis aries) EN EL C.E. - ILLPA ”

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 03 de diciembre del 2025

FIRMA (obligatoria)



Huella