

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MÉDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMPARACION DE LA TASA DE PREÑEZ  
DE DOS MÉTODOS DE INSEMINACIÓN ARTIFICIAL  
EN OVEJAS DE PELO EN EL TRÓPICO.

TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

PRESENTA

**MARIANA VALDÉS AGUERREBERE**

ASESORES:

MVZ. MPA. HÉCTOR BASURTO CAMBEROS

MVZ. CRISTINO CRUZ LAZO

México, D.F.

2013



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIA**

### **A Dios.**

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

### **A mis papás Carmiña y Alfonso.**

Por haberme apoyado en todo momento, con sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada por su amor incondicional.

### **A mis familiares.**

A mis hermanos Pau, Fran y Consi, los cuales me han enseñado lo que es ser una familia, y de los cuales he aprendido aciertos y errores, a mis abuelitos en especial a mi abuelita Coco por todo su cariño, a mi abuelo Alfonso por sus pláticas y a todos mis tíos, primos, cuñados y suegros que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis. ¡Gracias a ustedes!

### **A mis amigos.**

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos, por compartir buenos y malos momentos.

## **AGRADECIMIENTOS**

Debo agradecer de manera especial y sincera al MVZ. MPA. Héctor Basurto Camberos por aceptarme para realizar esta tesis bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas ha sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como MVZ. Las ideas propias, siempre enmarcadas en su orientación y rigurosidad, han sido la clave del buen trabajo que hemos realizado juntos, el cual no se puede concebir sin su siempre oportuna participación. Le agradezco también el haberme facilitado los medios suficientes para llevar a cabo esta tesis.

Quiero expresar también mi más sincero agradecimiento al MVZ. Cristino Cruz Lazo por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de esta tesis. Debo destacar por encima de todo su disponibilidad y paciencia que hizo de este trabajo toda una vivencia inolvidable. No cabe duda que su participación ha enriquecido el trabajo realizado, tanto en conocimientos como con experiencias personales. También le agradezco por facilitarme los medios suficientes para llevar a cabo las actividades propuestas durante mi estancia.

Agradezco al Dr. Marco Antonio Hidalgo Mendoza (Tecnogen) y al MVZ Fernando Lozano por la donación de los dispositivos RamGo, así como por la orientación que me brindaron. Y también quiero agradecer al MVZ Octavio Mejía por su valiosa orientación y capacitación en evaluación de semen e inseminación en ovinos.

# CONTENIDO

	<u>Página</u>
<b>RESUMEN.....</b>	<b>5</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>6</b>
<b>Revisión de literatura.....</b>	<b>10</b>
<b>Justificación.....</b>	<b>20</b>
<b>Hipótesis.....</b>	<b>20</b>
<b>Objetivo.....</b>	<b>20</b>
<b>MATERIAL y MÉTODOS.....</b>	<b>21</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>27</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>29</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>34</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>35</b>

## RESUMEN

VALDÉS AGUERREBERE MARIANA. Comparación de la tasa de preñez de dos métodos de inseminación artificial cervical en ovejas de pelo en el trópico. (bajo la dirección de: MVZ, MPA Héctor Basurto Camberos y MVZ Cristino Cruz Lazo)

Con el objetivo de comparar la tasa de preñez utilizando dos métodos de inseminación artificial (RamGo y pipeta “hechiza”), se utilizaron 58 ovejas Pelibuey de 2 a 6 años de edad, bajo un sistema en pastoreo rotacional en praderas con pasto Estrella Santo Domingo (*Cynodon nlemfuensis*) y complementadas con pulpa de cítricos (500g/cabeza/día). El semen se colectó de dos sementales Dorper blanco de 2-4 años de edad, estabulados y alimentados con pasto henificado y concentrado (16%PC) a razón de 250g/cabeza/día. Se detectó el celo diariamente, utilizando sementales con mandil. Las ovejas detectadas en celo se dividieron aleatoriamente en 2 grupos: inseminación con RamGo (n=29) e inseminación con pipeta “hechiza” (n=29). La inseminación artificial se realizó una sola vez, una hora después de detectado el celo, utilizando una dosis de 0.25 mL de semen diluido en leche pasteurizada “light” y yema de huevo, a razón de 3:1, respectivamente; con un contenido promedio de  $200 \times 10^6$  espermatozoides. El retorno al estro se observó entre los días 12-35 post-servicio. El diagnóstico de la gestación, se realizó por ultrasonografía transabdominal, a los 40 días post-servicio. La tasa de retorno al estro observada fue de 48% y 45% para RamGo y pipeta “hechiza”, respectivamente; sin que las diferencias fueran estadísticamente significativas ( $P > 0.05$ ). La tasa de preñez con la metodología de RamGo fue del 52% y con pipeta “hechiza” del 55%, sin que las diferencias fueran estadísticamente significativas ( $P > 0.05$ ). La fertilidad para los sementales 1 y 2 fue 44% y 65%, respectivamente, la diferencia no fue estadísticamente significativa ( $P > 0.05$ ). Se concluye que la tasa de preñez no fue afectada por el método de inseminación; por lo cual, la elección del método de inseminación dependerá de la accesibilidad y costo de cada uno. Se sugiere realizar estudios que demuestren la relación entre el sitio de deposición del semen y la tasa de preñez de las ovejas.

## INTRODUCCIÓN

La ovinocultura se ha desarrollado principalmente a través de la aparición de nuevos productos con visión empresarial y voluntad de cambios hacia formas más eficientes de producción. Parte de estos cambios son la aparición de nuevas formas o sistemas de producción, que incluyen tecnologías de reciente utilización, tales como: explotaciones de ciclo completo con aplicaciones tecnológicas, dietas balanceadas, suplementación, época de empadres definidas, programas sanitarios, control reproductivo, mejoramiento genético e inseminación artificial entre otros. (Buratovich, 2010)

La Inseminación artificial (IA), es un método de reproducción en el cual se obtiene semen del macho para introducirlo en el aparato genital de la hembra por medio de instrumentos especiales. (Mueller, 2004)

Las principales ventajas de la IA son:

1. Mejoramiento genético: los productores están interesados en el aumento de la producción de sus rebaños y para ello seleccionan los animales de mejor calidad. La utilización de sementales con características genético-productivas superiores, repercutiría en beneficio sobre la producción de la progenie. (Mejía y Hernández, 1996)
2. Con la posibilidad de dilución del semen puede incrementarse considerablemente el número de hembras servidas por eyaculado, lo cual representa una gran posibilidad de optimización de sementales de alto valor genético. (Mueller, 2004)

3. Fácil transporte de semen envasado en pajillas: el transporte del semen resulta más económico y seguro que trasladar sementales en pie; además, se evita el riesgo de diseminar enfermedades. Mediante el transporte de semen envasado, frío o congelado, ha posibilitado su introducción a países en los cuales no se permite la entrada de animales vivos. (Buratovich, 2010)
4. Por medio de la inseminación artificial, los ovinocultores pequeños no precisarían de mantener sementales puros en sus explotaciones si hubiera un centro de reproducción ovina cercano que ofreciera el servicio. (Mueller, 2004)
5. La IA permite la utilización de semen de machos incapacitados por diversas razones o por su avanzada edad y machos de valor genético superior, pero que están imposibilitados para realizar la monta. (Salamon, 1990)
6. Se previenen y controlan enfermedades, ya que se evita el contacto directo macho-hembra. Esto es una medida profiláctica muy deseable. (Mueller, 2004)

Las principales desventajas de la IA son:

1. Se puede incurrir en problemas de paternidad, ya que cuando se colectan el semen de varios sementales, podrían cometerse errores en la identificación de las pajillas. (Salamon, 1990)
2. En la misma magnitud que la inseminación puede beneficiar la mejoría genética; también, en esa misma magnitud puede causar retrocesos devastadores, más aún cuando no se conoce la genealogía de los sementales. Una de las mejores medidas para evitar la transmisión de



caracteres indeseables es la utilización de sementales con pruebas de progenie. (Mueller, 2004)

3. Cuando se realiza una selección intensa, hay mayores posibilidades de incurrir en la consanguinidad; sin embargo, manteniendo un registro adecuado de los sementales y su progenie, la IA puede ayudar a disminuir la posibilidad de cruzamientos no deseados. (Mueller, 2004)
4. Generalmente la monta natural lleva ventajas contra la inseminación artificial en cuanto a las tasas de fertilidad y preñez; sin embargo, son muchas las ventajas que ofrece la IA en la mejora genética, que bien justifican una disminución en la tasa de preñez. (Mejía y Hernández, 1996)
5. Considerando los costos por la adquisición del equipo necesario para poder llevar a cabo la IA, pueden superar al costo de mantenimiento de un semental ovino; sin embargo, cuando el valor de éste, por sus características genético-productivas es muy elevado, deben emplearse las técnicas de vanguardia, tales como la IA para optimizar ese recurso genético. (Buratovich, 2010)

La producción ovina mundial está experimentando importantes cambios, paralelo al descenso del precio internacional de la lana y a la disminución del censo ovino, emergen o se revalorizan otros productos del sector. La investigación latinoamericana sobre reproducción ovina ha aumentado tanto en cantidad como en calidad a partir de fines de los 80 aunque se caracteriza por su escasa articulación intra-regional. La producción científica durante los 90 de acuerdo al número de publicaciones en revistas indexadas– puede ser estimada en un 10% de los trabajos sobre reproducción ovina a escala mundial. De acuerdo a la

realidad productiva actual se proponen como áreas de interés particular para desarrollar líneas de investigación: el aumento de la prolificidad del rebaño como forma de incrementar la tasa de preñez; el estudio de los factores que afectan la viabilidad embrionaria temprana; el manejo del período posparto; la congelación del semen y el desarrollo de las técnicas de inseminación artificial; y la adecuación de la técnica de transferencia embrionaria. (Rubianes y Ungerfeld, 2002).

## Revisión de Literatura

### Dificultades Anatómicas del cérvix

El cérvix de la oveja es un órgano tubular largo y fibroso compuesto principalmente de tejido conectivo con una capa serosa externa y tejido epitelial en el interior. El lumen es altamente complicado y tortuoso debido a la presencia de 4-7 anillos cervicales que se proyectan caudalmente proporcionando una barrera física en contra de los contaminantes externos. Son estos anillos cervicales los que presentan el principal obstáculo para la inseminación cervical, debido a que se proyectan hacia la luz del canal cervical y el segundo y tercer anillo, frecuentemente están fuera de alineamiento con el primero, lo que dificulta la introducción de la pipeta. Además, a nivel de los tres primeros anillos, la luz del canal cervical es la parte más estrecha (2-3 mm) y en consecuencia, la pipeta de inseminación rara vez se inserta más de 1 cm (Kershaw *et al.*, 2005).

La morfología del cuello uterino depende de la raza de la oveja, en la raza Churra es más corto y estrecho, y tienen un mayor número de pliegues que la raza Merino y Castellana; del mismo modo, en ovejas con más edad, el cuello del útero tiende a ser más largo y ancho. Kaabi *et al.*, (2006). La longitud media del canal cervical según diversos investigadores va 5.5 a 6.7 cm de largo (Halbert *et al.*, 1990; Kershaw *et al.*, 2005).

Respecto a la morfología del orificio cervical externo, Halbert *et al.*, (1990), describen cuatro formas: pico de pato, tapa, roseta y espiral; mientras que Kershaw *et al.*, (2005) describen cinco: pico de pato; tapa (solapa, colgajo, aleta), roseta, hendidura o rendija, y papila. Estos mismos investigadores informaron que

el tipo de cérvix más común es el de forma de tapa con 36.0%, seguido por el de pico de pato con 25.9% y el de roseta con 18.9%, los dos restantes, el de papila con 12.5% y el de hendidura con 6.7% fueron los menos comunes, el orificio externo de tipo roseta fue más común en ovejas adultas con 21.9%, mientras que el de papila con 21.6% fue más común en ovejas primíparas.

## **TIPOS DE INSEMINACIÓN**

### **Inseminación vaginal**

Consiste en la deposición de semen fresco diluido en la parte posterior de la vagina sin el uso de espéculo ni el intento de localizar el cérvix. Con frecuencia se hace referencia a esta técnica como disparo en la oscuridad (Método SID: “shot in the dark” por sus siglas en inglés) (Bearden y Fuquay, 1982; Salamon, 1990; Mejía y Hernández, 1996; Del Pino, 2000; Hafez y Hafez, 2000).

La inseminación vaginal debería ser un método ideal para implementar un amplio programa de inseminación artificial en ovinos, porque es fácil de realizar y solo se requiere una pipeta de inseminación. En un estudio realizado en Noruega, Paulenz *et al.* (2005), basado en la idea de hágalo usted mismo (“do-it-yourself”), compararon el efecto de la inseminación vaginal y cervical en ovejas que mostraban celo natural y usando semen congelado a una concentración de  $200 \times 10^6$  espermatozoides por dosis, informaron que el no retorno al estro en los primeros 25 días post-servicio y la tasa de parición con inseminación cervical fue 75.4 y 72.7%, respectivamente; mientras que con inseminación vaginal fue 71.3 y 67.4% respectivamente, los resultados fueron estadísticamente significativos ( $P < 0.04$ ), estos mismos investigadores indican en su estudio que hubo efecto del

semental ( $P < 0.04$ ) y de granjero; del mismo modo indican que hubo una interacción significativa entre granjero y sitio de inseminación.

En otro estudio Paulenz *et al.*, (2002) realizaron un ensayo para evaluar el sitio de inseminación (cervical o vaginal) y el número de espermatozoides ( $150 \times 10^6$  y  $75 \times 10^6$ ) sobre la fertilidad de ovejas en celo natural e inseminadas con semen frío, en una población de 1292 ovejas de 52 granjas diferentes. La tasa de no retorno al estro 25 días después de la inseminación cervical fue 63.7 y 56.1 por ciento para  $150 \times 10^6$  y  $75 \times 10^6$  espermatozoides respectivamente; mientras que la respuesta por vía vaginal fue 63.3 y 56.6 por ciento para  $150 \times 10^6$  y  $75 \times 10^6$  respectivamente, no hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P > 0.05$ ) entre la inseminación cervical y la vaginal, pero la tasa de no retorno a estro fue mayor con  $150 \times 10^6$  espermatozoides por inseminación; del mismo modo, hubo efecto del semental y del granjero, pero no de la edad de las ovejas.

La tasa de no retorno al estro para los 52 granjeros que participaron estuvo entre 27.6% y 89.5%; el rango entre productores fue del 62%, esta variación puede deberse a la habilidad de los productores para realizar la inseminación y posiblemente a las características de rebaño en la detección de calores y los signos de estro, pero la inseminación con  $150 \times 10^6$  espermatozoides registró mayor tasa de no retorno al estro ( $P = 0.004$ ), también informaron que hubo un efecto del semental y del granjero, pero no de la edad de las ovejas. Con respecto al efecto del semental, la variación fue de 36.2 y 71.1%, para el mejor y peor semental respectivamente con un rango de 35% lo que refleja una gran variabilidad genética entre ellos.

Otros investigadores como Maxwell y Hewitt (1986) registraron 60% de tasa de preñez en ovejas de la raza Merino inseminadas por vía vaginal y 64% por vía cervical.

Con base en la información revisada, se afirma que ~~con~~ la inseminación vaginal permite obtener buenos resultados cuando se utiliza semen fresco, pero con semen congelado los resultados son muy variables. Por ejemplo, Richardson, *et al.*, (2012), obtuvieron solo un 27.6% de preñez en ovejas inseminadas con semen congelado en el saco cervical.

Por el contrario, Paulenz *et al.*, (2007) inseminaron 719 ovejas en estro natural por vía vaginal, con  $200 \times 10^6$  espermatozoides, utilizando tres métodos de descongelación a 70°C por 8 segundos; a 50°C por 9 segundos y a 35°C por 12 segundos. La tasa de no retorno al estro en los primeros 25 días post servicio fue 63.2, 59.6, y 52.5% respectivamente y la tasa de parición fue 56.8, 55.0 y 59.2% respectivamente. No hubo efecto del tipo de descongelación, pero hubo efecto de granjero y semental. Además, la edad de las ovejas, tuvo un efecto significativo en la tasa de no retorno ( $P < 0.007$ ), pero no en la tasa de parición ( $P > 0.2$ )

### **Inseminación cervical**

La inseminación cervical consiste en depositar el semen dentro del cérvix, tanto como sea posible, sin el uso de la fuerza, justo dentro del orificio cervical o dentro del primer anillo cervical. Con este método se considera que se logra mejores tasas de preñez, cuando se usa semen congelado, en comparación de la inseminación vaginal (Paulenz, *et al.*, 2005).

Richardson *et al.*, (2012), compararon la tasa de gestación inseminando ovejas con semen congelado, usando la vía cervical o depositando el semen en el saco

vaginal, los resultados obtenidos fueron: vía cervical, 36.2%, vía saco vaginal 27.6%, la diferencia no fue estadísticamente significativa ( $P=0.26$ ), la diferencia entre ambas vías fue menor al 10% y concluyen que como la inseminación dentro del saco vaginal es técnicamente más fácil que la inseminación cervical, podría utilizarse esta vía para realizar inseminaciones masivas. Su argumento se basó en el trabajo de Evans y Maxwell (1987), quienes indicaron que durante la cópula, el carnero deposita el semen de manera natural en el saco vaginal, un saco ciego que se forma en la parte anterior de la vagina, causado por la protuberancia de cuello del útero.

Recientemente ha entrado al mercado nacional un nuevo dispositivo para realizar la inseminación artificial cervical en la ovejas denominado RamGo, cuyo lema es: “El único dispositivo para la Inseminación Artificial en borregas a nivel mundial con un alto porcentaje de concepción con semen congelado”. (Tecnología Genética, 2012). La técnica del RamGo, permite que el semen pase el primer anillo cervical (dos centímetros). El dispositivo cuenta con una punta simulando el proceso uretral del carnero. Sin embargo, la evidencia en la literatura que respalde la efectividad de este método es muy escasa.

En un estudio previo de Rodríguez, (2012) se sincronizaron a 50 borregas con un dispositivo intravaginal de liberación controlada de progesterona durante 12 días, al retiro del dispositivo, se aplicó eCG y se hicieron dos grupos, uno se inseminó con semen fresco y el otro con semen congelado, utilizando el dispositivo RamGo. Los resultados de ese trabajo fueron: tasa de retorno al estro de 80% y 68% para semen congelado y fresco, respectivamente; la tasa de gestación fue de 20% y 36%, para semen congelado y fresco, respectivamente.

En la actualidad, la IA cervical es la técnica más utilizada. Consiste en depositar el semen dentro de los primeros pliegues del canal cervical, la entrada del cérvix es visible con la ayuda de un espéculo con una fuente de luz. El método es barato y relativamente fácil. Regularmente se utiliza semen fresco.

La utilización de semen congelado ha resultado en rangos poco aceptables de fertilidad, fluctuando entre 10 y 30% en ovejas (Naim, *et al.*, 2009). Los porcentajes de gestación logrados en inseminación artificial con semen fresco y dosis de 100-150 millones de espermatozoides, varían entre 60 y 70%. (Evans y Maxwell, 1987). Se ha demostrado, que cuanto más profundamente se deposite el semen mayor es el índice de fertilidad. En la oveja, con frecuencia es imposible depositar el semen a más de un centímetro de profundidad en el canal cervical debido a la estructura anatómica del cérvix (Bearden y Fuquay, 1982; Salamon, 1990).

### **Inseminación Transcervical**

Halbert *et al.*, (1990), desarrollaron una técnica de inseminación intrauterina por vía transcervical, colocando a las ovejas en decúbito dorsal con sus cuartos traseros elevados. La vagina es dilatada con un espéculo pico de pato, el cuello del útero se agarra y se retrae utilizando pinzas, y se introduce un instrumento de inseminación en la abertura cervical del cuello uterino. Este sistema se conoce como sistema GUELPH, para inseminación transcervical. La técnica fue evaluada, por primera vez en 89 ovejas multíparas y la penetración uterina se logró en el 82% de las ovejas (Halbert *et al.*, 1990).

Wulster-Radcliffe *et al.*, (2004) desarrollaron un instrumento para atravesar el cuello uterino sin traumatizarlo, con el objetivo de evaluar si afectaba el transporte



de semen, la tasa de preñez o la tasa de parición, para lo cual realizaron una serie de ensayos; en el primero, utilizaron 10 ovejas con inseminación transcervical y 10 con inseminación intrauterina por medio de laparotomía y un laparoscopio; 20 horas después de la inseminación, los cuernos uterinos y los oviductos fueron recuperados por medio de una laparotomía medioventral y lavados para coleccionar los espermatozoides, la viabilidad del semen transportado por vía intracervical fue similar a la del semen depositado en el útero.

En el segundo ensayo, observaron que la tasa de gestación 14 días después de la inseminación fue menor cuando el semen se aplicó por vía transcervical, que cuando se realizó por medio de laparotomía medioventral. Sin embargo, en el tercer experimento no observaron diferencias en la tasa de gestación a 30 y 50 días utilizando la vía transcervical o la laparotomía. La tasa de gestación a 30 días fue 67.5% en ambos tratamientos; mientras que a los 50 días, la tasa de gestación por inseminación transcervical seguía siendo de 67.5% pero la de inseminación por laparotomía se redujo a 65%, aunque la diferencia no fue significativa. ( $P > 0.05$ ).

### **Inseminación Intrauterina por Laparotomía**

Es el método de elección cuando se usa semen congelado; sin embargo, es costoso, demanda mayor tiempo y requiere habilidad y conocimiento de la técnica y el uso de anestésicos y tranquilizantes, por lo que generalmente se utiliza a escala limitada en ovejas, o solo a nivel experimental (Salamon y Maxwell, 1995).

Mellisho *et al.* (2006), realizaron un experimento con ovejas Black Belly en Perú, fueron inseminadas intrauterinamente vía laparoscópica con semen congelado con dos grupos experimentales, de acuerdo a su edad en corderas y ovejas adultas.

Los resultados que obtuvieron fueron 71.4% y 64.7% de preñez a los 35 días, para corderas y adultas, respectivamente, sin que fueran significativas las diferencias estadísticas ( $P > 0.05$ ).

### **Factores que afectan la eficiencia reproductiva en ovinos**

La fertilidad puede verse afectada por numerosos factores no nutricionales. Entre los cuales se pueden citar la estación del año, el intervalo parto-servicio, las condiciones climáticas, la presencia y comportamiento de los machos, la edad de la oveja y el grado de consanguinidad del rebaño (Buratovich, 2010).

Aquellos factores estresantes presentes en el manejo ganadero, como la esquila, el arreo con perros, el transporte, etc. pueden afectar a la respuesta reproductiva. Ya que la reproducción requiere de procesos hormonales precisos, éstos serán los más afectados por el estrés, debido al incremento de la secreción de adrenalina, la cual altera la concentración de aquellas hormonas que controlan el ciclo estral, la manifestación de celo, la ovulación, la sincronía celo-ovulación e incluso la propia supervivencia embrionaria (Bearden & Fuquay, 1982; Hafez y Hafez 2000; Buratovich, 2010).

El fotoperiodo es otro de los factores de mayor importancia e incidencia sobre la fertilidad y su manifestación, en forma de estacionalidad sexual y depende, entre otros, de la raza o genotipo. Las razas de origen británico son muy estacionales sexualmente, en cambio la raza Merino, oriunda de España, posee una estacionalidad menor y un período sexual más extendido (Hafez y Hafez, 2000; Buratovich, 2010).

Otro de los factores que pueden afectar a la fertilidad en el ganado ovino es la temperatura ambiente. El estrés por calor o frío en la oveja puede tener distintos

efectos dependiendo del momento reproductivo en el cual se aplique, así, durante la ovulación, fertilización y primeros días de vida embrionaria, el estrés de las altas temperaturas ambientales puede conducir al anestro. Este efecto de ausencia de cualquier manifestación externa de celo no es el único provocado por el estrés térmico, también puede provocar descensos en la fertilización del óvulo y afectar el desarrollo y la supervivencia del embrión, en cambio, el estrés ambiental originado en lluvia e hipotermia durante las 2 semanas previas al apareamiento, provoca reducciones significativas en la tasa ovulatoria (Bearden & Fuquay, 1982; Hafez y Hafez, 2000; Buratovich, 2010).

Los factores ambientales pueden influir en el comienzo del celo, en la tasa ovulatoria o ambos, pero la respuesta al estrés ambiental es muy variable debido al distinto grado de tolerancia entre animales (Hafez y Hafez, 2000).

Otro de los elementos condicionantes de la fertilidad en las ovejas es la presencia o no de los machos de forma continua con las hembras. Las ovejas en anestro estacional o de lactación y las corderas prepúberes no ovulan regularmente. Pero si las borregas permanecen aisladas de los carneros, la introducción repentina de los machos en el rebaño inducirá bruscos cambios hormonales en la hembra, que conducirán a la ovulación y el celo, este fenómeno es conocido como "efecto macho. (Bearden & Fuquay, 1982)

### **RamGo**

El fabricante menciona que su sistema "RamGo" está especialmente diseñado para ovejas, cabras y venadas. Tiene un pequeño dispositivo en forma de pera con cánula, parecido al dispositivo del "Torito Express". Tecnología genética, (2012). "El dispositivo "RamGo" es único en su tipo, puede pasar a través del

primer anillo cervical de las ovejas, lo cual usualmente es muy difícil de lograr con otros sistemas de inseminación artificial. Los promotores de este dispositivo, argumentan que los índices de concepción con "RamGo" son iguales e incluso mejores que con laparoscopia". (Tecnología genética, 2012)

## **Justificación**

En la literatura científica no hay informes de trabajos de investigación que respalden el uso del método RamGo, por lo cual, el siguiente trabajo aportará resultados en cuanto a este método. También se necesita encontrar un método de IA confiable, sencillo y aplicable para los productores de ovinos para que así tengan una tecnología de acuerdo a sus necesidades, y a su economía.

## **Hipótesis**

La tasa de preñez a primer servicio será mayor con el método RamGo en comparación con el método de la pipeta “hechiza”, utilizando semen fresco en ovejas de pelo en el trópico.

## **Objetivo**

Determinar y comparar el porcentaje de preñez a primer servicio de inseminación artificial con el método RamGo y con el método de la pipeta “hechiza” en ovejas de pelo el trópico.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Localización

El estudio se realizó en el Módulo de producción ovina “El Cenzontle” del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Ganadería Tropical, dependiente de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. El CEIEGT se encuentra ubicado en el Km 5.5 de la Carretera Federal Martínez de la Torre-Tlapacoyan, en el Estado de Veracruz, el clima de esta zona es cálido húmedo con una temperatura y precipitación media anual de 23.4°C y 1840 mm (FMVZ, 2013).

### Animales experimentales

Se utilizaron 58 borregas de la raza Pelibuey o Tabasco (*Ovis aries*), en un sistema nutricional de pastoreo rotacional, en praderas de Estrella Santo Domingo (*Cynodon nlemfuensis*) y complementadas diariamente con 100 g de alimento comercial (20% de PC y 2.6 Mcal de EM) y con 500g de pulpa de cítricos (22% de MS; 6.1 PC; 2.92 Mcal de EM) (Scerra *et al.*, 1999). Se seleccionaron ovejas que tuvieran de entre uno y cinco partos, con una condición corporal entre 2 y 4, dentro de una escala del 1-5 (Manazza, 2006).

Se utilizaron 2 sementales de la raza Pelibuey o Tabasco (*Ovis aries*), para la detección de celos; con una condición corporal promedio de 3. Manazza, (2006), y se mantuvieron bajo las mismas condiciones de pastoreo y complementación descritas para las borregas.

Para la obtención del semen se utilizaron 2 sementales de la raza Dorper variedad blanco (*Ovis aries*), con un rango de edad entre 2 y 4 años; y con una condición

corporal promedio de 3.5. Manazza, (2006). Cuatro semanas previas al inicio del trabajo de investigación, ambos sementales fueron movilizados desde una zona templada (Pachuca, Hgo., México) al trópico (Martínez de la Torre, Veracruz, México). Los animales se mantuvieron en un corral, y fueron alimentados con pasto Estrella Santo Domingo (*Cynodon nlemfuensis*) henificado y complementados diariamente con 250g de alimento comercial (20% de PC y 2.6 Mcal de EM) y 500g de pulpa de cítrico húmeda (22% de MS; 6.1 PC; 2.92 Mcal de EM). (Scerra *et al.*, 1999).

## **Materiales**

Se utilizó un dispositivo RamGo, el cual está compuesto por 4 partes:

- 1.- Jeringa con 2 mL de líquido activador de semen (citrato de sodio).
- 2.- Pipeta universal (para pajillas de 0.5 y de 0.25 ml) con adaptador para la jeringa.
- 3.- Dispositivo RamGo propiamente dicho, con cánula en forma de espiral (simulando el proceso uretral del carnero).
- 4.- Vaginoscopio, con fuente de luz para localizar la entrada del cérvix.

Pipetas “hechizas”. Éstas se fabricaron caseramente a partir de un catéter intrauterino para bovinos, adaptado con manguera a una jeringa de 1mL para impulsar el semen. (Balcázar y Porras, 2009).

Vagina artificial, compuesta por un cuerpo (tubo rígido de PVC), cámara de goma para el agua a 39-41°C, con un cono de látex y un tubo colector graduado.

Cámara de Neubauer, se utilizó para el conteo de los espermatozoides y así determinar la concentración espermática.

Pipeta “cuenta glóbulos rojos”, graduada para hacer la dilución del semen en agua con formol al 4% y poder determinar la cantidad de espermatozoides presentes en 1 mL de eyaculado.

Leche y yema de huevo para la preparación del diluyente (3 partes de leche y 1 de yema de huevo).

Un microscopio óptico para la evaluación del semen.

Pajillas de 0.25 mL para almacenar el semen diluido.

Baño María para mantener el semen y diluyente a 32° C.

Un equipo de ultrasonido de tiempo real con transductor sectorial de 3.5 MHz, para el diagnóstico de gestación.

## **Metodología**

### **Detección de celos**

Para la detección de celos naturales, el rebaño se dividió en dos grupos, al azar, el primero contaba con 30 ovejas y el segundo con 28 ovejas. En cada grupo se introdujo un semental con mandil durante 20 minutos, con la finalidad de detectar a las hembras en estro; se intercambiaron los sementales de un grupo a otro, sumando un total de 40 minutos de exposición de las ovejas a los sementales. Cada hembra detectada en celo fue separada del rebaño para facilitar la detección del resto de hembras.



## **Obtención y preparación del semen**

El semen se colectó de los sementales utilizando una vagina artificial y se diluyó, utilizando leche pasteurizada tipo “light” y yema de huevo, en una proporción de tres partes de leche por una parte de yema de huevo. Balcazar y Porras (2009). Cada dosis de inseminación fue de 0.25 ml, con una concentración promedio de  $200 \times 10^6$  (doscientos millones) de espermatozoides; el semen se mantuvo en baño María a 32°C, por un periodo aproximado de 30 a 40 minutos, hasta que se realizó la inseminación artificial (Rodríguez, 2012)

## **Elaboración de pipetas “hechizas” para la Inseminación artificial**

La elaboración de las pipetas es un proceso sencillo, pero requiere de práctica y paciencia. Se acercó la pipeta de infusión a la flama del mechero y se comenzó a girar sobre su propio eje para que el calor se difundiera por toda la pipeta. Posteriormente se estiró sutilmente hacia los extremos con la finalidad de reducir el lumen; luego con una navaja de afeitar se cortó el material excedente, se procuró que en los cortes no se formaran aristas ni bordes filosos. Se acercó al mechero nuevamente la punta para darle una angulación de 30 grados (Balcazar y Porras, 2009)

## **Inseminación artificial**

La Inseminación artificial se realizó aproximadamente de 1 hora a hora y media después de que la oveja se detectó en celo. El procedimiento de inseminación en cada oveja fue el siguiente: se le lavó la región perianal con agua y se secó con toallas de papel, en seguida se colocó en una rampa para mantener elevada el

área perianal en relación a la cabeza. Se utilizó un espéculo tubular (vaginoscopio) con fuente de luz (Donovan, *et al.*, 2004)

### **Inseminación por el método RamGo**

El vaginoscopio se empujó contra el tejido que rodea el cérvix para centrar el orificio cervical externo. A continuación, se introdujo el dispositivo RamGo en el canal cervical; una vez en esa posición, se presionó el émbolo de la jeringa que contenía el citrato para impulsar el semen al interior del cérvix. El dispositivo fue retirado lentamente y hasta el final el vaginoscopio. Cada oveja se mantuvo inclinada con el tren posterior hacia arriba durante un lapso de 2 minutos, para después liberarla (Tecnología genética, 2012)

### **Inseminación mediante pipeta “hechiza”**

El vaginoscopio se insertó en la vagina de la oveja y se empujó contra el tejido que rodea el orificio cervical externo colocando el cérvix en el espéculo; inmediatamente después de que el orificio cervical fue centrado se introdujo la pipeta previamente cargada con el semen y, una vez estando en posición, se presionó el émbolo de la jeringa para impulsar el semen al interior del cérvix. La pipeta fue retirada lentamente y luego el vaginoscopio. La oveja se mantuvo inclinada con el tren posterior hacia arriba durante 2 minutos, para después liberarla (Balcazar y Porras, 2009)

### **Diagnóstico de gestación**

Las ovejas inseminadas, fueron observadas nuevamente para detectar celos a partir de 12 días después del servicio y hasta 35 días post-servicio; con esta información se determinó la tasa de retorno a estro; las ovejas que mostraron

signos de estro (receptivas al macho), se consideraron como negativas a gestación.

Las ovejas que no mostraron celo fueron sometidas a diagnóstico de gestación por ultrasonografía transabdominal 40 días después del servicio, utilizando ultrasonografía de tiempo real, con un transductor transabdominal de 5.5 MHz. (Rodríguez, 2012)

### **Diseño experimental y análisis estadísticos**

Se utilizó un diseño completamente al azar, esto es: las ovejas se fueron asignando alternadamente a cada tratamiento en función a la detección del estro, considerando a cada oveja una unidad experimental (UE).

Los datos de tasa de preñez se evaluaron por medio de un análisis de  $X^2$ . Steel y Torrie, (1986.), variable por variable para tratamiento, semental, año y peso.

### **Variables de respuesta**

Tanto en las borregas inseminadas con RamGo, como en las borregas inseminadas con pipeta “hechiza”, se evaluaron las variables siguientes:

- Tasa de retorno a estro (Número de ovejas que retornaron al estro desde 12 días y hasta 35 días post-IA/número de ovejas inseminadas) x 100.
- Tasa de preñez: (Número de ovejas preñadas/número de ovejas inseminadas) x 100.
- Fertilidad de los sementales utilizados: Número de ovejas preñadas/número de ovejas inseminadas x 100.

## RESULTADOS

En el Cuadro 1, se presentan los resultados de la tasa de retorno al estro, de acuerdo con el método de inseminación. No hubo diferencia estadística significativa ( $P>0.05$ ) en el porcentaje de esta tasa entre ambos métodos de inseminación: 48% vs. 45%, para RamGo y para Pipeta, respectivamente. Se obtuvo una tasa de retorno al estro global de 46%.

Cuadro 1. Tasa de retorno al estro en ovejas Pelibuey o Tabasco inseminadas con sistema RamGo o con Pipeta “hechiza”

Método de IA	Hembras inseminadas (n)	Retorno al estro (n)	Tasa retorno al estro (%)
RamGo	29	14	48% <sup>a</sup>
Pipeta	29	13	45% <sup>a</sup>
TOTAL	58	27	46%

Misma literal entre hileras, indica que no hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P>0.05$ )

En el Cuadro 2 se presentan los resultados de la tasa de preñez en ovejas Pelibuey o Tabasco, inseminadas con RamGo o Pipeta “hechiza”. Se obtuvo una tasa global de 53% de preñez; de las cuales, el 52% correspondió al método de RamGo y el 55% al método de pipeta. No obstante, la diferencia entre ambos grupos no fue estadísticamente significativa ( $P=0.792$ ).

**Cuadro 2. Tasa de preñez en ovejas Pelibuey o Tabasco inseminadas con el sistema RamGo o con Pipeta “hechiza”.**

Método de IA	Hembras inseminadas (n)	Preñadas (n)	Tasa de Preñez (%)
RamGo	29	15	52% <sup>a</sup>
Pipeta	29	16	55% <sup>a</sup>
<b>TOTAL</b>	<b>58</b>	<b>31</b>	<b>53%</b>

Misma literal entre grupos, indica que no hubo diferencia estadísticamente significativa ( $P>0.05$ )

En el Cuadro 3, se presentan los resultados de fertilidad lograda para cada uno de los sementales utilizados en el presente estudio. La tasa de preñez del semental número 2 fue del 65%; mientras que el semental número 1, tuvo 44% de tasa de preñez. Sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativas ( $P>0.05$ ).

**Cuadro 3. Número de ovejas Pelibuey inseminadas, preñadas y tasa de fertilidad de acuerdo con los sementales utilizados.**

Semental	Inseminadas (n)	Preñadas (n)	Fertilidad (%)
Semental 1	32 <sup>a</sup>	14 <sup>a</sup>	44% <sup>a</sup>
Semental 2	26 <sup>a</sup>	17 <sup>a</sup>	65% <sup>a</sup>
<b>Total</b>	<b>58</b>	<b>31</b>	<b>53%</b>

Misma literal entre sementales, indica que las diferencias no fueron estadísticamente significativas  $P>0.05$ )

## DISCUSIÓN

En este trabajo se realizó una comparación de dos métodos distintos de Inseminación artificial, el RamGo y la pipeta “hechiza”, donde se obtuvieron los resultados, para la tasa de retorno al estro, no hubo diferencia significativa ( $P>0.05$ ), en ambos métodos de inseminación 48% contra el 45%, para RamGo y pipeta “hechiza” respectivamente, se obtuvo una tasa de retorno al estro global de 46%.

De acuerdo a los resultados obtenidos el método RamGo, no muestra ninguna ventaja en términos de porcentaje de ovejas preñadas en comparación con la pipeta hechiza, y al tener un costo mayor al de la pipeta, la única ventaja que pudiera tener es el hecho de que está disponible en el mercado. Sin embargo, debido a la gran diferencia en el costo con respecto a la pipeta hechiza, por el momento, no tendría muchas posibilidades de usarse de forma masiva por los productores de ovinos.

Comparando los resultados del método RamGo con otro trabajo realizado en el CEIEGT; Rodríguez, (2012), informó que la tasa de gestación de ovejas sincronizadas con un dispositivo de liberación lenta de progesterona, fue de 20% y 36%, para semen congelado y fresco, respectivamente, tasa inferior a la obtenida en el presente estudio, en dicho estudio no queda claro si el resultado fue efecto atribuible al dispositivo RamGo o al efecto de la sincronización con progesterona, motivo por el que en el presente estudio se usaron ovejas Pelibuey servidas a estro natural.

Es importante investigar cuales son los factores que pudieran limitar el uso del método RamGo, para logra una mayor eficiencia respecto a la tasa de gestación, de lo contrario también habría que conocer otras alternativas de inseminación cervical, pues existen informes en la literatura de que se pueden alcanzar tasas altas de gestación utilizando otras técnicas de inseminación cervical. Por ejemplo, Aral *et al.*, (2010), inseminaron ovejas con semen fresco y sincronizadas con prostaglandinas  $f_2\alpha$  y compararon la Inseminación cervical tradicional con la inseminación cervical impulsando aire con apoyo de una bomba exclusivamente diseñada para tal fin y los resultados obtenidos fueron: 46.7% para método tradicional y 80% utilizando una bomba de aire, estos resultados están muy por encima de los obtenidos en el presente estudio por medio del método RamGo.

Es probable que la habilidad del inseminador haya influido en los resultados obtenidos en el presente estudio, pues en algunos estudios en los que se evalúa esta habilidad, se ha registrado un efecto significativo del Inseminador, por ejemplo; Donovan *et al.*, (2004), compararon si los resultados obtenidos en Irlanda eran similares a los obtenidos en Noruega, país que tiene una gran tradición en el uso de la inseminación artificial el ovejas (Windsor, 1994). La comparación fue realizada a partir de semen colectado y congelado de sementales noruegos e Irlandeses; en dicho experimento también evaluaron el efecto de la sincronización y del inseminador. Los tratamientos que evaluaron fueron: ovejas irlandesas con semen fresco a calor natural, o sincronizadas con esponjas, ovejas irlandesas o noruegas en celo natural, o sincronizadas con esponjas, e inseminadas con semen congelado irlandés o noruego. Del mismo modo, las ovejas fueron inseminadas por un experto noruego o irlandés. La tasa de preñez no fue afectada

por el tipo de celo (natural o sincronizado), ni por el tipo de semen congelado (noruego o irlandés), pero hubo efecto de la raza de las ovejas y del inseminador.

Con respecto a la tasa de gestación, se obtuvo una tasa promedio del 53%; de la cual, el 52% correspondió al método de RamGo y el 55% al método de pipeta “hechiza”, la diferencia entre ambos métodos no fue estadísticamente significativa ( $P > 0.05$ ). En el estudio de Donovan *et al.*, (2003), se obtuvo el 86%, utilizando semen fresco, con una técnica cervical. Lo que nos muestra que nuestros resultados no fueron los más elevados.

La baja fertilidad obtenida en el presente estudio, se puede deber a la morfología del cérvix de la borrega, así como a la edad de las borregas, pues aunque no pudo observarse el efecto de la edad, la mayoría de las hembras utilizadas en este experimento, tenían 7 años de edad, seguidas por las que tenían 1 y 2 años de edad, según Kaabi, *et al.* (2006), Las hembras con más edad tienden a tener un cérvix más largo que las jóvenes, lo que dificulta la penetración cervical.

Debido a la compleja morfología de semen y con la idea de implementar programas de inseminación artificial que puedan ser adoptados de manera fácil por los productores, en Noruega se han implementado programas de inseminación artificial exitosos, que involucran directamente a los productores. Así Paulenz *et al.*, (2005), compararon la inseminación vaginal y cervical, usando semen congelado a dosis de  $200 \times 10^6$  espermatozoides por dosis; los resultados para tasa de no retorno al estro a los 25 días post servicio y la tasa de parición con inseminación cervical fue de 75.4 y 72.7%, respectivamente, mientras que para inseminación vaginal fue de 71.3 y 67.4%, respectivamente, la diferencia en la tasa de parición por vía cervical fue superior a la vaginal ( $p=0.04$ ), también



informaron que hubo un efecto significativo del semental ( $p=0.006$ ) y del productor ( $p=0.003$ ), la tasa de no retorno a estro varió de 60.4 a 81.6 y la de parición de 56.3 a 83.3 entre productores. Del mismo modo, en otro estudio, realizado por Paulenz *et al.*, 2002 para evaluar el sitio de inseminación y la dosis de semen utilizada, informaron que la tasa de no retorno al estro a los 25 días después del servicio, usando  $150 \times 10^6$  y  $75 \times 10^6$  espermatozoides fue de 63.7 y 56.1% por vía cervical y 63.3 y 56.6% por vía vaginal, diferencias que no fueron estadísticamente significativas, pero informaron que si hubo un efecto de la dosis utilizada, obteniendo mayor tasa de no retorno al estro con  $150 \times 10^6$  espermatozoides ( $p=0.004$ ), también informaron que hubo un efecto del semental ( $p=0.0001$ ) y del productor que inseminó ( $p=0.0002$ ), pero no de la edad de las ovejas. Es interesante resaltar que el productor más malo obtuvo una respuesta de no retorno del 27.6 y el mejor productor logro una tasa de no retorno al estro del 89.5%.

Según la fertilidad de las borregas acorde con sus años de vida. Se observó que la fertilidad promedio era de 45-75% al primer año, se incrementaba al 85-95% entre los 4-6 años, para volver a descender al 60-80% a los 9 años de edad. (Buratovich, 2010) Por lo cual nuestro grupo de hembras tendría un rango del 45-95% de fertilidad, está dentro del promedio al obtener una tasa de preñez promedio de 53%; de las cuales , el 52% correspondió al método de RamGo y el 55% al método de pipeta "hechiza".

Los resultados muestran que, en comparación de un método con el otro, la pipeta "hechiza", tiene mejor tanto porcentual de tasa de no retorno al estro como tasa de preñez, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $P>0.05$ ). La ventaja que tiene el RamGo es su practicidad ya que este método no requiere

de un trabajo “artesanal” para su elaboración, pero a su vez la debilidad de éste es el costo que es mas elevado que el de la pipeta; siendo el costo del RamGo \$30.00 por equipo y el de la pipeta de \$0.50

En cuanto a estos valores de tasa de gestación en ambos casos, comparándolos con otros ensayos está por debajo ya que en promedio con esta técnica cervical se obtiene del 60% al 70%. (Evans y Maxwell, 1987)

En cuanto a la fertilidad de los sementales se puede mencionar que estas son muy inferiores a lo esperado; lo cual pudo obedecer a los efectos de las condiciones climatológicas del sitio experimental sobre los sementales de la raza Dorper procedentes de clima templado. Se ha documentado la disminución en la viabilidad espermática de sementales con una elevación en la carga calórica corporal. (Bearden & Fuquay, 1982), o una falla en la adaptación al medio ambiente. (Hafez y Hafez, 2000).

## CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados del presente trabajo, se puede concluir que la hipótesis formulada no se cumplió, ya que en ella se planteó que los resultados en el procedimiento realizado con el dispositivo RamGo se mostraría una amplia ventaja al de la pipeta “hechiza”.

Dado que la tasa de preñez, aparentemente, fue más elevada con la utilización de la pipeta “hechiza” (55%), que la lograda con el dispositivo RamGo (52%); no obstante, mediante la prueba estadística de  $X^2$ , esa diferencia no fue estadísticamente significativa ( $P>0.05$ ). Por tanto, en general la tasa de preñez es similar entre ambos métodos.

Lo anterior significa que, de acuerdo con las condiciones del presente trabajo, puede utilizarse cualquiera de los dos métodos utilizados en el presente estudio logrando resultados similares de gestación.

## REFERENCIAS

1. Aral, F.; Yavuzer, Ü.; Zonturlu, A. K.; The effect of air pressure with cervical artificial insemination on the fertility of Awassi ewes synchronized with PGF2a. *Kafkas Univ Vet Fak Derg. Turkey*. 2010, 16(1), 37-41.
2. Balcázar J. A., Porrás A. I., *Manual de Prácticas en Manejo Reproductivo de Ovinos y Caprinos*. 1ª Edición. México DF. 2009.
3. Bearden, H. J. y J. Fuquay. *Reproducción animal aplicada*. Manual Moderno. México D. F. 1982; pp. 135-250.
4. Buckrell, B. C.; Buschbecj, C.; Gartley, C. J.; Kroetsch, T.; McCutcheon, W.; Martin, J.; Penner, W. K.; Walton, J. S.; Further development of a transcervical technique for artificial insemination in sheep using previously frozen semen. *Theriogenology*. 1994; pp. 601-611.
5. Buratovich, O. Eficiencia reproductiva en ovinos: factores que la afectan. *Ganaderia. INTA*. 2010; pp. 163-166.
6. Campbell, J. W.; Harvey, T. G.; McDonald, M. F.; Sparksman, R. I. Transcervical insemination in sheep: An anatomical and histological evaluation. *Theriogenology*. 1995. pp. 1535-1544.
7. Del Pino, R. Inseminación Artificial en Ovinos [en línea]. Oct 2000.<http://webs.demasiado.com/delpino/iavaginal.html>. [Consulta: 28 marzo,2005].
8. Donovan, A.; Hanrahan, J. P.; Kummen, E.; Duffy, P.; Boland, M. P.; Fertility in the ewe following cervical insemination with fresh or frozen-thawed

- semen at a natural or synchronised oestrus. *Animal Reproduction Science*. Dublin, Ireland. 2003. Pp. 359-368.
9. Evans, G.; Maxwell, W. M. C. *Salamons artificial insemination of sheep and goats*. 1987pp. xi +195pp.
  10. Fair, S.; Hanrahan, J. P.; O'Meara, C. M.; Duffy, P.; Rizos, D.; Wade, M.; Donovan, A.; Boland, M. P.; Lonergan, P.; Evans, A. C. O.; Differences between Belclare and Suffolk ewes in fertilization rate, embryo quality and accessory sperm number after cervical or laparoscopic artificial insemination. *Theriogenology*. Galway, Ireland. 2005. Pp. 1995-2005.
  11. Hafez, E.S.E. y Hafez B. *Reproducción e inseminación artificial en animales*. 7ª ed Ed. McGraw-Hill Interamericana,. México, D.F. 2000.
  12. Halbert G.W., Dobson H., Walton J.S., Bucrell B.C. A technique for transcervical intrauterine insemination in ewes. *Theriogenology*, 1990, 33 (5) 993-1010.
  13. Halbert, G.W.; Dodson, H.; Walton, J.S.; Bucrell. The structure of the cervical canal of the ewe. *Theriogenology*, 1990; 33:977-92.
  14. Halbert GW, Walton JS, Buckrell BC: Evaluation of a technique for transcervical artificial insemination of sheep, *Proceedings of the Society for Theriogenology*, Nashville, Tenn, 1990, p 293.
  15. Kaabi M, Alvarez M, Anel E, Chamorro CA, Boixo JC, Paz P, Anel L. Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: A postmortem study, *Proceedings of the Society for Theriogenology*, España, 2006. Pp.1876-1883.
  16. Kershaw CM, Khalid M, McGowan MR, Ingram K, Leethengdee s, Wax G,

- scaramuzzi R.J. The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen, Proceedings of the Society for Theriogenology, UK. 2005. Pp. 1225-1235.
17. Maxwell, W.M.C. y Hewitt L.I. A comparison of vaginal, cervical and intrauterine insemination in sheep. Journal of Agriculture Science Cambridge, 1986.
18. Mejía, G. P. y Hernández, O. G. "Curso Teórico-Práctico sobre Reproducción Aplicada en Pequeños Rumiantes". Universidad Nacional Autónoma de México. Noviembre. 1996: 28-43.
19. Mellisho, E. Pinazo, R. Chauca, F. Cabrera, P. Rivas, V. Inseminación intrauterina vía laparoscópica de ovejas Black Belly con semen congelado. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. Lima, Perú. 2006.
20. Mueller Joaquín. Avances en el mejoramiento genético de ovinos en la Argentina. ([http://www.produccionovina.com.ar/genetica\\_seleccion\\_cruzamientos/ovinos/07-mejoramiento\\_genetico.pdf](http://www.produccionovina.com.ar/genetica_seleccion_cruzamientos/ovinos/07-mejoramiento_genetico.pdf) ). [Consulta 30 agosto 2012].
21. Naim, P; M. Cueto y A. Gibbons. Inseminación Artificial a tiempo fijo con semen ovino refrigerado. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Bariloche, Argentina. 2009.
22. Naqvi, S. M. K.; Joshi, A.; Bag, S.; Pareek, S. R.; Mittal, J.P. Cervical penetration and transcervical AI of tropical sheep (Malpura) at natural oestrus using frozen-thawed semen. Small Ruminant Reserch. India. 1997.
23. Paulenz, H.; Ådnøy, T.; Söderquist, L. Comparison of fertility results after vaginal insemination using different thawing procedures and packages for frozen ram semen. Acta Veterinaria Scandinavica, 2007. 49:26.

24. Paulenz, H.; Ådnøy, T.; Fossen, O.H.; Söderquist, L.; Andersen, Berg. Effect of deposition site and sperm number on the fertility of sheep inseminated with liquid semen. *The Veterinary Record*, 2002. 150:299-302.
25. Paluenz.; H, Söderquist, L.; Ådnøy, T.; Fossen, O. H.; Andersen, Berg.; Effect of milk- and TRIS-based extenders on the fertility of sheep inseminated vaginally once or twice with liquid semen. *Theriogenology*, 2003. 60:759-766.
26. Paulenz, H.; Söderquist, L.; Ådnøy, T.; Nordstoga, K.; Andersen, Berg. Effect of vaginal and cervical deposition of semen on the fertility of sheep inseminated with frozen-thawed semen. *The Veterinary Record*, 2005.
27. Richardson, L.; Hanrahan, J.P.; Donovan, A.; Martí, J.J.; Fair, S.; Evans, A.C.O.; Lonergan, P. Effect of site of deposition on the fertility of sheep inseminated with frozen.thawed semen. *Animal Reproduction Science*, 2012.
28. Rodríguez, D. Informe de Trabajo Profesional modalidad ovinos en trópico, Universidad Nacional Autónoma de México, Martínez de la Torre (Veracruz) México: Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, 2012.
29. Rubianes, E.; Ungerfeld, R. Perspectivas de la investigación sobre reproducción ovina en América Latina en el marco de las actuales tendencias productivas. ALPA. Facultades de Agronomía y Veterinaria, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay. 2002.
30. Salamon, S., and W.M.C. Maxwel. Frozen storage of ram semen. II. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. *Animal Reprod. Sci.* 1995. 38:1-36.

31. Salamon S. Inseminación Artificial de ovejas y cabras. Ed. Acribia. España, 1990.
32. Siprov. Información <http://www.siprover.commx/informacion.html> [Consulta 10 Febrero 2013]
33. Steel, R. G. D., y J. Torrie J. Bioestadística, Principios y Procedimientos. 2<sup>a</sup> ed. Interamericana McGraw-Hill. México. 1986. p.633
34. Tecnología genética. Ramgo <http://tecnologiagenetica.com> [Consulta: 30 Agosto 2012]
35. Windsor D.P. Factors influencing the success of transcervical insemination in Merino ewes. *Theriogenology*. Western Australia, 1994. 43:1009-1018.
36. Wulster-Radcliffe M.C.; Wang S.; Lewis G.S. Transcervical artificial insemination in sheep: effects of a new transcervical artificial insemination instrument and traversing the cervix on pregnancy and lambing rate. *Theriogenology*, 2004. 62:990-1002