



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**EFFECTO DE DISTINTOS PROTOCOLOS DE INSEMINACIÓN  
ARTIFICIAL CERVICAL CON SEMEN FRESCO SOBRE LA  
FERTILIDAD DE LA OVEJA PELIBUEY**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

**PRESENTA**

**PABLO ESCORCIA ORTIZ**

**Asesores:**

**Dr. Javier de Jesús Valencia Méndez**

**MVZ M en C Antonio Roldán Roldán**

**México, D. F.**

**2015**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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 Malú y José por todo su esfuerzo y cariño que he recibido desde que llegue, acompañándome por un mundo lleno de aventuras que me han llevado a ser quien soy.

A Daniel por apoyarme en mis decisiones y siempre ayudarme a seguir adelante.

A todos mis amigos que terminaron volviéndose parte de mi familia y que siempre están ahí ayudándome a conseguir mis sueños.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi Malú, José y Daniel que siempre han estado alentándome a conseguir lo que quiero y que en su compañía siempre hemos logrado llegar más allá de nuestras metas.

Al Dr. Javier de Jesús Valencia Méndez y al M en C Antonio Roldán Roldán por asesorarme y compartir todas sus enseñanzas conmigo para después convertirse en mis amigos.

A mis sinodales José Manuel Berruecos Villalobos, Luis Zarco Quintero, Antonio Ortiz Hernández y Rosa Bertha Angulo Mejorado por dedicar parte de su valioso tiempo y compartir su conocimiento para realizar este trabajo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser mi ciudad de recuerdos maravillosos.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por darme la oportunidad de desarrollarme de manera profesional en esta hermosa carrera.

Al departamento de reproducción por adoptarme y permitirme desarrollarme en esta área tan interesante y divertida.

Al Centro de Enseñanza Producción Investigación en Producción y Salud Animal por darme la oportunidad de realizar mi trabajo en sus instalaciones y a la asesoría recibida.

Al Proyecto PAPIIT IN 219115, por el financiamiento otorgado para el desarrollo de esta tesis.

A mis compañeros de trabajo: Alejandra, Ariana, Diana, Diego, Dinora, Juan, Lalo, Leticia, Rodrigo, Sheila y Toño, que estuvieron voluntariosos a madrugar para ayudarme siempre que era necesario.

A todos esos compañeros de cuatro patas que me dieron la oportunidad de aprender todo lo posible durante mi carrera y en especial a las ovejas que trabajaron conmigo para realizar este trabajo.

A Onigiri por mostrarme lo valioso de su compañía incondicional.

Finalmente agradezco a toda la familia que he ido reuniendo en el camino y que espero siga creciendo, con mención especial: Anita, Axel, Belen, Bistrain, Cecilia, Ceciliano, Diana, Estanislao, Fernanda, Gabo, Jonathan, Karina, Katia, Lalo, Leticia, Lety, Pau Pau, Ram, Talia, Toño, Verito, Vivia y Zoalli.

## CONTENIDO

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Situación actual del ovino Pelibuey en México .....	5
Sincronización del ciclo estral .....	5
Características de la inseminación artificial .....	8
Momento de la inseminación .....	12
Procesamiento del semen.....	13
Sobrealimentación (Flushing) .....	14
HIPÓTESIS.....	18
OBJETIVOS.....	18
MATERIAL Y MÉTODOS.....	19
Localización .....	19
Diseño .....	19
Análisis estadístico.....	23
RESULTADOS .....	24
DISCUSIÓN .....	32
CONCLUSIÓN .....	38
REFERENCIAS .....	39
ANEXO .....	47

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1.- Porcentaje de fertilidad obtenida en cada grupo y en total .....	24
Cuadro 2.- Promedio y error estándar del tiempo de inicio y duración del estro (horas) de acuerdo al tratamiento y en total.....	26
Cuadro 3.- Promedio y error estándar de la mortalidad embrionaria por grupo y en total .....	27
Cuadro 4.- Duración de la gestación (días) por grupo y en total .....	27
Cuadro 5.- Tipo de parto y número de corderos nacidos por grupo y en total .....	28
Cuadro 6a.- Primera evaluación andrológica, previa al experimento. ....	47
Cuadro 6b.- Segunda evaluación andrológica, durante el curso del experimento .....	48
Figura 1.- Calendario de actividades.....	21
Figura 2.- Diagnóstico de gestación por ultrasonografía al día 35 con relación al número de Inseminaciones en el grupo IA-TE. ....	25
Figura 3.- Fertilidad y pérdida de la gestación con relación al número de inseminaciones en el grupo IA-TE.....	25
Figura 4.- Momento de la inseminación para cada individuo en el grupo IA-TF ..	29
Figura 5.- Momento de ambas inseminaciones para cada individuo en el grupo IA-Doble .....	30
Figura 6.- Momento de las inseminaciones para cada individuo en el grupo IA-TE .....	31
Figura 7.- Tiempo entre el retiro del progestágeno e inicio del estro por grupo. ....	49
Figura 8.- Duración del estro por grupo .....	50
Figura 9.- Comportamiento individual del inicio y duración del estro .....	51

## RESUMEN

**ESCORCIA ORTIZ PABLO.** Efecto de distintos protocolos de inseminación artificial cervical con semen fresco sobre la fertilidad de la oveja Pelibuey. (Bajo la dirección de: Dr. Javier de Jesús Valencia Méndez y MVZ M en C Antonio Roldán Roldán).

El presente estudio fue realizado con el fin de comparar la fertilidad obtenida con distintos protocolos de inseminación artificial cervical con semen fresco en ovejas Pelibuey. El estudio se realizó con 60 ovejas adultas de 3 a 7 años de edad distribuidas aleatoriamente en 3 grupos de 20 animales (N=60). Para la sincronización del estro se les colocaron durante 11 días esponjas intravaginales (20 mg de FGA). Al retiro del dispositivo se les administró una dosis de 125 µg de Cloprostenol además de 50 mL de glicerina diluida en agua, por vía oral (9:1). Los tres grupos experimentales se inseminaron vía cervical con 0.15 mL de semen fresco diluido en leche, conteniendo 200 millones de espermatozoides por dosis: En el primer grupo las ovejas se inseminaron dos veces al día (8 am y 2 pm), durante todo el tiempo que estuvieron en estro (IA-TE). En el segundo grupo se efectuó doble inseminación artificial a tiempo fijo (IA-Doble), con inseminaciones entre 48-50 y 58-60 horas después del retiro de las esponjas. El tercer grupo se inseminó a tiempo fijo (IA-TF) una sola vez 55-56 horas después del retiro del progestágeno. Se obtuvieron porcentajes de concepción de 90 (IA-TE); 75 (IA-Doble) y 80% (IA-TF) y porcentajes de parición de un 70 (IA-TF e IA-TE) y 65% (IA-Doble), sin que existiera diferencia estadística entre los grupos (P=0.459, Chi - Cuadrada). Se concluye que no existe diferencia en la fertilidad de las ovejas que son inseminadas con semen fresco una, dos o más veces por vía cervical durante el estro. Una sola inseminación cervical con semen fresco a tiempo fijo después del retiro del progestágeno permite obtener una alta fertilidad sin necesidad de detectar celo.

## INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) consiste en un conjunto de operaciones y técnicas aplicadas por el hombre con el fin de conseguir la fertilización de la hembra sin la intervención directa del macho. Este proceso de fertilización se lleva a cabo por una serie de interacciones entre el oocito y el espermatozoide, lo cual desencadena la formación de una nueva célula diploide llamada embrión o cigoto (Evans y Maxwell, 1990; Senger, 2003).

En los ovinos, la IA comenzó a usarse en 1936 con resultados satisfactorios; sin embargo, fue hasta 1965 cuando al desarrollarse los programas de sincronización de estros se pudo implementar esta técnica a gran escala. En la actualidad se calcula que en el mundo se inseminan entre 60 y 70 millones de ovejas por distintas técnicas, obteniéndose diferentes porcentajes de fertilidad dependiendo de muchos factores, entre los que se encuentra el sitio anatómico donde se deposita el semen (Balcázar y Álvarez, 2013) el número de aplicaciones y la duración del estro. La IA por vía cervical con semen fresco es la técnica más económica y eficiente al utilizar semen fresco diluido, obteniéndose con ella buenos resultados en fertilidad. Cuando se utiliza semen congelado el costo aumenta y la fertilidad con inseminación cervical disminuye, por lo que no se justifica su uso (Balcázar y Álvarez, 2013).

Para facilitar la inseminación artificial en un gran número de animales en un periodo corto, se aplican métodos de sincronización del ciclo estral con el objeto

de evitar la detección del estro y evitar el tiempo perdido realizando esta actividad. Este manejo permite realizar la inseminación artificial a tiempo fijo, ya sea una sola inseminación a 55-56 horas después del retiro del progestágeno (Evans *et al.*, 1987), o una doble inseminación, la primera entre las 48-50 horas y la segunda entre las 58-60 horas posteriores al retiro del progestágeno (Evans *et al.*, 1984). Con estos métodos se han obtenido respectivamente porcentajes de parición del 58 y 67%, con inseminación cervical, utilizando semen fresco en ovejas de razas europeas (Maxwell, 1984).

Diversos autores mencionan que la doble inseminación (DI) incrementa la fertilidad, dependiendo del momento que se realicen las inseminaciones una vez iniciado el estro. Sin embargo, si la primera inseminación se realiza a la mitad del estro, será suficiente, sin requerir la segunda inseminación (Salamon y Maxwell, 1995). Debido a esto, algunos autores han reportado que se puede obtener la misma fertilidad con una sola inseminación que con la doble inseminación (Colas *et al.*, 1973).

En un trabajo previo, en el Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal (CEPIPSA), se inseminaron 31 ovejas Pelibuey por vía cervical, cada 12 horas a partir del inicio del estro y hasta su finalización, obteniéndose una fertilidad de 93.5% (Datos no publicados). Con este esquema y dependiendo de la duración del estro de cada animal, las ovejas fueron inseminadas al menos dos veces (algunas hasta 5), por lo que la fertilidad con

este método es muy buena pero es necesario realizar un número elevado de inseminaciones.

Con base en la información anterior el objetivo del presente trabajo fue comparar la fertilidad obtenida con diferentes protocolos de inseminación cervical: dos veces al día a lo largo del estro, una sola inseminación a tiempo fijo, o doble inseminación a tiempo fijo, utilizando semen fresco.

## **REVISIÓN DE LITERATURA**

### **Situación actual del ovino Pelibuey en México**

En el año 2014 habían 8.6 millones de cabezas de ovinos en el territorio nacional, de las cuales 23,500 cabezas fueron importadas. La producción anual de carne para abasto fue alrededor de 58 mil toneladas y se produjeron 5 mil toneladas de lana sucia, con un crecimiento anual de 1.6 y 0.7, respectivamente. Los estados con mayor número de cabezas son el Estado de México con 14.8% e Hidalgo, con el 12.5% de la población nacional. En cuanto a la venta, el precio de la carne alcanzó los 52.02 pesos por kilo, sacrificándose un total de 2,915,534 animales, con un peso promedio de 20 Kg (SIAP, 2014).

Respecto a la raza Pelibuey, se le encuentra en casi la totalidad de la República Mexicana y se considera que constituye la mitad del rebaño nacional debido a que por su baja estacionalidad y alta prolificidad, es utilizada en varios empadres al año como raza materna para el cruzamiento con razas más pesadas. (Valencia y Roldán, 2013)

### **Sincronización del ciclo estral**

Dentro de los métodos que existen para regular y sincronizar el ciclo estral se encuentran aquellos basados en progesterona y sus análogos, y los basados en el uso de prostaglandinas. A continuación se describe brevemente el principio de cada uno de estos.

## Progesterona y sus análogos

La progesterona y sus análogos sintéticos son hormonas esteroideas que se utilizan para simular la presencia de un cuerpo lúteo natural, inhibiendo la secreción de LH por la adenohipófisis, por lo que no se produce una nueva ovulación mientras los progestágenos sigan presentes en la circulación (Hansel and Convey, 1983), pero las ovulaciones se reanudan pocos días después de dejarse de administrar o de retirarse el progestágeno. Los dispositivos intravaginales impregnados con progestágenos se han usado a partir de los años sesentas para sincronizar el ciclo estral en ovejas (Robinson *et al.*, 1970). Dentro de los dispositivos más utilizados está el CIDR (Controlled Internal Drug Release) que es un implante de silicón que contiene progesterona natural (0.3 g) que se va liberando gradualmente, siendo absorbida hacia la circulación por la mucosa vaginal (Welch *et al.*, 1984), provocando que dos horas después de la colocación del dispositivo ya existan concentraciones séricas de entre 1.9 a 5.5 ng/mL de progesterona (Ainsworth and Downey, 1986; Hamra *et al.*, 1986; Wheaton *et al.*, 1993). Otro sistema muy utilizado son las esponjas intravaginales impregnadas con progestágenos sintéticos, como el acetato de fluorogestona (20 mg) o el acetato de medroxiprogesterona (60 mg), progestágenos que también se absorben hacia la circulación para simular la presencia de un cuerpo lúteo productor de progesterona, obteniendo un efectos similar a un CIDR (Wildeus, 2000). El acetato de melengestrol es otro progestágeno utilizado para el control del ciclo estral al ser administrado por vía oral mezclado en el alimento (0.25 mg/individuo/día) (Gordon, 1975; Daniel *et al.*, 2001). Tanto la progesterona natural como los progestágenos sintéticos se administran por periodos de 12 a 14

días para permitir la regresión natural de cualquier cuerpo lúteo presente al iniciar su administración, a pesar de lo cual la presencia del progestágeno continua simulando la presencia de un cuerpo lúteo hasta el momento de ser retirado, con aparición del estro en promedio 48 horas después del retiro de la administración (Wildeus 2000; Abecia *et al.*, 2012).

### Prostaglandinas

Otra forma de sincronizar el estro es ocasionando la luteólisis, al aplicar prostaglandina PGF<sub>2</sub>α. La administración exógena de esta prostaglandina o alguno de sus análogos sintéticos son un buen método para eliminar el cuerpo lúteo, lo que induce una fase folicular con una subsecuente ovulación (McCracken *et al.*, 1972; Douglas and Ginther, 1973). Estas hormonas se aplican por vía intramuscular, y después de realizar su acción, el 99% es transformado en metabolitos inactivos al pasar por el pulmón (Davis *et al.*, 1980).

Para que las prostaglandinas naturales o sintéticas cumplan su función es necesaria la presencia de un cuerpo lúteo funcional con receptores también funcionales, los cuales se presentan a partir del tercer día del ciclo estral. Por esta razón se recomienda administrarla a partir del quinto día del ciclo estral (Rubianes *et al.*, 2003). Una opción cuando no se conoce el día del ciclo en el que se encuentra la oveja es realizar dos administraciones de PGF<sub>2</sub>α con 7 días de separación entre ellas. (Wildeus, 2000; Rubianes *et al.*, 2003; Abecia, *et al.*, 2012). El estro se presenta entre 46 a 48 horas después de la aplicación de la hormona mientras que el pico de LH ocurre a las 62 horas (Wildeus, 2000).

En un protocolo combinado de progestágenos con prostaglandinas, el objetivo es reducir a 6 días el tiempo de inserción del dispositivo vaginal con el progestágeno, ya que así no es necesario esperar la regresión natural de los cuerpos lúteos. Esperándose la presentación del celo en un periodo menor, entre las 36 a 48 horas después del retiro del dispositivo y la aplicación de la prostaglandina (Wildeus, 2000; Abecia y Forcada, 2010; Abecia, *et al.*, 2012).

### **Características de la inseminación artificial**

Dentro de las técnicas de reproducción asistida nos encontramos a la inseminación artificial. Para esto, el semen es obtenido mediante el uso de la vagina artificial o por electroeyaculación y es depositado en el aparato reproductor de la hembra con ayuda de una pipeta (Colas *et al.*, 1968). La inseminación artificial se puede realizar con semen fresco, refrigerado o congelado. A partir del método de conservación del semen se determina el sitio más adecuado para el depósito de la dosis de inseminación: vaginal, cervical o directamente en el cuerno uterino (Rival *et al.*, 1984; Evans and Maxwell, 1990; Martínez *et al.*, 2009).

Algunos de los factores que afectan la efectividad de esta técnica son la edad de la hembra, los procesos de dilución-conservación del semen, la disposición anatómica del cérvix, el momento y el número de inseminaciones realizadas (Halbert *et al.*, 1990; Vallet *et al.*, 1992; Parraguez *et al.*, 2000). De estas, la

principal causa de variabilidad en la fertilidad es la anatomía del cérvix, ya que constituye una barrera inicial para el ascenso de los espermatozoides, que limita el número de los que logran alcanzar el sitio de la fertilización (Lightfoot and Salamon, 1970; Salamon and Maxwell, 1995).

El uso de semen fresco ofrece varias ventajas ya que permite una difusión masiva y rápida de características deseables de los reproductores con alto potencial reproductivo y productivo, así como usar carneros viejos o que por alguna lesión no sean capaces de realizar una monta. También es útil para inseminar ovejas ubicadas en lugares distantes, para aumentar la relación hembra-macho (1020:1) (Maxwell, 1984) y para ayudar en el control de algunas enfermedades de transmisión sexual al evitar el contacto directo entre animales.

Para la técnica de inseminación artificial cervical se procede a localizar el cérvix con un vaginoscopio, a través del cual se introduce la pipeta de inseminación, cuya punta presenta un ángulo de 30°, lo que permite pasar algunos de los anillos del cérvix. Se recomienda, en la medida de lo posible, depositar el semen a una profundidad de tres centímetros en el canal cervical, o lo más cranealmente posible, evitando dañar la mucosa (Córdoba *et al.*, 1989).

Además de la IA cervical, hay otros diferentes sitios de deposición del semen, como son la vagina o el interior del útero, para lo que se utilizan diferentes técnicas. Para realizar una inseminación vaginal se utiliza simplemente un pipeta de inseminación sin la necesidad de localizar el cérvix, ya que la dosis de

inseminación se deposita en la vagina anterior (Balcázar y Álvarez, 2013). Para que esta técnica sea efectiva se requiere una dosis de 400 millones de espermatozoides en un volumen de 0.25 a 0.50 mL (Evans and Maxwell, 1990).

Con el objeto de disminuir el número de espermatozoides requeridos con semen fresco, y para permitir el uso de semen congelado, Lightfoot and Salamon (1970), desarrollaron la inseminación artificial intrauterina llevada a cabo mediante la exposición quirúrgica de los cuernos uterinos, lo que provocaba baja fertilidad asociada al procedimiento. Encontraron un elevado porcentaje de concepción pero seguido por una elevada mortalidad embrionaria que atribuyeron a la cirugía. Posteriormente, Killeen y Caffery en 1982, modificaron la técnica utilizando un laparoscopio para evitar la cirugía. Con ésta técnica se logra una fertilidad comparable a la obtenida con monta natural (Mier *et al.*, 1995). También al inseminar ovejas superovuladas se obtiene un número similar de embriones al comparar la monta natural con la inseminación intrauterina asistida por laparoscopia (Cerbón *et al.*, 1995). Esta técnica permite reducir el número de espermatozoides a 40 millones utilizando semen congelado (Maxwell 1984; Ritar and Ball, 1993) y en un volumen de 0.05 a 0.10 mL (Evans and Maxwell, 1990).

La IA intrauterina debe realizarse lo más cerca posible de la ovulación sin llegar a coincidir con ella (Scudamore *et al.*, 1991; Maxwell *et al.*, 1993). Para ello se recomienda realizarla entre 55 y 63 horas después del retiro del progestágeno, depositando el semen lo más cerca posible al sitio de fertilización (Cerbón *et al.*, 1995; Mier *et al.*, 1995). Para esta técnica se necesita un laparoscopio rígido de 5

ó 10 mm de diámetro, conectado por fibra óptica a una fuente de luz fría. También se requieren dos cánulas/trocar, un manipulador de vísceras, una pistola de inseminación, un insuflador y un áspic. Las hembras deben ser dietadas antes de la laparoscopia, y se les debe administrar un tranquilizante, como xilazina en dosis de 0.01 a 0.22 g/Kg de peso (Cerbón *et al.*, 1995; Maerker, 1992) o acepromacina en dosis de 20 mg por cada 50 Kg de peso administrado por vía endovenosa (Feini *et al.*, 1992). Para producir una anestesia disociativa se usa ketamina base por vía endovenosa (2mg/Kg de peso) (Ehiling and Wirth, 2003). Previamente es necesario rasurar y desinfectar la zona donde se introducirán los trócares.

Para la laparoscopia se coloca a la oveja anestesiada en una camilla a 45° de inclinación con respecto a la horizontal. Se hace la primera incisión a 3 cm del lado derecho de la línea media y a 10 cm adelante de la ubre. Se insufla para localizar fácilmente el útero, se procede a introducir el trocar, se deja la primera cánula para el telescopio y la segunda cánula para el manipulador de vísceras. Una vez localizados los cuernos, con un áspic se punciona cada uno de los cuernos, administrando media dosis de semen a cada uno. Con esta técnica se consigue desde 59 a 80% de fertilidad (Balcázar y Álvarez, 2013). Como se desprende de la descripción anterior, aun cuando con el manejo laparoscópico se obtienen buenos porcentajes de fertilidad, para lograr esto se requiere de equipo especializado, manejo de diversos fármacos y un manejo más cuidadoso de los animales (Cerbón *et al.*, 1995), además del tiempo requerido para realizar el procedimiento en cada animal. Por esta razón la inseminación laparoscópica

solamente se recomienda para semen descongelado, ya que con este semen se obtiene muy baja fertilidad cuando se utiliza la inseminación vaginal o cervical (Evans and Maxwell, 1990).

## **Momento de la inseminación**

En la oveja no existe un signo externo el cual permita conocer el momento exacto de la ovulación (Durán del Campo, 1980), por lo que es necesario programar el momento de la inseminación a partir del inicio de la conducta estral o a partir del calendario de sincronización utilizado. Se ha establecido que en la mayoría de las ovejas la ovulación ocurre entre 25 y 30 horas después del inicio del estro, y se sabe también que el semen debe estar presente en el aparato genital algunas horas antes de la ovulación con el objeto de que los espermatozoides puedan capacitarse (Durán del Campo, 1980; Evans y Maxwell, 1990; Balcazar y Alvarez, 2013). Por ello se considera que, en términos generales, la IA se debe llevar a cabo entre 12 y 18 horas después de iniciado el estro natural (Evans y Maxwell, 1990), y en hembras con celo sincronizado entre 8 y 14 horas después de detectado el estro, con el fin de inseminar en un momento más cercano a la ovulación (Rival *et al.*, 1984; Balcázar y Álvarez, 2013). Cuando no se quiere o no se puede realizar una detección frecuente de signos de estro se recomienda en forma práctica inseminar entre 55 y 56 horas después del retiro del progestágeno (Evans *et al.*, 1987), tomando en cuenta que en promedio transcurren 48 horas entre dicho retiro y el inicio del estro.

## Procesamiento del semen

Para el uso de la IA se puede utilizar semen en diferentes tipos de conservación, ya sea fresco, refrigerado o congelado. En todos los casos se colecta al macho con vagina artificial o por electroeyaculación (Colas *et al.*, 1968). Cuando se utiliza semen fresco, ya sea diluido o sin diluir, este se mantiene a 30 °C, hasta el momento de la inseminación, que debe realizarse casi de inmediato. El semen fresco se puede utilizar con efectividad para inseminación cervical, ofreciendo porcentajes de fertilidad del 67 (Maxwell, 1984).

Una forma de conservar el semen es diluirlo en tris-fructosa-yema de huevo y mantenerlo refrigerado a 5°C hasta por 4 días para IA intrauterina (Maxwell, 1984), o por 24 horas para IA cervical (Salamon *et al.*, 1979). Este método de conservación permite movilizar el semen a otros sitios sin necesidad de congelarlo (Evans and Maxwell, 1990).

El método más duradero de conservación del semen es la congelación. Un procedimiento para congelar semen, desarrollado por Salamon y Visser (1972). Este consiste en diluir el semen fresco en un medio a base de Tris, agregando glicerol como agente crioprotector. La dilución se enfría lentamente a 5°C, a una velocidad de -0.2 a -0.4°C/minuto (Evans and Maxwell, 1990), seguido de un periodo de equilibrio que dura entre 1.5 a 2 horas. Posteriormente se induce el congelamiento mediante la exposición de las pajillas a vapores de nitrógeno

líquido de manera manual o automatizada. Para ello, las pajillas y el nitrógeno líquido son colocados dentro de una caja aislante, colocando las pajillas en gradillas a 3 o 4 cm del nivel del nitrógeno líquido. Al exponerlos de esta manera a los vapores del nitrógeno (-80ª a -100°C), se regula la velocidad de congelación, que debe oscilar entre 10 a 100°C/minuto, permaneciendo así durante un periodo de 10 a 20 minutos. Finalmente, las pajillas son almacenadas en nitrógeno líquido a -196°C (Evans and Maxwell, 1990). Con este método de conservación se mantiene la fertilidad del semen sin variaciones por al menos 5 años (Salamon and Visser, 1974). A pesar de la ventaja de su larga durabilidad, como ya se mencionó, el semen congelado tiene la desventaja de requerir de la inseminación intrauterina para lograr fertilidad aceptable (Maxwell, 1984).

### **Sobrealimentación (Flushing)**

En la actualidad la producción animal a gran escala requiere satisfacer las exigencias de los consumidores, generando productos de alta calidad con sistemas socialmente aceptables y económicamente accesibles. Los programas de suplementación estratégica para mejorar la eficiencia reproductiva de los ovinos pueden ayudar a lograr este objetivo (Sacaramuzzi *et al.*, 2006). Estos efectos nutricionales se puede presentar de 3 formas: 1- El efecto agudo de una suplementación a muy corto plazo que no llega a ocasionar cambios de peso “efecto nutricional agudo” (Stewart and Oldham, 1986; Letelier *et al.*, 2008); 2- El efecto dinámico de una suplementación a mediano plazo que está asociada con

un incremento en el peso corporal; y 3- El estático, asociado con un elevado peso corporal debido a una buena alimentación a largo plazo (Scaramuzzi *et al.*, 2006).

Una de las tecnologías reproductivas más antiguas, utilizadas para mejorar el manejo y su eficiencia en producción de crías en ovejas y en cabras es la Flushing (Scaramuzzi and Martin, 2008; Martin, 2009), que consiste en una fuerte suplementación energética a corto plazo para aumentar los porcentajes de ovulación. El primer reporte científico conocido del flushing se da en 1899, cuando se describe que ovejas que son más pesadas o con un alto consumo nutricional tienen una alta probabilidad de tener partos gemelares debido a un aumento en la tasa de ovulación (Heape, 1899; Coop, 1962; Morley *et al.*, 1978). Desde hace tiempo se conoce que una suplementación energética ofrecida durante 4 a 9 días antes del servicio aumenta la tasa de ovulación (Stewart and Oldham, 1986; Letelier *et al.*, 2008).

Downing y Scaramuzzi (1997) demostraron bajo condiciones experimentales, que las hembras en estado de hipoglucemia se inhibe la frecuencia de secreción pulsátil de LH y que un gasto energético importante como resultado de la lactación, retrasó la ovulación o impidió que esta se llevara a cabo (Rhodes *et al.*, 1995). La suplementación energética a corto plazo puede estimular la foliculogénesis (Webb *et al.*, 2004; Scaramuzzi *et al.*, 2006), incrementando la fertilidad debido a influencias nutricionales específicas sobre el propio folículo (Knight *et al.*, 1975; Wang *et al.*, 2004; Gaskins *et al.*, 2005).

Existe una variante en la técnica, conocida como “flushing ultracorto”; que consiste en una sola administración de una sustancia glucogénica al momento de inducir la luteólisis o al retirar un tratamiento con progestágenos. Con este método se ha logrado incrementar la tasa de ovulación, logrando que en el 89% de las ovejas se presente más de una ovulación, y que un 17.5% presente tres o más ovulaciones (Martínez, 2004; Gutiérrez *et al.*, 2011). Las sustancias comúnmente utilizadas como aditivos energéticos en la alimentación de pequeños rumiantes, por sus propiedades glucogénicas y anti-cetogénicas, son el glicerol y el propilenglicol (Rémond *et al.*, 1993; Kristensen and Raun, 2007). Si se realiza durante la luteólisis, el efecto agudo del “flushing ultracorto”, abre una ventana de 12 horas para la selección de folículos, ya que provoca un aumento transitorio de glucosa que logra estimular la selección de más de un folículo. Para que este estímulo sea efectivo su duración debe durar al menos 10 horas, sin exceder las 24 (Gutiérrez *et al.*, 2011).

Los resultados del estudio de Gutiérrez (2011) y de uno anterior (Viñoles *et al.*, 2005) sugieren que la selección y el desarrollo de los folículos está asociado con un aumento en las concentraciones de glucosa, insulina y leptina. La glucosa y las hormonas metabólicas actúan directamente a nivel de ovario para regular la esteroidogénesis (Poretsky *et al.*, 1999; Williams *et al.*, 2001; Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2004), lo que sugiere que el efecto de un “flushing ultracorto” no está actuando a través de la regulación de la esteroidogénesis, sino que probablemente lo hace al estimular la captación de glucosa por los folículos (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2004).

Una gran ventaja del flushing ultracorto para aumentar la tasa de ovulación es que cumple con los principios de una producción limpia, verde y ética para que en los sistemas comerciales y para que no dependan del uso de hormonas exógenas (Martin *et al.*, 2009).

## **HIPÓTESIS**

Cuando se insemina por vía cervical con semen fresco a ovejas Pelibuey la fertilidad aumenta cuando se hacen al menos dos inseminaciones durante todo el estro detectado, en comparación con la aplicación de una o dos inseminaciones a tiempo fijo.

## **OBJETIVOS**

- Comparar la fertilidad obtenida con los 3 distintos protocolos de inseminación artificial cervical con semen fresco.
- Determinar el esquema de inseminación artificial cervical con semen fresco con el que se obtiene mayor porcentaje de fertilidad.
- Identificar si en la inseminación a tiempo fijo el momento del inicio del estro tiene algún efecto negativo sobre la fertilidad.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Localización**

El estudio se llevó a cabo en el Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud Animal, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ) de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) ubicado en el km 28.5 de la carretera federal México-Cuernavaca, delegación Tlalpan, México, D.F., latitud 19° 13' N y longitud 99° 8' O, con una altura de 2,760 metros sobre el nivel del mar. La región tiene un clima semifrío-semihúmedo con lluvias en verano, con una precipitación pluvial de 800 a 1,200 milímetros anuales y temperatura promedio de 19° C (García, 1988).

### **Diseño**

El trabajo se realizó durante la segunda quincena de junio y el mes de julio, época de plena actividad reproductiva en la oveja Pelibuey en México (Valencia *et al.*, 1981).

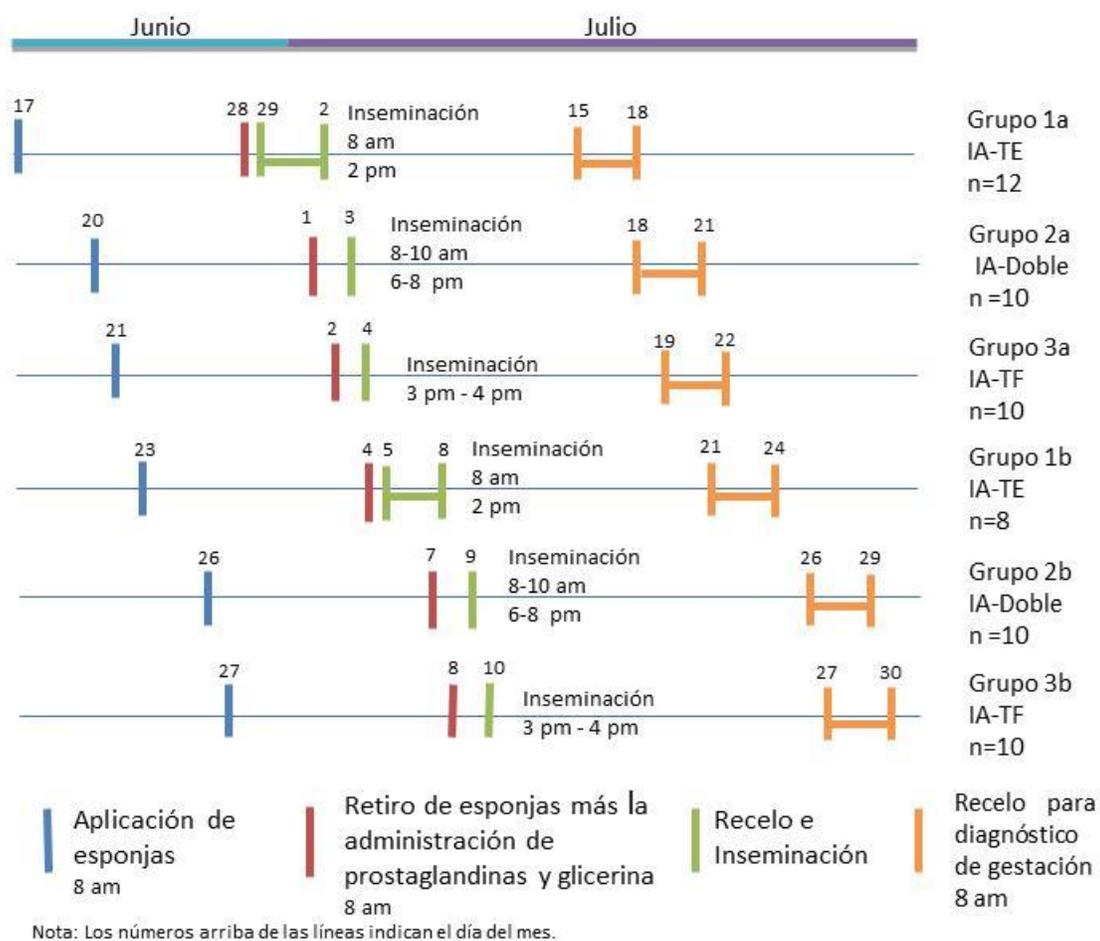
Se utilizaron 60 ovejas Pelibuey adultas de 3 a 7 años de edad y tres machos Pelibuey adultos, uno de ellos utilizado para recelar a las hembras y los otros dos machos, de aproximadamente dos años de edad, se utilizaron para la colección del semen. Las ovejas fueron distribuidas de manera aleatoria en 3 grupos de 20 ovejas cada uno (n=20), las cuales fueron sujetas a diferentes protocolos de inseminación como se describe más adelante. Las ovejas de todos los grupos fueron sincronizadas mediante el siguiente protocolo: durante once días se les

colocaron esponjas intravaginales con 20 mg de acetato de fluorogestona (FGA, cronolone), un análogo sintético de la progesterona (Wildeus, 2000; Abecia *et al.*, 2012). Al retiro de las esponjas se les administró una dosis de 0.5 mL (125 µg) de Cloprostenol, un análogo sintético de prostaglandina F2α. Al mismo tiempo, a las ovejas de los tres grupos se les administró por vía oral 50 mL de glicerina diluida en agua (9:1). Las ovejas se fueron sincronizando en subgrupos para que la concentración espermática de los machos no se viera disminuida por una frecuencia excesiva de colección de semen durante el desarrollo del experimento (Chang, 1945; Cameron *et al.*, 1984).

Las ovejas de los tres grupos experimentales se inseminaron por vía cervical con semen fresco colectado con vagina artificial (Colas *et al.*, 1968) y diluido con leche descremada ultrapasteurizada, de forma que se obtuviese una concentración de al menos 200 millones de espermatozoides en 0.15 mL de semen diluido (Salamon, 1962).

El protocolo de inseminación de cada grupo se describe a continuación: En el primer grupo (IA-TE) se realizaron dos inseminaciones por día (8 am y 2 pm) a partir de la primera detección del estro y durante todo el tiempo que la oveja se mantuvo en estro. En el segundo grupo se efectuó doble inseminación artificial a tiempo fijo (IA-Doble), la primera inseminación se realizó entre 48 y 50 horas y la segunda entre 58 y 60 horas, después del retiro de las esponjas vaginales (Evans *et al.*, 1984). El tercer grupo se inseminó a tiempo fijo (IA-TF), 55 a 56 horas después del retiro del progestágeno (Evans *et al.*, 1987). Para detectar el estro se

receló durante 15 minutos a las hembras de cada corral, 3 veces al día (7 am, 1 pm y 7 pm), utilizando para ello un macho celador con mandil. A pesar que en dos de los grupos las inseminaciones se realizaron a tiempo fijo en relación al retiro del progestágeno, en dichos grupos también se detectaron estros con el objeto de determinar el momento de inicio, momento de terminación y duración del estro. En la Figura 1 se indica el manejo realizado a cada grupo.



**Figura 1. Calendario de actividades.**

El diagnóstico de gestación se realizó en primera instancia por no retorno al estro a los 17 días después del inicio del estro, posteriormente se confirmó por ultrasonografía modo B, vía transrectal al día 35 de la última inseminación, el cual ofrece un nivel de confianza bastante elevado, entre 95 a 100% a partir del día 25, permitiendo observar la presencia de placentomas o del feto (Abecia y Forcada, 2010; Galina y Valencia, 2010), y finalmente por porcentaje de parición.

El semen de los machos se evaluó previo a la fase experimental para comprobar la viabilidad de los espermatozoides, así como para revisar las concentraciones espermáticas y calcular el número de dosis de inseminación, con el método descrito por Evans y Maxwell (1990), ver anexo cuadro 6a y 6b. Para todos los grupos se colectó a los dos carneros y se combinó el semen de ambos para realizar las inseminaciones (semen mezclado) y evitar diferencias en fertilidad debido al efecto de cada carnero.

## **Análisis estadístico**

El porcentaje de concepción (número de hembras diagnosticadas con gestación positiva al día 35, entre el número de hembras expuestas a la inseminación; Casino *et al.*, 2009) y el porcentaje de parición o fertilidad (hembras paridas con relación a las hembras expuestas a la inseminación artificial; Bonilla *et al.*, 1993; Casino *et al.*, 2009) se comparó entre grupos mediante Chi-cuadrada. Para analizar el Intervalo entre el retiro del progestágeno y el inicio del celo, la duración del estro y la mortalidad embrionaria, se realizó análisis de varianza (ANOVA) seguida de una prueba de Tukey para comparaciones múltiples, utilizando el programa estadístico SAS/STAT Versión 8.2 (SAS, 2014). La mortalidad embrionaria se determinó tomando el porcentaje de concepción, al cual se le restó el porcentaje de parición.

## RESULTADOS

En el Cuadro 1 se muestran los resultados de fertilidad y número de inseminaciones por oveja obtenidos en cada grupo experimental y en total. Las diferencias en fertilidad entre los grupos no son significativas ( $P=0.452$ ). Las hembras del grupo IA-TE recibieron en promedio 3.5 inseminaciones, aunque hubo hembras que recibieron desde 2 hasta 5 inseminaciones, dependiendo de la duración del estro de cada una.

**Cuadro 1**

**Porcentaje de fertilidad obtenida en cada grupo y en total**

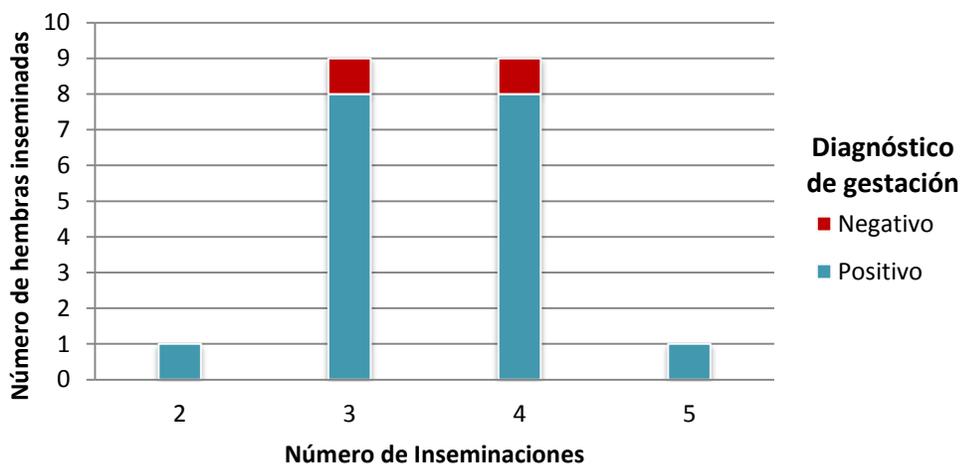
Grupo Experimental	IA-TE	IA-Doble	IA-TF	General
Número de Hembras	20	20	20	60
Ovejas diagnosticadas gestantes por ultrasonido (día 35)	18	15	16	49
Total de partos	14**	13	14	41
Número promedio de Inseminaciones por oveja	3.5	2	1	2.167
Concepción al día 35 (%) Promedio $\pm$ ee*	90 <sup>a</sup> $\pm$ 6.88	75 <sup>a</sup> $\pm$ 9.93	80 <sup>a</sup> $\pm$ 9.18	81.67 $\pm$ 5
Porcentaje de parición Promedio $\pm$ ee*	70 <sup>a</sup> $\pm$ 10.5	65 <sup>a</sup> $\pm$ 10.9	70 <sup>a</sup> $\pm$ 10.5	68.33 $\pm$ 6.1

**a. Literales iguales dentro de la misma fila indican que no hay diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ )**

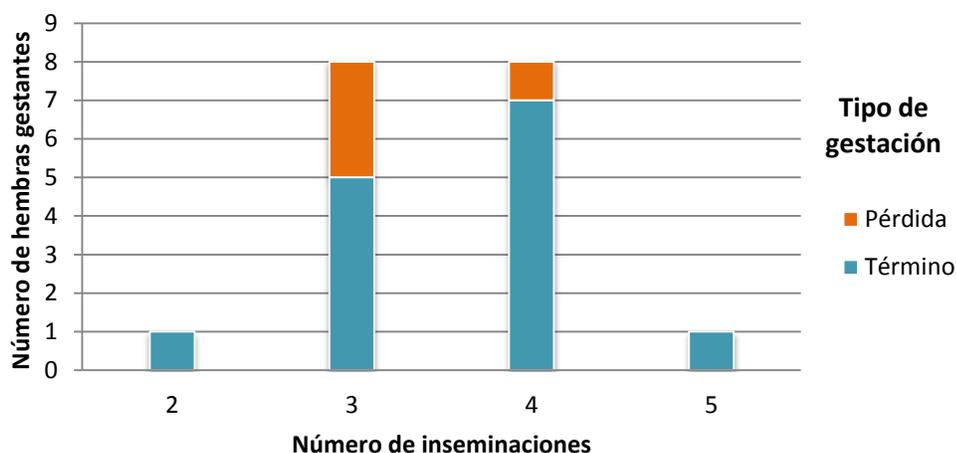
**\*Error estándar**

**\*\*Debieron llegar 15 a término, pero una hembra gestante falleció.**

Como puede observarse en la Figura 2, la mayoría de las ovejas del grupo IA-TE fueron inseminadas 3 ó 4 veces y casi todas las ovejas del grupo quedaron gestantes sin importar el número de inseminaciones recibidas. En la Figura 3 se muestra la fertilidad y pérdida de la gestación en hembras del grupo IA-TE.



**Figura 2.- Diagnóstico de gestación por ultrasonografía al día 35 con relación al número de Inseminaciones en el grupo IA-TE**



**Figura 3.- Fertilidad y pérdida de la gestación con relación al número de inseminaciones en el grupo IA-TE.**

En el Cuadro 2 se muestran los intervalos promedio entre la remoción de la esponja intravaginal y el inicio del estro en cada grupo, así como la duración promedio del estro. La primera hembra con signos de estro los presentó a las 30 horas después del retiro del progestágeno y los casos que más se retrasaron en presentarlo fue a las 60 horas (anexo, Figura 7). Se encontró diferencia estadística significativa en el intervalo al inicio del estro ( $P=0.013$ ) al comparar los grupos de IA-TE e IA-Doble con el grupo IA-TF. La duración mínima del estro fue de 12 horas y la máxima fue de 60 horas (anexo, Figura 8), sin que existiera diferencia entre los promedios de los grupos en la duración del estro ( $P=0.1694$ ). El comportamiento individual en cuanto inicio del estro después del retiro del progestágeno y duración del estro se pueden observar en el anexo Figura 9.

**Cuadro 2**

**Promedio y error estándar del tiempo de inicio y duración del estro (horas)  
de acuerdo al tratamiento y en total**

Grupo	IA-TE	IA-Doble	IA-TF	General
Intervalo entre el retiro del progestágeno y el inicio del estro	49.1 <sup>a</sup> ± 1.26	49.6 <sup>a</sup> ± 0.71	43.15 <sup>b</sup> ± 1.76	47.28 ± 0.838
Duración del Estro	30.6 <sup>a</sup> ± 1.84	28.5 <sup>a</sup> ± 1.89	33.9 <sup>a</sup> ± 2.27	31 ± 1.177

**a, b. Literales diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ )**

En cuanto a la mortalidad embrionaria (ME) se tuvo un porcentaje general de 16.33%; el grupo donde se obtuvo el mayor porcentaje fue IA-TE, sin embargo, no existió diferencia estadística entre grupos, véase Cuadro 3.

<b>Cuadro 3</b>				
<b>Promedio y error estándar de la mortalidad embrionaria por grupo y en total</b>				
Grupo	IA-TE	IA-Doble	IA-TF	General
DX de Gestación por ultrasonido (día 35)	18	15	16	49
Gestación a término	14**	13	14	41
ME % Promedio ± ee*	16.66 <sup>a</sup> ±0.095	13.33 <sup>a</sup> ±0.091	12.50 <sup>a</sup> ±0.085	16.33 ±0.051

a, b. Literales diferentes dentro de la fila indican diferencias significativas (P≤0.05)

\*Debieron llegar 15 a término, pero una hembra gestante falleció.

La duración de la gestación se puede observar en el Cuadro 4. La gestación individual más corta fue de 145 días y la más larga de 153 días.

<b>Cuadro 4</b>				
<b>Duración de la gestación (días) por grupo y en total</b>				
Grupo	IA-TE	IA-Doble	IA-TF	General
Promedio	147.93	149	148.62	148.5
Mínima	146	145	146	145
Máxima	150	152	153	153

En el Cuadro 5 se muestra el número de partos simples y múltiples así como la prolificidad promedio para cada grupo y en general. Las diferencias en prolificidad entre grupos no fueron significativas ( $p < 0.05$ )

**Cuadro 5**

**Tipo de parto y número de corderos nacidos por grupo y en total**

Grupo	IA-TE	IA-Doble	IA-TF	General
Sencillo	6	5	6	17
Doble	3	6	8	17
Triple	4	2	0	6
Cuádruple	1	0	0	1
Total de Partos	14	13	14	41
Corderos nacidos	28	23	22	73
Prolificidad	2.00 <sup>a</sup>	1.77 <sup>a</sup>	1.57 <sup>a</sup>	1.78 <sup>a</sup>

**a, b. Literales diferentes dentro de la misma fila indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ )**

En las figuras 4, 5 y 6 se muestra de manera individual el momento de la IA dependiendo si es a tiempo fijo (IA-TF, IA-Doble) o con estro detectado (IA-TE), se muestran las variaciones en el inicio del estro y su concordancia con el momento recomendado para la IA en los grupos experimentales.

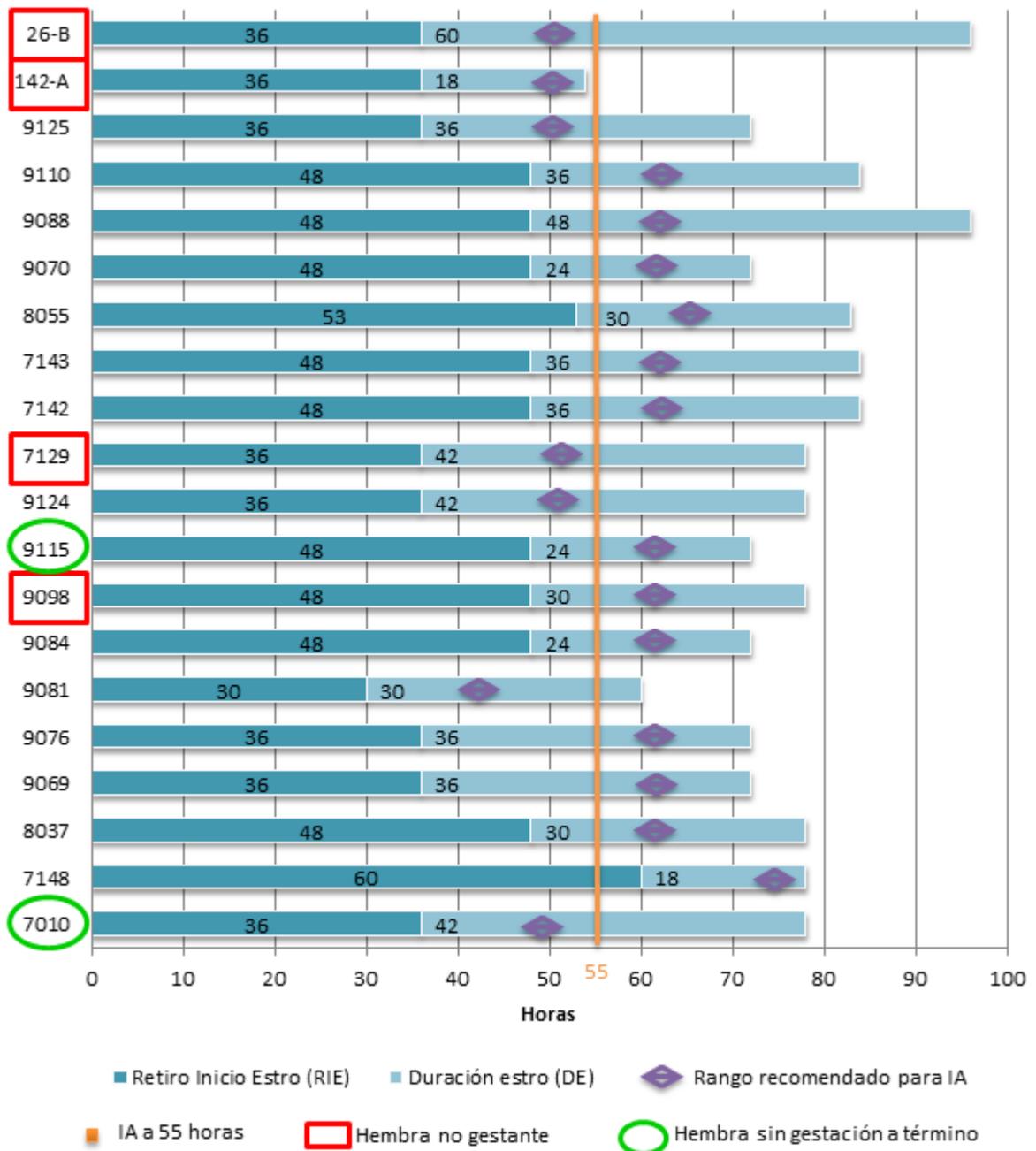


Figura 4.- Momento de la inseminación para cada individuo en el grupo IA-TF.

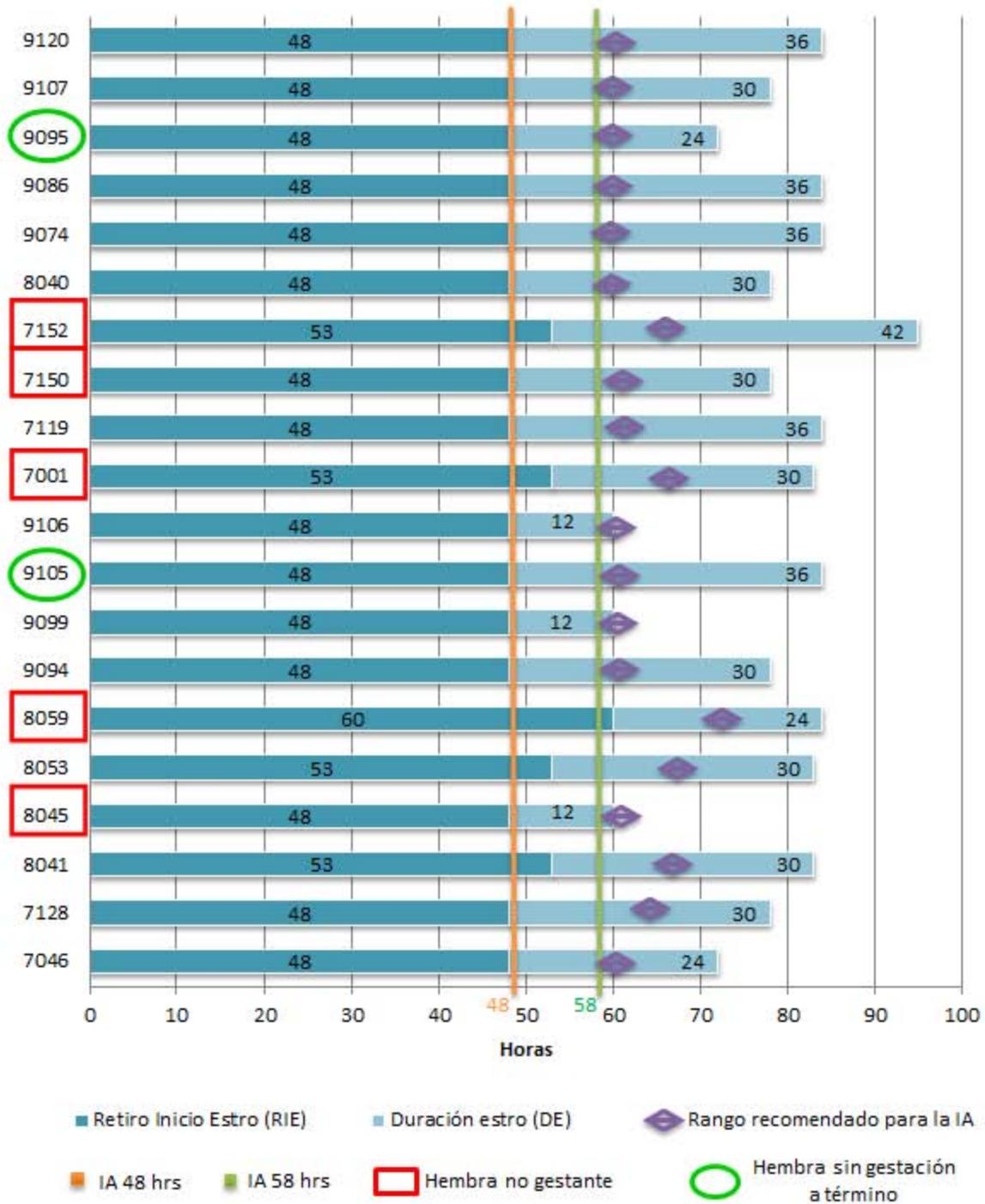
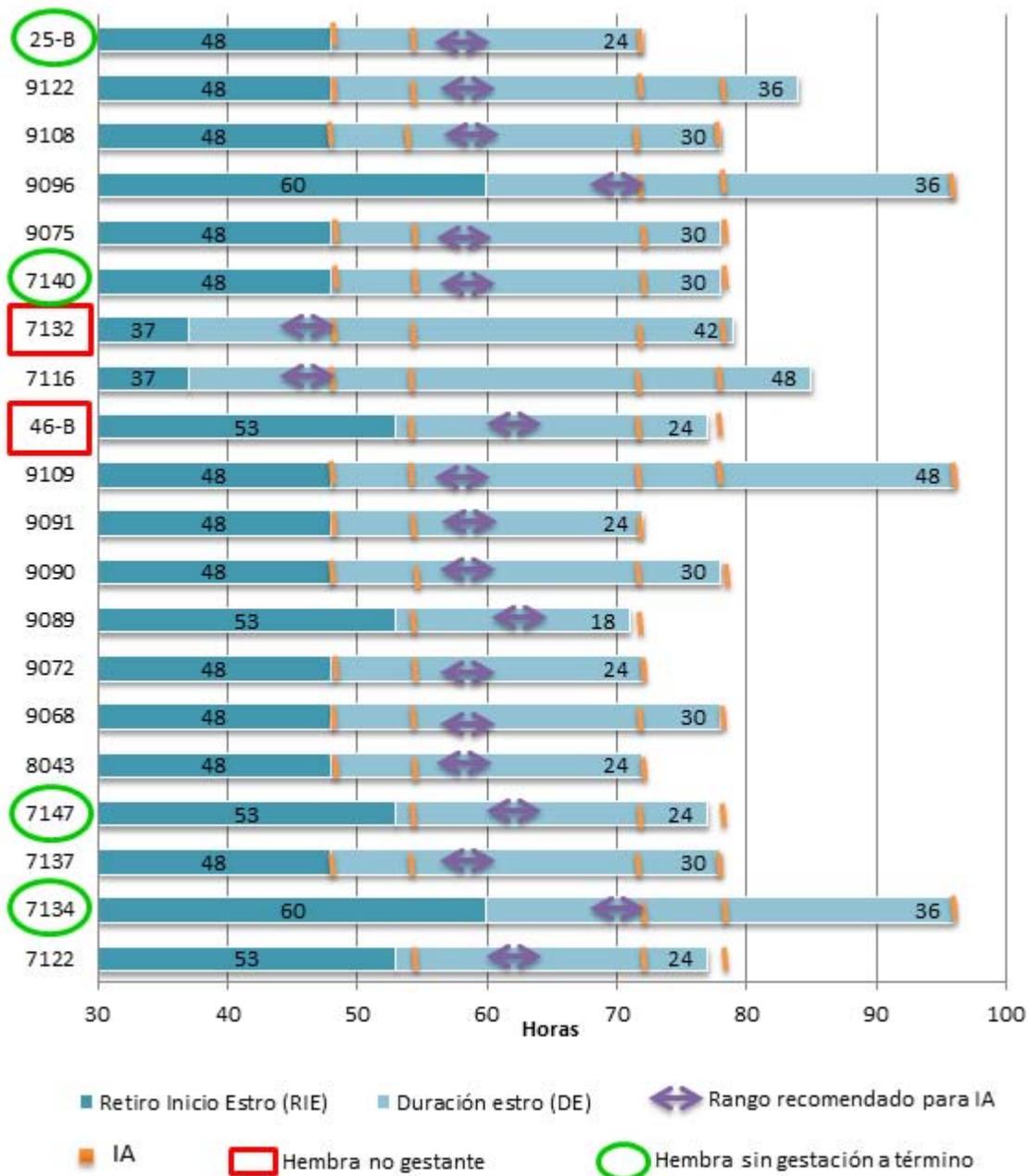


Figura 5.- Momento de ambas inseminaciones para cada individuo en el grupo IA-Doble.



**Figura 6.- Momento de las inseminaciones para cada individuo en el grupo IA-TE.**

## DISCUSIÓN

El presente trabajo se diseñó con el fin de determinar si un mayor número de inseminaciones aumenta la fertilidad de forma tal que se justifique un mayor manejo de los animales. Los resultados muestran que no hubo diferencia estadística en la fertilidad de los tres grupos, por lo que se tienen resultados similares al inseminar una sola vez o hasta cinco veces. Esto coincide con lo reportado por Salamon y Maxwell (1995), quienes mencionan que si la primera IA se realiza a la mitad del estro no vale la pena repetirla. Lo anterior indica que una inseminación cervical con semen fresco a tiempo fijo es suficiente para alcanzar una alta fertilidad si dicha inseminación se programa en el momento adecuado. Este método además nos ofrece la ventaja de evitar la detección de calores lo que implica mayor trabajo y manejo de los animales.

En este estudio, como se puede notar en el Cuadro 1, el grupo IA-Doble obtuvo el menor porcentaje de parición (65%), esto concuerda con el 66.7% encontrado por Salamon *et al.* (1979) con doble inseminación. En el grupo IA-TF se obtuvo un 70% de porcentaje de parición, el cual supera lo obtenido por otros autores (57.7%) con una sola inseminación por vía cervical utilizando semen fresco (Maxwell, 1984). De igual manera el grupo IA-TE supera a lo reportado en los dos protocolos de inseminación, obteniéndose un 70% de porcentaje de parición.

Al comparar el porcentaje de concepción y el porcentaje de parición (Cuadro 1), éste último presenta valores inferiores a los obtenidos en el porcentaje de concepción, similar a lo reportado por Casino *et al.* (2009) para ovejas de pelo, utilizando monta natural, quienes hicieron un comparativo entre la melaza y el aceite de maíz como fuente de ácidos grasos poliinsaturados; obteniendo por ultrasonografía 90 y 93% de concepción al día 35, disminuyendo a un 74.5 y 84.7% el porcentaje de parición, respectivamente.

Aunque en otros trabajos se ha mencionado que el estro se presenta entre 24 y 48 horas después del retiro del dispositivo intravaginal de progestágeno, más la administración de PGF2 $\alpha$  al retiro del dispositivo (Wildeus. 2000), en el presente trabajo este intervalo fue un poco mayor. Ya que la oveja que más rápidamente presentó estro lo hizo a las 30 horas, mientras que las ovejas que más se retrasaron en presentarlo lo hicieron a las 60 horas, con un promedio general para esta variable de 47.3 horas (cuadro 2), sin que aparentemente esto haya afectado la fertilidad. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Rodríguez *et al.* (2009), quienes encontraron que en la raza Pelibuey el estro se presenta aproximadamente 47 horas después del retiro del dispositivo.

Dentro de los grupos de IA a tiempo fijo, se esperaba que en el grupo IA-Doble se obtuviera la mayor fertilidad, como han informado otros autores (Salamon *et al.*, 1979). Sin embargo, en este grupo se obtuvo 65% de porcentaje de parición (similar a la fertilidad de los otros grupos). Cabe destacar que en algunas ovejas

de este grupo se retrasó el inicio del estro, lo que ocasionó que la primera inseminación en algunas de las hembras se llevara a cabo antes de que entraran en celo, como se puede ver en la Figura 5. Este retraso después de utilizar un tratamiento con FGA y prostaglandinas, ha sido descrito como resultado de la amplia variabilidad en los intervalos entre la luteólisis y el comienzo del estro o el pico de LH (Freitas *et al.*, 1997).

En cuanto al momento en que se realiza la inseminación, se recomienda que en hembras con estro sincronizado se insemine dentro de un rango de 8 a 14 horas después de iniciado el estro (Rival *et al.*, 1984; Balcázar y Álvarez, 2013), esto con el fin de inseminar en un momento más cercano a la ovulación. En este caso para el grupo IA-TF ninguna IA se realizó dentro del rango recomendado (Figura 4), mientras que para el grupo IA-TE solo en cuatro individuos coincidió este rango (Figura 6), tomando en cuenta que obtuvieron un porcentaje de fertilidad de 70. Por el contrario, en el grupo IA-Doble aun con el retraso antes mencionado, la segunda IA se realizó dentro del rango recomendado en la mayoría de los individuos (13) de este grupo (Figura 5), sin embargo esto no tuvo un efecto que incrementara el porcentaje de fertilidad.

Para eliminar el efecto del carnero sobre la fertilidad, en este estudio se decidió mezclar el semen de los dos machos. Dado que los resultados en fertilidad en todos los grupos fueron similares o superaron lo reportado, surge la pregunta de si al realizar una mezcla con el semen de diferentes machos se crea sinergia, es

decir, si esto aumenta la fertilidad. Al respecto, existen pocos datos sobre la heterospermia en bovinos y porcinos, por lo que habría que determinar en trabajos futuros si en ovinos esta asunción es correcta.

En el presente trabajo se decidió utilizar el “flushing ultracorto” ya que se sabe que incrementa la tasa de ovulación (Gutiérrez *et al.*, 2011), además que ya se ha utilizado en la inseminación artificial a tiempo fijo (Leboeuf *et al.*, 1998). Este puede ser un método para aumentar la prolificidad evitando el uso de hormonas como la eCG, de la cual se sabe que aumenta la tasa de ovulación, sin embargo cuando es usada repetidamente en las mismas hembras su eficiencia se ve disminuida, debido al desarrollo de anticuerpos (IgG) contra la eCG por tratarse de una hormona de una especie distinta (Bodin *et al.*, 1997; Roy *et al.*, 1999a; Roy *et al.*, 1999b). En estos individuos, después de un segundo o posterior tratamiento con eCG se eleva la cantidad de estos anticuerpos en plasma (Roy *et al.*, 1999b), lo que tiene un efecto negativo sobre la maduración final de los folículos y su ovulación, sobre todo en los casos en los que se utiliza la IA a tiempo fijo ya que se retrasa el inicio del estro y, por lo mismo, la ovulación.

Langford *et al.* (1983) reportan que la fertilidad varía dependiendo de la época del año y del número de inseminaciones a tiempo fijo, utilizando eCG (500 UI), obteniendo en el mes de junio 52% de fertilidad con una sola inseminación y 70% con doble inseminación, mientras que en el mes de octubre bajo el mismo tratamiento, reportan 69 y 80%, respectivamente. Comparando estos datos con

los obtenidos en el presente estudio, los grupos IA-TF e IA-TE (70% para ambos), superan a lo obtenido con una sola inseminación a tiempo fijo y son similares a la doble inseminación del mes de junio. Para el mes de octubre los resultados son similares solo con una inseminación a tiempo fijo; es importante destacar que en el presente trabajo se hizo uso del “flushing ultracorto” en lugar de la aplicación de eCG. Lo anterior sugiere que la utilización de este método pudiera suplir el uso de la eCG, evitando así sus efectos secundarios, por lo que tendrían que realizarse estudios adicionales para comprobar esta teoría.

La prolificidad encontrada en este trabajo varió entre 1.57 y 2 corderos por parto. Aun con el uso del flushing ultracorto, este parámetro fue inferior a lo reportado por Langford *et al.* (1983), quienes con el uso de eCG (500 UI) obtuvieron una prolificidad de 2 a 2.1 corderos por parto.

La mortalidad embrionaria (ME) varió entre 12.5 y 16.6%, sin que existieran diferencias entre grupos. Otros investigadores han encontrado una mortalidad mayor (22 y 44%, con y sin el uso de eCG, respectivamente; Langford *et al.*, 1983), lo cual, indica que no hubo efecto sobre la ME que pudiera adjudicarse al número de inseminaciones o al uso del “flushing ultracorto”.

La inseminación cervical con semen fresco ofrece muchas ventajas, ya que es sencilla y requiere de un equipo mínimo; sin embargo, también tiene algunas limitantes, ya que se requiere de 200 millones de espermatozoides por

inseminación (Evans and Maxwell, 1990). En el presente estudio, el número de dosis que fue posible obtener a partir de cada eyaculado varió entre 8 y 22. Esto permite aumentar la relación macho/hembras, manteniendo un porcentaje de fertilidad similar al obtenido con monta natural (80%; Menchaca and Rubianes, 2004) sin el uso de equipo sofisticado o manejo excesivo de las hembras.

## **CONCLUSIÓN**

Se concluye que no existe diferencia en la fertilidad de las ovejas que son inseminadas con semen fresco una, dos o más veces, por vía cervical durante el estro.

Una sola inseminación a tiempo fijo permite obtener una alta fertilidad sin necesidad de detectar celo.

Un mayor manejo que implica inseminar dos o más veces no aumenta ni disminuye la mortalidad embrionaria.

## REFERENCIAS

Abecia JA, Forcada F, González-Bulnes A. 2012. Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Anim Reprod Sci* 130:173- 179.

Abecia MA, Forcada MF. 2010. Manejo reproductivo en ganado ovino. Zaragoza, España. Asis Biomedicas.

Ainsworth L, Downey BR. 1986. A controlled internal drug-release dispenser containing progesterone for control of the estrous cycle of ewes. *Theriogenology* 26:847-856.

Balcazar SJA, Alvarez LJA. 2013. Apuntes Sobre Reproducción del Ovino en: Especialización en Producción Animal: Ovinos. Sistema de Universidad Abierta. Mexico D. F. UNAM. 25-35.

Bodin L, Drion PV, Remy B, Brice G, Cognie Y, Beckers JF. 1997. Anti- PMSG antibody levels in sheep subjected annually to oestrus synchronisation. *Reprod Nutr Dev* 37:651-660.

Bonilla ALM, Torres HG, Rubio RM. 1993. Fertilidad, prolificidad y sobrevivencia de crías en un rebaño comercial de ovinos Suffolk. *Veterinaria México* 24(3): 231-234.

Cameron AWN, Fairnie IJ, Curnow DH, Keogh EJ, Lindsay DR. 1984. The influence of frequency of semen collection on daily sperm output of rams. *Proc. Australian Society of Animal Production* 15:659.

Casino AG, Herrera CJ, Aké LJR. 2009. Tasas de concepción, fertilidad y prolificidad en ovejas de pelo alimentadas con dietas enriquecidas con ácidos grasos poliinsaturados. *Universidad y ciencia* 25:181-185.

Cerbón JL, Valencia J, Balcázar SA, Zarco L, Luyando C, Saharrea A, Mejía O. 1995. Recuperación de embriones en ovejas superovuladas inseminadas intrauterinamente o por monta natural. VII Congreso Nacional de Producción Ovina. Chapingo, México. 112-116.

Chang MC. 1945. The sperm production of adult rams in relation to frequency of semen collection. *J Agric Sci* 35:243-245.

Colas G, Dauzier L, Courrot M, Ortavant R, Signoret JP. 1968. Resultats obtenus au cours de l'étude de quelques facteurs importants de l'insemination artificielle ovine. *Annal Zootech* 17:47-57.

Colas G, Thimonier J, Courrot M, Ortavant R. 1973. Fertilité, prolificité et fécondité pendant la saison sexuelle des brebis inséminées artificiellement après traitement à l'acétate de fluorogestone. *Annal Zootech* 22:441-451.

Coop IE. 1962. Liveweight-productivity relationships in sheep. *New Z J Agric Res* 5:249-264.

Cordoba M, Feldman D, Valencia J, Ortiz A. 1989. Fertilidad de ovejas inseminadas utilizando dos diluyentes para semen fresco. *Vet Méx* 20:419-422.

Daniel JA, Sterle SW, McFadin-Buff EL, Keisler DH. 2001. Breeding ewes out-of-season using melengestrol acetate, one injection of progesterone, or a controlled internal drug releasing device. *Theriogenology* 56:105-110.

Davis AJ, Fleet IR, Harrison FA, Maule Walker FM. 1980. Pulmonary metabolism of prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  in the conscious non-pregnant ewe and sow. *J Physiol* 301:86.

Douglas RH, Ginther OJ. 1973. Luteolysis following a single injection of PGF<sub>2</sub> $\alpha$  in sheep. *J Anim Sci* 37:990-993.

Downing JA, Scaramuzzi RJ. 1997. The effect of the infusion of insulin during the luteal phase of the estrous cycle on the ovulation rate and on plasma concentrations of LH, FSH and glucose in ewes. *Theriogenology* 47:747-759.

Durán del Campo A. 1980. Anatomía, fisiología de la reproducción e inseminación artificial en ovinos. Montevideo, Uruguay: Ed. Hemisferio Sur.

Ehiling C, Wirth P. 2003. Laparoscopic intrauterine insemination with different doses of fresh, conserved and frozen semen for the production ovine zygotes. *Theriogenology* 60(4):777-787.

Evans G, Maxwell WMC, Salamon S. 1987. Salamon's artificial insemination of sheeps and goats. Sydney, Australia: Butterworth-Heinemann.

Evans G, Maxwell WMC. 1990. Inseminación artificial en ovejas y cabras. 4<sup>a</sup> ed. Editorial Acriba, S.A., Zaragoza, España.

Evans G, Holland MK, Nottle HB, Sharp PH, Armstrong DT. 1984. Production of embryos in sheep using FSH preparation and laparoscopic intrauterine insemination. En: Lindsay D.R. Pearce D.T. (Eds.). *Reproduction in Sheep*. London. Cambridge University Press. Cambridge University Press 313-315.

Fieni F, Roques JM, Tainturier D, Bruyas J. 1992. Utilisation du controle endoscopique pour l'insémination intra-utérine chez les petits ruminants. *Recueil Méd Vét* 162:295-302.

Freitas VJF, Baril G, Martin GB, Saumande J. 1997. Physiological limits to further improvement in the efficiency of oestrus synchronization in goats. *Reprod Fertil Dev* 9:551-556.

Galina C, Valencia J. 2010. *Reproducción de animales domésticos*. 3<sup>a</sup> ed. México: Limusa.

García ME. 1988. *Modificación al sistema de clasificación climatológica de Köppen*. Offset Larios S.A. (editor), México.

Gaskins CT, Snowden GD, Westman MK, Evans M. 2005. Influence of body weight, age, and weight gain on fertility and prolificacy in four breeds of ewe lambs. *J Anim Sci* 83:1680-1689.

Gordon I. 1975. The use of progestagens in sheep by natural and artificial insemination. *Annal Biol Anim Bioch Biophys* 15:303-315.

Gutierrez C, Ferraro S, Martinez V, Saharrea A, Cortez C, Lassala A, Basurto H, Hernandez J. 2011. Increasing ovulation quota: more than a matter of energy. *Acta Sci Vet* 39(1): 305-316.

Halbert GW, Dobson H, Walton JS, Buckrell BC. 1990. The structure of the cervical canal of the ewe. *Theriogenology* 33:977-992.

Hamra, AH, Massri YG, Marcek JM, Wheaton JE. 1986. Plasma progesterone levels in ewes treated with progesterone controlled internal drug release dispensers, implants and sponges. *Anim Reprod Sci* 11:187-194.

Hansel W, Convey EM. 1983. Physiology of the estrous cycle. *J Anim Sci* 57:404-424.

Heape W. 1899. Abortion, barrenness and fertility in sheep. *J Royal Agric Soc* 10: 217-248.

Killeen ID, Caffery GJ. 1982. Uterine insemination of ewe with the aid of a laparoscope. *Austr Vet J* 35:256.

Knight TW, Oldham CM, Lindsay DR. 1975. Studies in ovine infertility in agricultural regions in Western Australia: the influence of a supplement of lupins (*Lupinus angustifolius* cv. Uniwhite) at joining on the reproductive performance of ewes. *Austr J Agric Res* 26:567-576.

Kristensen NB, Raun BML. 2007. Ruminal and intermediary metabolism of propylene glycol in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci* 90(10):4707-4717.

Langford GA, Marcus GJ, Batra TR. 1983. Seasonal effects of PMSG and number of inseminations on fertility of progestagen-treated sheep. *J Anim Sci* 57:307-312.

Leboeuf B, Manfredi E, Boué P, Piacére A, Brice G, Broqua C, Humbolt P, Terqui M. 1998. Artificial insemination of dairy goats in France. *Livest Prod Sci* 55:193-203.

Letelier C, Mallo F, Encinas T, Ros JM, Gonzalez-Bulnes A. 2008. Glucogenic supply increases ovulation rate by modifying follicle recruitment and subsequent development of preovulatory follicles without effects on ghrelin secretion. *Reprod Res* 136:65-72.

Lightfoot R, Salamon S. 1970. Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. 1 transport and viability of spermatozoa within the genital tract of the ewe. *J Reprod Fertil* 22:385-398.

Martin G.B. 2009. The 'Clean, Green and Ethical' concept in animal production. *Agrociencia* 12(3):1-7.

Martinez RD, Reyna SL, Michel AL, Mastache LAA, Hernandez IJ, Rojas M. S. 2009. Cervical or intrauterine artificial insemination in Pelibuey ewes, with chilled semen. *J Anim Vet Adv* 8:2621-2625.

Martínez V. 2004. Efecto del tratamiento con una solución glucogénica oral sobre la tasa de ovulación en ovejas Pelibuey. [Tesis de Maestría en Ciencias]. Ciudad de México. México D.F. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM.

Maxwell WMC, Evans G, Rhodes S, Hillard M, Bidon B. 1993. Fertility of superovulated ewes after intrauterine or oviductal insemination with low numbers of fresh or frozen-thawed spermatozoa. *Reprod Fertil Dev* 5:57-63.

Maxwell WMC. 1984. Current problems and future potencial of artificial insemination programs. In: Linsday D.R. Pearce D.T. (Eds.). *Reproduction in Sheep*. London. Cambridge University Press. Cambridge University Press 291-297.

McCracken JA, Carlson JC, Glew ME, Goding JR, Baird DT, Green K, Samuelsson B. 1972. Prostaglandin F<sub>2</sub> $\alpha$  identified as a luteolytic hormone in sheep. *Nature, New Biol* 238:129-134.

Menchaca A, Rubianes E. 2004. New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reprod. Fertil. Dev.* 16:403-413.

Mier FR, Balcázar SA, Ortiz HA, Angulo MR, Mejía VO. 1995. Fertilidad de ovejas anéstricas inducidas a ovular inseminadas intrauterinamente. *Memorias Reunión Nacional de Investigación Pecuaria. Vet Méx* 26(2):343.

Morley FHW, White DH, Kenney PA, Davis IF. 1978. Predicting ovulation rate from liveweight in ewes. *Agric Syst* 3(1):27-45.

Muñoz-Gutierrez M, Blache D, Martin GB, Scaramuzzi R.J. 2004. Ovarian follicular expression of mRNA encoding the type IIGF receptor and IGF-binding protein-2 in sheep following five days of nutritional supplementation with glucose, glucosamine or lupins. *Reprod Res* 128:747-756.

Parraguez, VH, Blank O, Muñoz C, Latorre E. 2000. Inseminación artificial en ovinos. *Monografías de Medicina Veterinaria* 20:69-77.

Poretsky L, Cataldo NA, Rosenwaks Z, Giudice LC. 1999. The insulin-related ovarian regulatory system in health and disease. *Endocrin Rev* 20(4):535-582.

Rémond B, Souday E, Jouany JP. 1993. In vitro and in vivo fermentation of glycerol by rumen microbes. *Anim Feed Sci Tech* 41(2):121-132.

Rhodes FM Fitzpatrick LA, Entwistle KW, Kinder JE. 1995. Pulsatile hormone secretion during the first ovarian follicular wave in *Bos indicus* heifers. *J Reprod Fertil Suppl* 49:523-526.

Ritar AJ, Ball PD. 1993. The effect of freeze-thawing of goat and sheep semen at a high density of spermatozoa on cell viability and fertility after insemination. *Anim Reprod Sci* 31:249-262.

Rival MD. Chenoweth PJ, McMickin LI. 1984. Semen deposition and fertility in ovine artificial breeding programmes. En: Linsday D.R. Pearce D.T. (Eds.). *Reproduction in Sheep*. London. Cambridge University Press. 301-303.

Robinson TJ, Moore NW, Lindsay DR, Fletcher IC, Salamon S. 1970. Fertility following synchronization of oestrus in sheep with intravaginal sponges. 1. Effects of vaginal douche, supplementary steroids, time of insemination, and numbers and dilution of spermatozoa. *Australian Journal of Agricultural Research* 21:767-781.

Rodriguez MM, Montaldo HH, Balcazar SJA, Hernandez CJ. 2009. Niveles de progesterona sérica en ovejas Pelibuey y Suffolk sometidas a estrés térmico. *Vet. Mex.* 40(2):197-202.

Roy F, Combes B, Vaiman D, Cribiu EP, Pobel T, Deletang F, Combarnous Y, Guillou F, Maurel M.C. 1999b. Humoral immune response to equine chorionic gonadotropin in ewes: association with major histocompatibility complex and interference with fertility. *Biol Reprod* 61: 209-218.

Roy F, Maurel M, Combes B, Vaiman B, Cribiu EP, Lantier I, Pobel T, Deletang F, Combarnous Y, Guillou, F. 1999a. The negative effect of repeated equine chorionic gonadotropin treatment on subsequent fertility in Alpine goats is due to a humoral immune response involving the major histocompatibility complex. *Biol Reprod* 60:805-813.

Rubianes E, Menchaca A, Carbajal B. 2003. Response of the 1–5 day aged ovine corpus luteum to prostaglandin F<sub>2</sub>α. *Anim Reprod Sci* 78:47-55.

Salamon S, Maxwell WMC 1995. Frozen storage of ram semen. II. Causes of low fertility after cervical insemination and methods of improvement. *Anim Reprod Sci* 38:1-36.

Salamon S, Maxwell WMC, Firth JH. 1979. Fertility of ram semen after storage at 5°C. *Anim Reprod Sci* 2:373-385.

Salamon S, Visser D. 1972. Effect of the composition of Tris-based diluent and of thawing solution on survival of ram spermatozoa frozen by the pellet method. *Austral J Biol Sci* 25:605-618.

Salamon S, Visser D. 1974. Fertility of ram spermatozoa frozen stored for 5 years. *J Reprod Fertil* 37:433-435.

Salamon S. 1962. Studies on the artificial insemination of Merino sheep. III. The effect of frequent ejaculation on semen characteristics and fertilizing capacity. *Austral J Agric Res* 13:1137-1150.

SAS Institute. User's Guide. [Actualización:2014] USA. North Carolina. en <http://support.sas.com/rnd/app/doc.html>. [Consulta: en 2014].

Scaramuzzi R, Campbell B, Downing J, Kendall N, Khalid M, Muñoz-Gutierrez M, Somchit A. 2006. A review of the effects of supplementary nutrition in the ewe on the concentrations of reproductive and metabolic hormones and the mechanisms that regulate folliculogenesis and ovulation rate. *Reprod Nutr Dev* 46:339-354.

Scaramuzzi R, Martin GB. 2008. The importance of interactions among nutrition, seasonality and socio-sexual factors in the development of hormone-free methods for controlling fertility. *Reprod Dom Anim* 43(2):129-136.

Scudamore C, Robinson J, Aitken R. 1991. The effect of timing of laparoscopic insemination in superovulated ewes, with sedation on the recovery of embryos the stage of development and subsequent viability. *Theriogenology* 35:907.

Senger PL. 2003. *Pathways to pregnancy and parturition*. 2<sup>a</sup> ed. Pullman Washington: Current Conceptions.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquería. [Actualización 2014]. México. D.F. México. <http://www.siap.gob.mx/ganaderia-produccion-anual/> [consulta: 2015].

Stewart R, Oldham CM. 1986. Feeding lupins to ewes for four days during the luteal phase can increase ovulation rate. *Proc Austral Soci Anim Prod* 16:367-370.

Valencia J, Roldán A. 2013. La estacionalidad reproductiva y la producción animal. La oveja Pelibuey: una opción. FMVZ. División de Universidad Abierta y Tecnología. Curso de Actualización en Ganadería. Organismo de Certificación Ganadera (OCEGAN) 1-5.

Valencia ZM, Heredia AM, González PE. 1981. Estacionalidad reproductiva en hembras Pelibuey. Memorias de la VIII Reunión de la Asociación Latinoamericana de 34 Producción Animal. Santo Domingo, República Dominicana.

Vallet J, Baril G, Leoeuf B, Perrin J. 1992. Inseminación artificielle intra-uterine sous controle laparoscopique chez le petits ruminants domestiques. *Annal Zootech* 41(3-4):305-309.

Viñoles C, Forsberg M, Martin GB, Cajarville C, Repetto J, Meikle A. 2005 Short-term nutritional supplementation of ewes in low body condition affects follicle development due to an increase in glucose and metabolic hormones. *Reproduction* 129(3):299-309.

Wang JX, Warnes GW, Davies MJ, Norman RJ. 2004. Overweight infertile patients have a higher fecundity than normal-weight women undergoing controlled ovarian hyperstimulation with intrauterine insemination. *Fertil Steril* 81:1710-1712.

Webb R, Garnsworthy PC, Gong JG, Armstrong DG. 2004. Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. *J Anim Sci* 82(E):63-74.

Welch RAS, Andrews WD, Barnes DR, Bremer K, Harvey TG. 1984. CIDR dispensers for oestrus and ovulation control in sheep. En: *Proceedings of the 10th International Congress on Animal Reproduction & Artificial Insemination*. USA. Urbana, IL. (3):354–355.

Wheaton JE, Carlson KM, Windels HF, Johnston LJ. 1993. CIDR—a new progesterone-releasing intravaginal device for induction of estrus and cycle control in sheep and goats. *Anim Reprod Sci* 33:127-141.

Wildeus S. 2000. Currents concepts in synchronization of estrus: Sheeps and goats. *J Anim Sci* 77:1-14.

Williams SA, Blache D, Martin GB, Foot R, Blackberry MA, and Scaramuzzi RJ. 2001. Effect of nutritional supplementation on quantities of glucose transporters 1 and 4 in sheep granulosa and theca cells. *Reproduction* 122:947–956.

## ANEXO

**Cuadro 6a**

**Primera evaluación andrológica, previa al experimento**

	Macho 1		Macho 2	
	7:00 am	1:30 pm	7:00 am	1:30 pm
M. Progresivo (%)	85	95	90	90
M. Individual (%)	90	95	90	90
Rapidez	4	3	5	4
Volumen (mL)	0.7	0.5	0.9	1
Anormales / muertos (%)	5	5	7	10
Espermatozoides viables por mililitro ( $\times 10^6$ )	3,486	3,790	5,520	2,520
Total de espermatozoides por eyaculado ( $\times 10^6$ )	2,440	2,653	4,570	2,520
Dosis de inseminación a 200 millones	12	13	18	12
Color	blanco	blanco	blanco	blanco
	nacarado	nacarado	lechoso	lechoso

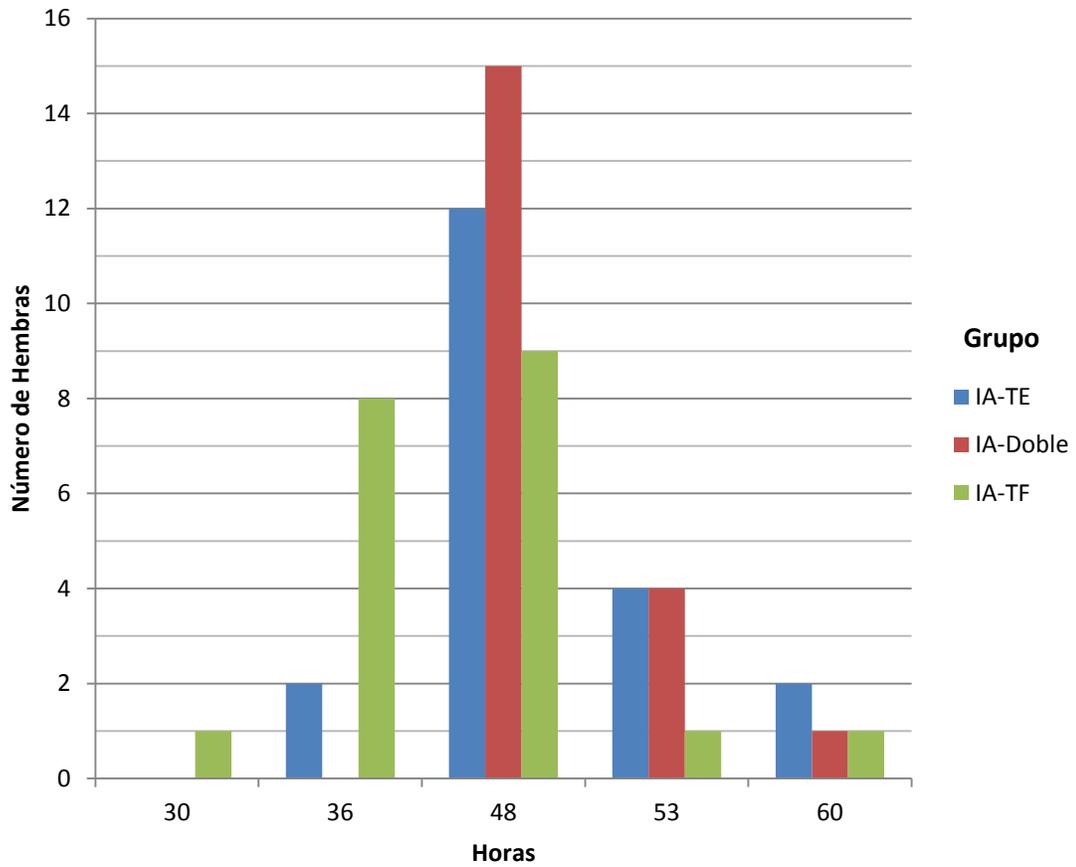
---

**Cuadro 6b****Segunda evaluación andrológica, durante el curso del experimento**

---

	Macho 1		Macho2	
	7:00 am	1:30 pm	7:00 am	1:30 pm
M. Progresivo (%)	95	95	95	90
M. Individual (%)	95	90	95	95
Rapidez	4	5	5	5
Volumen (mL)	1.1	1	1.5	0.9
Anormales / muertos (%)	10	5	12	10
Espermatozoides viables por (mL)	4,050	3,021	1,795	1,854
Total de espermatozoides por eyaculado ( $\times 10^6$ )	4,455	3,021	2,692	1,668
Dosis de inseminación a 200 millones	22	15	13	8
Color	blanco cremoso	blanco cremoso	blanco lechoso	blanco lechoso

---



**Figura 7.- Tiempo entre el retiro del progestágeno e inicio del estro por grupo.**

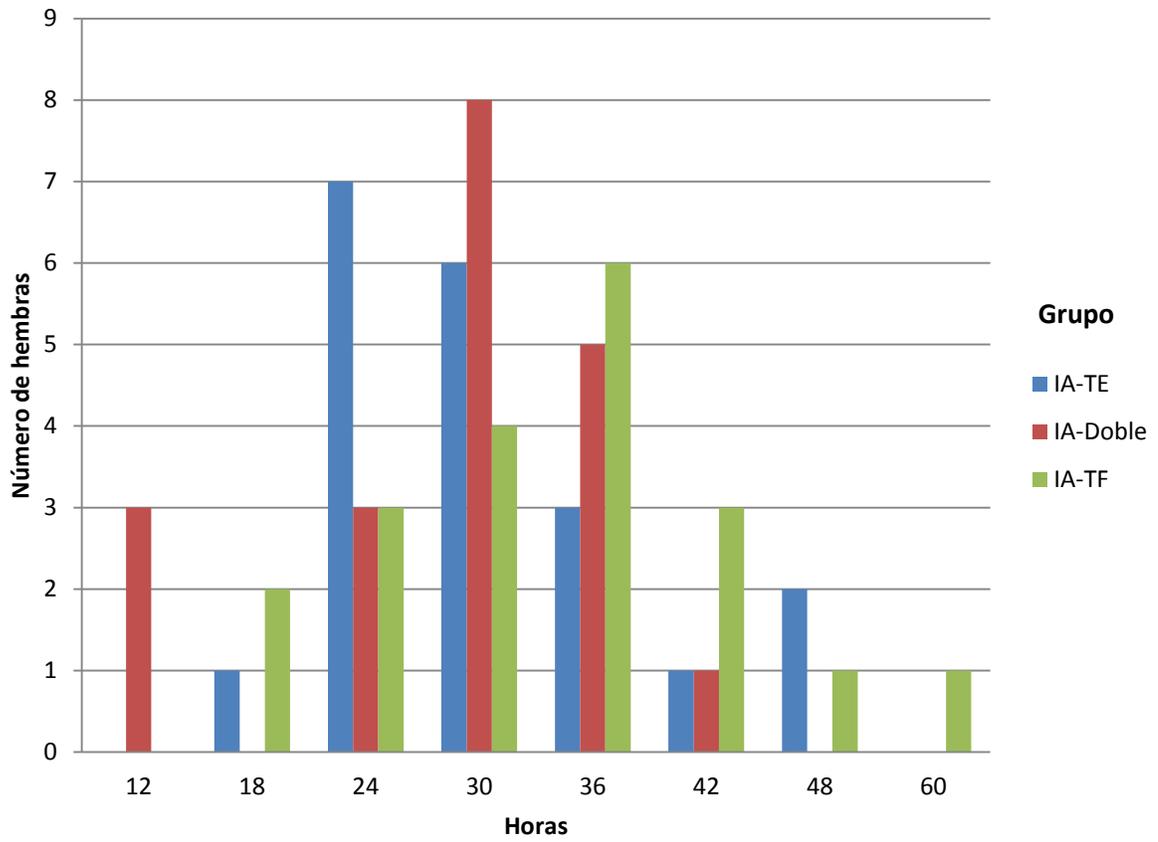
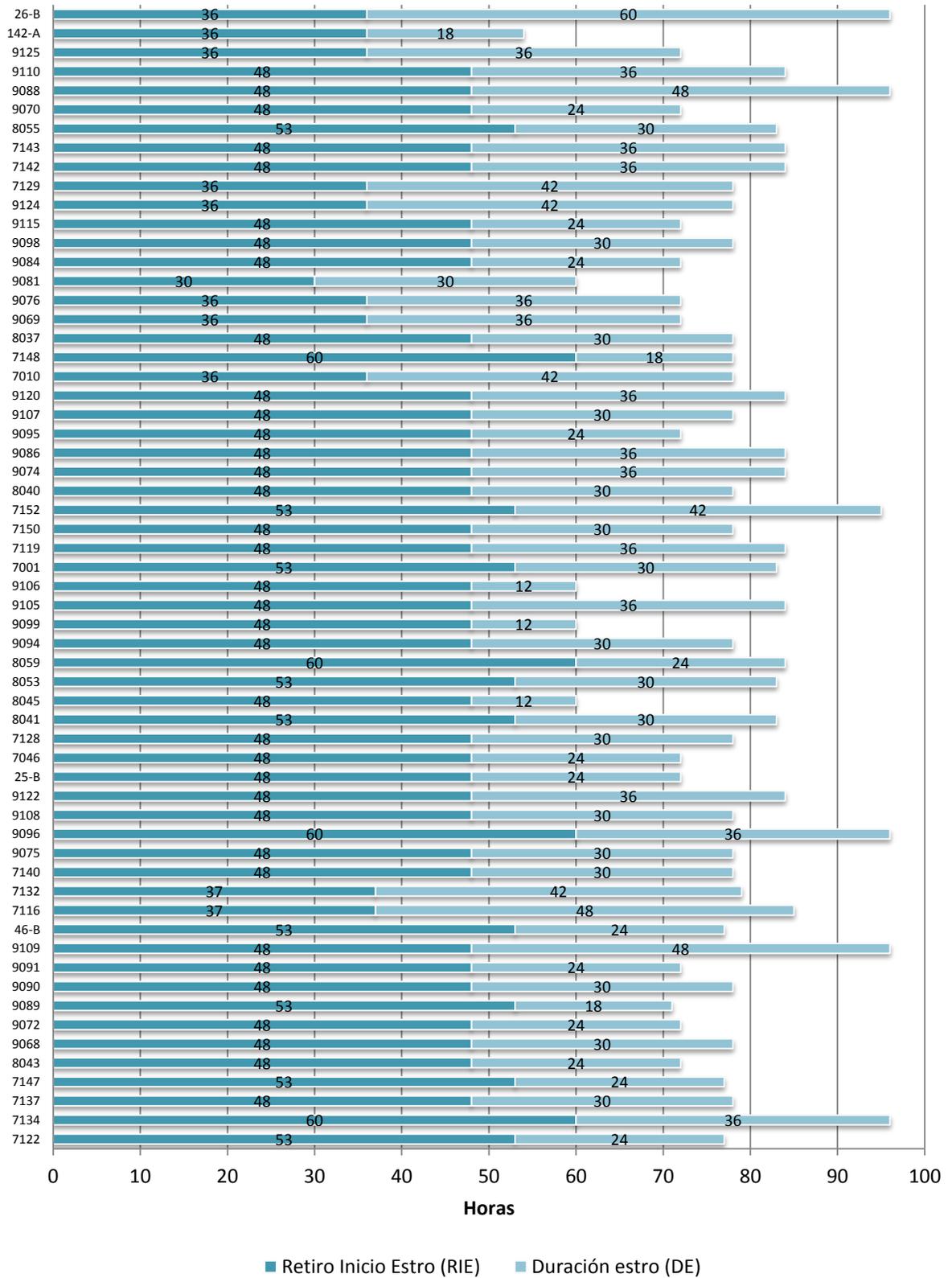


Figura 8.- Duración del estro por grupo.



**Figura 9.- Comportamiento individual del inicio y duración del estro.**