

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



**“EFECTO DEL SUPLEMENTO ORAL DE VITAMINAS  
Y MINERALES EN LAS CARACTERÍSTICAS  
SEMINALES DE CARNEROS CORRIEDALE”**

**TESIS**

PRESENTADO POR:

**HENRY CONDORI CHAPARRO**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

PUNO – PERU

2014

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**“EFECTO DEL SUPLEMENTO ORAL DE VITAMINAS Y  
MINERALES EN LAS CARACTERÍSTICAS SEMINALES DE  
CARNEROS CORRIEDALE”**

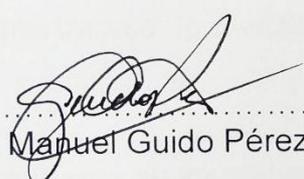
**TESIS**

PRESENTADO A LA DIRECCION DE INVESTIGACION DE LA FACULTAD DE  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, COMO REQUISITO PARA OPTAR  
EL TITULO DE:

**MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA.**

APROBADO POR:

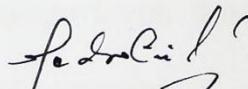
PRESIDENTE DEL JURADO:

  
.....  
Dr. Manuel Guido Pérez Durand

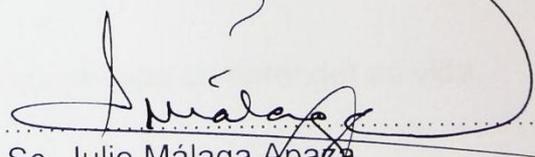
PRIMER MIEMBRO:

  
.....  
M.Sc. Bilo Wenceslao Calsin Calsin

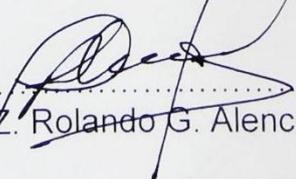
SEGUNDO MIEMBRO:

  
.....  
Mg. Pedro Ubaldo Coila Añazco

DIRECTOR DE TESIS:

  
.....  
M.Sc. Julio Málaga Apaza

ASESOR DE TESIS:

  
.....  
MVZ. Rolando G. Alencastre Delgado

## DEDICATORIA

A mis queridos padres: Lucio y Rosa Rosalía, con cariño, admiración y respeto por su ejemplo de trabajo, dedicación, honradez y sacrificio. Que tuvieron la suficiente confianza y me dieron los consejos necesarios para alcanzar una meta más anhelado de ser profesional en mi vida.

A mis hermanos; Marco Antonio, Pitter y Judhyt Stephanie, por su apoyo moral y hacerme sentir parte de una familia.

A mis compañeros de pregrado y amigos por su apoyo moral e incondicional que colaboraron en la realización del presente trabajo de investigación.

A cada uno de los trabajadores del CIP-Chuquibambilla por su aliento, cariño que mostró durante el tiempo que compartimos durante el desarrollo del presente trabajo.

A Lucy Ivonne, mi rosa, mi cielo y mi alegría. Gracias por darme todo tu amor cada día, eres la única a quien amaré toda mi vida. Te amo hasta la eternidad.

*Henry Corderi Ch.*

## AGRADECIMIENTO

- ❖ A la Universidad Nacional del Altiplano-Puno y a los Docentes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haberme formado como profesional.
- ❖ Al Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla, institución que brindó apoyo en la realización de la presente investigación.
- ❖ Al Dr. Julio Málaga Apaza, por su gran apoyo moral y motivación durante el desarrollo del presente trabajo de investigación.
- ❖ A mi gran amigo Harold Pérez Guerra, por su tiempo, paciencia, momentos compartidos en el trabajo y así mismo por los conocimientos transmitidos durante la ejecución de la tesis.
- ❖ A mis compañeros: Julio Javier Ramos Marca, Iván Gonzales Carpio, Luz Eliana Céspedes y Roxana Charca por sus desinteresados apoyos.

## INDICE

	Pág.
<b>RESUMEN.....</b>	<b>2</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>II. REVISION BIBLIOGRAFICA.....</b>	<b>6</b>
2.1. Corriedale.....	6
2.2. Anatomía y fisiología reproductiva del macho.....	7
2.3. Minerales y vitaminas.....	19
2.4. Método de colección de semen.....	27
2.5. Características físicas del semen.....	30
2.6. Antecedentes.....	38
<b>III. MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>42</b>
Ámbito de estudio.....	42
Material de estudio.....	42
Metodología de trabajo.....	45
Método estadístico.....	53
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>54</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>67</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>68</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA.....</b>	<b>69</b>
<b>VIII. ANEXO.....</b>	<b>76</b>

## RESUMEN

El estudio se realizó en el Centro de Investigación y Producción Chuquibambilla de la Universidad Nacional del Altiplano-Puno, con el objetivo de evaluar el efecto del suplemento oral de vitaminas y minerales en las características seminales de carneros Corriedale; para lo cual se ha utilizado 12 carneros de año y medio de edad, de los cuales 06 carneros (grupo experimental) fueron sometidos a la suplementación de vitaminas y minerales en tres dosis de 50 mL/animal, y 06 animales sin la suplementación (grupo testigo). Las muestras de semen se obtuvieron de los carneros mediante vagina artificial, y se evaluó las características del semen, utilizando microscopio óptica. Los datos se analizaron mediante la prueba estadística de chi-cuadrado y "t" (student) previo ANVA. Los resultados del volumen de semen fue de 1.12 mL. en los carneros del grupo experimental y en el grupo testigo 1.07 mL, los mismos no mostraron diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ). El color del semen en los carneros sometidos del grupo experimental fue crema pálido, blanco lechoso y cremoso con 66.7%, 22.9% y 10.4%, respectivamente; no obstante que, en el grupo testigo el semen de color crema pálido fue de 52.1%, blanco lechoso 47.9% y cremoso 0%. La variable pH de semen no mostró diferencia estadística ( $P \geq 0.05$ ) entre los carneros del grupo experimental ( $6.69 \pm 0.28$ ) y testigo ( $6.64 \pm 0.13$ ). Referente a la concentración espermática observamos diferencia significativa entre los carneros del grupo experimental y testigo ( $P < 0.05$ ). Asimismo se encontró diferencia significativa en la motilidad individual y vitalidad ( $P < 0.05$ ), mientras en la motilidad masal no se encontró una diferencia significativa ( $P \geq 0.05$ ); con respecto a la morfología espermática de los carneros suplementados con vitaminas y minerales, las del grupo testigo no mostraron diferencias ( $P \geq 0.05$ ); los cuales nos permite deducir que la suplementación de vitaminas y minerales en los carneros si influyen en la variación de concentración espermática, motilidad individual y vitalidad; por los cual se recomienda que se utilice en los periodos reproductivos.

## I. INTRODUCCION

La oveja doméstica. *Ovis aries*, se cree que se originó en Europa y en las regiones frías de Asia, y que procede de los animales del grupo de los antílopes. Los ovinos se han domesticado y explotado en diferentes formas desde hace más de 7000 años, y fue traída a América alrededor del año 1500, por la abundancia de terrenos permitieron su multiplicación rápida. Al principio, la oveja se desarrolló en tierras fértiles, posteriormente pasaron a regiones áridas y semiáridas, que imponen limitaciones a la crianza de estos animales; por sus condiciones de vida un 70% de los ovinos está constituido por ganado criollo, ya que son los que se adaptan a este medio y el 30% son animales de cierta pura, como el Rambouillet, Hampshire, Suffolk y Corriedale (Johan, 1982).

La crianza de ovino de la raza Corriedale es una de las actividades de mayor importancia económica en cuanto a la producción de carne y lana en el medio rural de la zona alto andino, los cuales constituyen el sustento económico de una gran mayoría de las familias. Esta crianza depende casi exclusivamente de las extensas áreas de pastos naturales, donde el sistema de crianza imperante es el extensivo, caracterizado por su bajo nivel tecnológico y una alimentación insuficiente, especialmente en períodos de estiaje, lo que se traduce en un bajo rendimiento reproductivo y productivo, consecuentemente perjudica el ingreso económico del criador de dicho espacio. Entre una de las alternativas para mejorar el uso de los alimentos que consumen los animales al pastoreo, están las suplementaciones alimenticias a base de productos energéticos, proteicos,

vitamínicos, minerales y/o aditivos. Si nos referimos estrictamente a los suplementos de minerales y vitaminas, estos son suplementos que ayudan a reducir las señales evidentes de carencias, de allí que su administración debe ser considerada como parte de un programa permanente en el manejo de ovinos. (Bernardo *et al.*, 2000).

Las necesidades en minerales deben ser cubiertas y controladas mediante el manejo de la alimentación, para evitar una carencia o toxicidad de alguno de los elementos. Cuando se produce un aporte mineral inadecuado o en proporciones incorrectas la función reproductiva es la más afectada, lo que conlleva a su vez, una disminución de la productividad y rentabilidad de esta crianza (Tedó y Casas, 2005).

Los carneros tienen un efecto importante en la reproducción, representan aproximadamente el 80% del cambio genético que ocurre en un rebaño y son usados en una proporción de 2 – 3 por 100 de ovejas, las fallas o ineficiencias en su proceso reproductivo puede resultar en una drástica reducción de la reproducción de las hembras servidas. (Mc Corkle, Constante, 1990). La evaluación seminal y fertilidad puede predecir con exactitud la fertilidad de una muestra de espermatozoides, y el examen de diversas características físicas del semen pueden determinar mayor potencial de fertilidad (Hafez, 2000). La Inseminación Artificial es una técnica cuya virtud fundamental es incrementar notablemente el uso de un reproductor, esta técnica ha hecho posible la obtención de 17,683 ovejas en 4 meses (Duran, 1968).

Por las teorías anteriores se suplementó con vitaminas y minerales para mejorar y lograr la mayor tasa de fertilidad en las campañas de reproducción ovina y se planteó los siguientes objetivos:

Determinar el efecto de vitaminas y minerales en las características macroscópicas (volumen, color, pH, y aspecto seminal) del semen de carneros Corriedale.

Determinar el efecto de vitaminas y minerales en la concentración espermática, motilidad masal, motilidad individual, vitalidad espermática y morfología espermática en carneros Corriedale.



## II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA

### 2.1. Corriedale

Originario en Nueva Zelanda. Aptitud de doble propósito para producción de lana y carne. La calidad de lana varía de 24 a 31 micras de diámetro de fibra, considerada como lana de finura media, longitud de mecha de 8.8 a 15 cm, buen grado de rizamiento, brillo y color. El vellón varía entre 4 a 6.4 kg, posee una buena conformación muscular, fortaleza, rusticidad y pigmentación negra a nivel de los ollares, labios y pezuñas. A edad adulta el carnero llega a pesar entre 79 y 125 kg y la oveja entre 59 y 82 kg. Se encuentra muy difundida en los departamentos de Junín, Pasco y Puno (Coronel, 2007).

La raza corriedale es de mayor difusión en América y la que más contribuyó al mejoramiento genético del ovino criollo en el Perú. Esta raza fue creada en Nueva Zelanda en el año 1880. El corriedale es una raza blanca de doble propósito, denominado también "fifty-fifty" por qué el 50% del valor de la producción depende de la lana y el otro 50% de la carne. Requiere de terrenos secos y firmes con buenas pasturas; son poliéstricas estacionales, con manejo adecuado el porcentaje de natalidad puede llegar a 110 ó 115% (Aliaga, 2006).

El corriedale es una raza cruzada para lana de tamaño mediano de color blanco y con cara relativamente limpia. Son buenos productores de lana y está adquiriendo gran popularidad, desarrollado por cruzamiento de razas de lana larga con Merinos o Rambouillets. Ambos sexos carecen de

cuernos. Rinden de 4 a 5 Kg de lana, que clasifica característicamente como tres octavos de sangre (Juergenson, 1967).

En cuanto a sus características reproductivas el carnero no muestra una estación de apareamiento restringido, pero la actividad sexual es máximo en otoño y disminuye a finales del invierno, la magnitud de la secreción de hormonas en los carneros está regida por la duración del día (Hafez, 200; Evans and Maxwell, 1990), Cuando disminuye el número de horas diarias luz se estimula la secreción de FSH, LH y testosterona (Coy, 1995). Sin embargo, la actividad sexual puede ser modificada por otros factores como la temperatura, alimentación, enfermedad y el estrés (Evans and Maxwell, 1990).

## **2.2. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA REPRODUCTIVA DEL MACHO**

### **a) Escroto y cordón espermático**

Compuesto por una capa externa de piel gruesa con numerosas glándulas sudoríparas y sebáceas, forrado por fibras musculares lisas, la túnica dartus, dividiendo el escroto en dos bolsas y se adhiere a la túnica vaginal. El cordón espermático conecta a los testículos su sistema de nutrición a través de las arterias convolutas testiculares, plexo venoso asociado y los troncos nerviosos; El cordón espermático como el escroto contribuyen al sostén de los testículos y la función conjunta de mantener la temperatura testicular (Bearden y Fuquay, 1982).

La producción de espermatozoides ocurre a  $4 - 7^{\circ} \text{C}$  por debajo de la temperatura corporal. Las glándulas sudoríparas de la piel permiten la evaporación del escroto y por tanto enfriamiento de los testículos, la túnica del músculo dartos se contrae o relaja, según sea la temperatura ambiente, el músculo cremaster externo, regula también la proximidad de los testículos al abdomen, el plexo pampiniforme, extenso sistema de vasos sanguíneos del cuello del escroto, es el responsable de mantener fría la sangre que llega al testículo. (Evans y Maxwell, 1990).

#### **b) Testículo**

El tamaño testicular varía durante el año en las especies con reproducción estacional (carnero, garañón, camello). Las intersticiales (de Leydig), que descansan entre los túbulos seminíferos, secretan hormonas masculinas. Antes de la pubertad, las células sustentaculares (de Sertoli) de los túbulos forman una barrera que aísla de la circulación general a las células germinales en diferenciación. La producción de espermatozoides aumenta con la edad en periodo pos puberal, y en muchas especies está sujeta a cambios estacionales (Hafez, 2000).

**Cuadro 1: Desarrollo del aparato reproductor del carnero (semanas)**

Fases	Carnero
Espermatocitos primarios en los túbulos seminíferos	12
Espermatozoides en los túbulos seminíferos	16
Espermatozoides en la cola del epidídimo	16
Espermatozoides en el semen eyaculado	18
Separación completa entre el pene y la porción	>10
Edad a la que el animal puede considerarse sexualmente "maduro"	>24

Fuente: Hafez, 2000.

Los testículos tienen dos funciones: la primera es la producción de espermatozoides o gametogénesis; y la segunda la secreción de hormonas esteroideas o androgénicas (testosterona). El parénquima testicular está constituido por túbulos seminíferos y células intersticiales unidas por tejido conjuntivo; la primera produce los espermatozoides y la segunda la testosterona (Aliaga, 2006; Duran, 1968).

Las espermatogonias, de la membrana basal de los túbulos seminíferos están sujetas por células de Sertoli (especializadas). El intersticio contiene vasos sanguíneos, nervios y células de Leydig, son los principales en la producción andrógeno. Actúan como promotores del crecimiento, estimulan las características del cuerpo del macho y actúan sobre los centros del comportamiento, en el encéfalo, provocando el comportamiento sexual del macho (Evans y Maxwell, 1990).

### c) Epidídimo

La región media de cada conducto eferente muestra notable actividad secretoria. Los espermatozoides almacenados en el epidídimo conservan capacidad fecundante por varias semanas; la cola de esta estructura es el principal órgano de almacenamiento, contiene alrededor del 75% de las células espermáticas alojadas en el epidídimo (Hafez, 2000).

Transporta los espermatozoides, el tiempo requerido es de 9 a 11 días en machos activos y una eyaculación frecuente acelera el transporte en 10 a 20%. Uno de los factores que contribuye al movimiento de los espermatozoides es la presión de los nuevos espermatozoides que se están produciendo. A medida que se producen espermatozoides en los túbulos seminíferos se les saca hacia la rete testis y conductos eferentes y hacia el epidídimo (Bearden y Fuquay, 1982).

Está constituido por cabeza, cuerpo y cola; con una longitud aproximada de 14 cm; la cabeza se encuentra en contacto con el rete testis en la parte superior del testículo, no es tan abultado y con una consistencia suave. La función del epidídimo es permitir el pasaje, maduración, conservación de los espermatozoides y aporte del Glicerilfosforilcolina (G.P.C.) al semen (Aliaga, 2006).

Al liberarse de los túmulos seminíferos los espermatozoides no son ni fértiles ni maduros, a su paso adquieren la motilidad necesaria y la capacidad para fertilizar el oocito (Evans y Maxwell, 1990).

#### **d) Vesículas seminales**

Su tamaño es variado, cuya función es la producción de una sustancia fluida que es el vehículo de salida de los espermatozoides, constituido por fructuosa, ácido cítrico, potasio, sorbitol y enzimas. La secreción de esta glándula constituye casi la mitad de eyaculado (Aliaga, 2006).

Denominado también glándulas vesiculares, son dos sacos piriformes que se encuentran sobre el cuello de la vejiga, su tamaño es variado, como función se les atribuye la producción de una sustancia fluida que sirve de vehículo a la salida de los espermatozoides; contiene fructuosa, ácido cítrico, potasio, sorbitol y enzimas; su extirpación no afecta la reproducción (Alencastre, 1997).

#### **e) Próstata**

Su función es producir un líquido, para evitar la aglutinación de los espermatozoides. En el momento de la eyaculación la próstata captura anhídrido carbónico para estimular la motilidad de los espermatozoides y producir una sustancia opaca con un olor propio, rico en proteínas y sales minerales (Aliaga, 2006).

Una parte externa lobulada claramente distinta del resto de la próstata se encuentra fuera del grueso músculo uretral, y otra parte interna o diseminada rodea la uretra en ubicación profunda respecto a dicho

músculo. La próstata diseminada se extiende en sentido caudal hasta los conductos de las glándulas bulbo uretrales (Hafez, 2000).

#### **f) Glándulas bulbo uretrales**

Conocida también como Glándula de Cowper, tienen forma redondeada, su función es producir un lubricante en el periodo de excitación. La secreción es limpiar y lubricar la uretra para la salida de los espermatozoides (Aliaga, 2006).

Se encuentra en posición dorsal a la uretra, cerca de la terminación de su parte pélvica. En ruminantes y en el verraco, el conducto de las glándulas bulbo uretrales se abre en la depresión uretral (Hafez, 2000).

#### **g) Túbulos seminíferos**

Son estructuras semejantes a los vasos sanguíneos. Histológicamente están constituidos por capas de células especializadas conocidas como Células de Sertoli, donde se realiza la espermatogénesis; los espermatozoides llegan a la luz del túbulo seminífero y estos son transportados hasta el rete testes (Aliaga, 2006).

#### **h) Rete testes**

Estructura de repetición de los túbulos seminíferos de cada testículo y por medio de los conductos eferentes se dirigen a la cabeza del epidídimo (Aliaga, 2006)

### **i) Conducto deferente**

Sigue un recorrido cercano del escroto, al lado de la cabeza del epidídimo, es el lugar de las intervenciones quirúrgicas de la vasectomía en carneros, mide 75 cm y termina en la porción pélvica de la uretra, en la ampolla de Henle. Tiene como función conducir, almacenar los espermatozoides y aportar fructosa y ácido cítrico al semen (Aliaga, 2006).

Los últimos 3-4 cm de cada conducto (llamados ampolla) son más gruesos y sirven como órganos de almacenaje de los espermatozoides. (Evans y Maxwell, 1990).

### **j) Uretra**

Conducto para el pasaje del semen y orina. Se localiza dentro del pene (Aliaga, 2006).

### **k) Proceso uretral**

Es la parte final de los conductos para el ingreso de los espermatozoides, es una continuación de la uretra, localizada en la parte final del pene a manera de látigo, momento de la eyaculación; asimismo, lubrica la parte de la vagina y zonas adyacentes de la entrada de la cervix (Aliaga, 2006).

## **l) Pene**

Es el órgano copulador del macho y de transporte de los espermatozoides en el momento de la eyaculación. Su mucosa es lubricada por las glándulas de Tyson, que segregan el esmegma, que es una sustancia de olor fuerte. El pene cumple la función de expulsar la orina y depositar el semen en el aparato genital de la hembra (Aliaga, 2006).

Los espacios vacíos del cuerpo cavernoso del pene son pequeños, excepto en las raíces y en el doblez distal de la curvatura sigmoidea (Hafez, 2000).

Tiene dos funciones: deposición del semen en el aparato genital de la hembra y expulsión de la orina. El proceso, llamado erección, se efectúa con la excitación sexual de los vasos que drenan el pene se comprimen y los espacios del tejido cavernoso se llenan de sangre, aumentándose el tamaño. El pene se mantiene en forma de "S", durante la cópula el músculo retractor se relaja con la consiguiente extensión momentánea de la flexura. (Evans y Maxwell, 1990).

### **m) Producción de esperma (espermatogénesis)**

Los andrógenos actúan sobre el testículo, regulando y controlando el proceso de espermatogénesis (Smidt, 1992). La espermatogénesis es un proceso complejo que se compone de tres fases los cuales son: la espermatocitogenesis que comprende el proceso por el cual las células germinales primordiales se convierten en espermátides, la fase siguiente es la espermiogénesis; fase en la cual los espermátides redondos se

transforman en espermatozoides por una serie de cambios morfológicos y la última fase viene a ser la espermiación que es la liberación de las células germinales al interior de los túbulos seminíferos (Ortavant *et al.*, 1984; Ganer y Hafez 2000).

La liberación de espermatozoides móviles y fértiles ocurre después de la maduración sexual. Las espermatogonias troncales contienen el número diploide de cromosomas ( $2n = 54$ ), estas se dividen mitóticamente. Después de su división final se transforma en espermatocitos primarios, estas ( $2n$ ) sufren dos divisiones meióticas, haciéndose espermatocitos secundarios y finalmente espermátidas haploides ( $n$  cromosomas). El tiempo que transcurre de la activación de las troncales hasta espermatozoides libres es de unos 40 días en el carnero, conocido como ciclo espermatogénico. El paso a través del epidídimo dura 10-14 días. (Evans y Maxwell, 1990).

Con sistema de usar elementos radiactivos “eriquetado” sirve para la determinación de la duración de los espermatogénesis. Con este sistema se ha determinado en 49 días, aproximadamente, el lapso transcurrido entre la primera división de la espermatogonia, hasta la aparición del espermatozoide en el lumen del tubo seminífero del carnero. (Duran, 1968).

#### **n) Control hormonal de la función testicular**

Las llamadas gonadotropinas se liberan al torrente circulatorio desde la hipófisis, estas dos gonadotropinas, hormona luteinizante (LH); actúa sobre las células de Leydig estimulando la producción de andrógenos y promueve la espermatogénesis y hormona estimulante de los folículos

(FSH) su papel no es tan claro. Para la secreción de las gonadotropinas es la duración del día (horas luz); aumentándose la secreción de las gonadotropinas hipofisarias, estimulándose la función testicular (Evans y Maxwell, 1990).

#### **o) Cubrición y eyaculación**

Aun sean entrenados a montar a hembras no éstricas, lo normal es que sólo respondan a hembras éstricas. El estímulo sexual es mediante los mensajes químicos, transportados en el aire, llamado feromonas, convergiéndose en respuestas fisiológicas o comportamentales (Evans y Maxwell, 1990).

Se pueden diferenciar dos grupos de estructuras anatómicas, en función de la fase que participen en la eyaculación; en la fase de emisión los órganos que participan son epidídimo, conductos deferentes, próstata, uretra prostática y el cuello vesical, los órganos que participan en la expulsión son la vejiga, uretra así como los músculos estriados (Giuliano y Pierre, 2005).

#### **p) Plasma seminal**

Líquidos secretados por las glándulas vesiculares, los epidídimos, conductos deferentes y otras glándulas sexuales accesorias. Actúa como vehículo para los espermatozoides, sirve como activador a los espermatozoides y proporciona un medio rico en nutrientes, tamponado (Evans y Maxwell, 1990).

El plasma seminal en las diferentes especies, es una mezcla compuesta de fluidos secretados por diferentes órganos, incluye el epidídimo, conductos seminales, conductos deferentes, ampolla, próstata, glándula de Cowper y otras glándulas localizados en la pared uretral, estos fluidos extracelulares poseen el medio y vehículo para los espermatozoides variando su composición de acuerdo a la especie (Garner y Hafez 2000).

La importancia funcional del plasma seminal es cuestionable, dado que es posible inducir la preñez por inseminación empleando espermatozoides colectados del epidídimo, sin embargo; el plasma seminal muestra ser un componente esencial en el apareamiento natural por que actúa como portador y protector de los espermatozoides (Hafez, 2000). Se caracteriza por tener una serie de sustancias que no se encuentran en ningún otro órgano, los componentes dependen de la cantidad de testosterona presente (Illera, 1994).

#### **q) Semen de Carnero**

El semen es el eyaculado que está compuesto de espermatozoides y plasma seminal, los testículos proveen los componentes celulares (espermatozoides) y las glándulas accesorias proveen la mayor parte de la porción líquida (plasma seminal), en camélidos más del 85% del semen está constituido por plasma seminal (Garner y Hafez, 2000), la contribución del epidídimo y conducto deferente al volumen del semen es relativamente pequeño (Setchell, 1984).

Las características físicas y químicas del semen varían según la especie, dentro de la misma especie, entre eyaculaciones, estaciones de

muestreo, efectos nutricionales, procedimientos de manipulación durante la colección y después de la misma (Mc Donald, 1981; Garner y Hafez, 2000).

En ambientes artificialmente calentados o enfriados hubo influencia sobre la calidad seminal emitido. Pudiendo así comprobar, comparando la producción de semen de carneros ubicados en compartimientos pre-enfriados de 7 a 8° C con aquellos carneros controles sometidos a la temperatura ambiente de verano (30°C), la calidad de semen de los primeros era considerablemente superior frente al de los segundos en volumen, motilidad, concentración y porcentaje de células normales (la libido se mantuvo in cambiada) (Duran, 1968).

Esta composición varía considerablemente, entre unas especies y otras, incluso dentro de los mismo individuos según la época del año o las condiciones de la explotación (Illera, 1994).

#### **r) Espermatozoides y su estructura**

Los espermatozoides se forman en los túbulos seminíferos de los testículos, estos túbulos contienen una serie compleja de células germinales en desarrollo que finalmente constituirán los gametos masculinos, los espermatozoides maduros son células alargadas consistentes de una cabeza aplanada portadora de núcleo y una cola que contiene el aparato necesario para la motilidad celular, el espermatozoide entero está cubierto por el plasmolema o membrana plasmática (Setchell,1984; Garner y Hafez 2000).

Es una célula altamente especializada, formado por dos partes: Cabeza y cola. La cabeza es plana y ovoide, ocupada por el núcleo,

formado por cromosomas. La parte anterior de la cabeza envuelta por acrosoma, portadora de las enzimas necesarias para el proceso de fertilización. La cola, es el orgánulo locomotor de los espermatozoides que da propulsión en los líquidos. La largura del espermatozoide del carnero es de unos 60 micrones. La cabeza mide 8-10  $\mu\text{m}$  de largo, 4  $\mu\text{m}$  de ancho y 1  $\mu\text{m}$  de grueso (Evans y Maxwell, 1990).

El extremo anterior del núcleo espermático está cubierto por el acrosoma que es un delgado saco membranoso de doble capa estrechamente adherido al núcleo, en el acrosoma están contenidas varias enzimas (Mann and Lutwat-Mann, 1981). En el interior de los túbulos encontramos varias células germinales así como espermatozoides desarrollados, esperando su liberación al lumen del túbulo (Illera, 1994).

### **2.3. MINERALES Y VITAMINAS**

#### **1) Fósforo**

El fósforo interviene en el metabolismo de los nutrientes. La deficiencia de fósforo puede producir crecimiento lento, necesidades nutritivas anormales, apetito anormal, apatía. La concentración normal de fósforo en la sangre es 4 mg por 100mL de plasma. Cantidades menores al indicado pueden producir deformación de las rodillas y ausencia de grasa subcutánea, corderos débiles; y en adultos producir osteomalacia y menor producción de leche (Aliaga, 2006).

Este mineral se localiza en el esqueleto en un 80%, el resto del 20% se encuentra en las células vivas. Todos los metabolismos intermediarios y

enzimáticos lo utilizan. Siempre es necesario en un momento determinado de los ciclos metabólicos (Gallego, 1986).

La deficiencia de fósforo en los animales jóvenes tiene por resultado un crecimiento lento, mal apetito y falta de desarrollo y ha producido un estado patizambo en los corderos. La utilización de energía está reducida (Merck *et al.*, 1981).

Aproximadamente el 20% del P en el cuerpo no es parte del esqueleto si no que está distribuido entre los tejidos blandos, concentrado especialmente en los glóbulos rojos y en los tejidos musculares y nervios. Además de la formación ósea, el P también es esencial para el funcionamiento adecuado de los microorganismos del rumen, especialmente los que digieren la celulosa, para la regulación del pH de la sangre y otros fluidos; y para muchos sistemas enzimáticos y el metabolismo de las proteínas. Muchas especies de gramíneas que contienen más de 0.3% de P durante las primeras etapas de crecimiento están disponibles sólo por cortos períodos de tiempo para los rumiantes en pastoreo. La mayoría del año los forrajes contienen menos del 0.15% de P (Russell, 2005).

## 2) Magnesio

Directamente relacionado con la formación de los huesos y dientes, el magnesio se encuentra tan abundante como el calcio en el organismo, excluido el esqueleto. Interviene en las materias orgánicas, principalmente de los glúcidos (Gallego, 1986).

La proporción normal calcio: magnesio es aproximadamente de 55:1. Una cantidad variable (15 a 50%) está vinculada a las proteínas séricas. Representa un papel vital como activador de muchos sistemas enzimáticos que afectan al intercambio de energía. También participa en el mantenimiento de la irritabilidad y la función nerviosas normales (Merck *et al.*, Rahway, 1981).

El manganesio es un mineral de gran afinidad por el aparato reproductor, una carencia en este elemento produce una disminución de la fertilidad (Underwood, 1981).

El Mg es el segundo catión en abundancia (después de K) de los fluidos intracelulares. El Mg tiene una función importante como ión esencial para reacciones enzimáticas en el metabolismo intermediario y como “activador” de las enzimas. El Mg está involucrado vitalmente en el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos con catalizador de una gran variedad de enzimas. También forma parte de la síntesis de proteínas a través de su acción en la agregación ribosomática, sus funciones de unir al RNA mensajero con los ribosomas 70S, y en la síntesis y degradación del ADN. Los signos clínicos pre convulsivos de la hipomagnesemia en los ovinos tienen una definición menos clara que en los bovinos (Russell, 2005).

### 3) Cobalto

La función más importante del cobalto en la nutrición ovina es favorecer la síntesis de vitamina B<sub>12</sub> en el rumen. Asimismo, parece estar asociado con la síntesis de la piridoxina, niacina y riboflavina. Su

deficiencia produce, pérdida de apetito, falta de vigor, anemia, disminución de la fecundidad y producción de leche y lana (Aliaga, 2006).

Las ovejas requieren aproximadamente 0.1 ppm de cobalto en su dieta total. Normalmente las leguminosas tienen un contenido mayor que las hierbas (Merck *et al.*, 1981).

Una función conocida del cobalto en la nutrición ovina es que promueve la síntesis de vitamina B12 en el rumen. Por lo que signos de carencia de cobalto serán signos de deficiencia en vitamina B12, como es la pérdida del apetito, anemia, disminución de la actividad estral, disminución de la producción lechera y de la lana (Underwood, 1981; McDonald *et al.*, 2002).

Los microorganismos del rumen producen varios compuestos que contienen Co, similares a la vitamina B12, los cuales no tienen la misma actividad que tiene la vitamina B12 en el tejido. Las ovejas deficientes en Co convierten como mínimo 60% de su escasa cantidad de Co en la dieta en compuestos que no pueden ser absorbidos ni usados. Una de las funciones más importantes es el metabolismo de los aminoácidos y proteínas. Algunas funciones son: síntesis de purina y pirimidina, transferencia de grupos metilos, formación de proteínas a partir de aminoácidos y metabolismo de carbohidratos y lípidos (Russell, 2005).

#### 4) Vitamina A

Es indispensable para el mantenimiento normal de los tejidos epiteliales. Su deficiencia produce queratinización de los epitelios de los aparatos respiratorio, digestivo, reproductor, urinario y el epitelio ocular.

Las necesidades de vitamina A son las siguientes: 550 U.I. para ovejas secas y corderos en engorde; 450 U.I. para borreguillas y carnerillos de reemplazo y carneros; 400 U.I. para el tercio final de preñez y para ovejas en lactancia (Aliaga, 2006).

El requerimiento de vitamina A es de 47UI/Kg. de peso vivo. Las inyecciones únicas de 1'000,000 de UI, de vitamina A, al parecer, protegen contra la deficiencia durante 2 a 4 meses (Merck *et al.*, Rahway, 1981).

El Comité Nacional de Investigación de los Estados Unidos, establece un seguimiento diario de cerca de 12 mg de caroteno por Kg, de peso vivo para el crecimiento y la reproducción. Se considera que esta cantidad es suficiente para establecer y conservar una reserva adecuada de vitamina A en el organismo (Tellez, 1972).

Tiene acción estabilizadora sobre las membranas de los lisosomas y las mitocondrias. También existen argumentos que abogan a favor de que la vitamina A provoca la secreción de mínimas cantidad de hidrolasas ácidas a nivel de las células basales de la epidermis, con la consiguiente estimulación de la división. De acuerdo con los otros resultados de otros trabajos, la vitamina A participa asimismo en ciertas transformaciones metabólicas en las que intervienen los esteroides, por lo que una carencia de retinol sería susceptible de alterar el metabolismo de la corticosterona, el colesterol y las hormonas sexuales. Una carencia de vitamina A en el aparato genital de los animales provoca degeneración del epitelio germinativo (Leboulanger, 1987).

## 5) Vitamina B12

Los vegetales prácticamente no contienen esta vitamina; sin embargo, las harinas de origen animal incluidas en la ración aseguran la aportación necesaria. No obstante, la incorporación de la vitamina sintética se practica con los alimentos compuestos. La aportación de vitamina B<sub>12</sub> es indispensable para revalorizar las raciones ricas en proteínas vegetales. En los rumiantes, el cobalto es imprescindible para la síntesis de la vitamina B<sub>12</sub> (Gallego, 1986).

La vitamina B12 es considerada como la enzima de las reductasas, enzimas que, al asegurar la reducción de la ribosa en desoxirribosa, transforman los ribonucleótidos (ácidos desoxiadenilico) en desoxirribonucleótidos (ácidos desoxiadenilico), la unión de los cuales constituye las cadenas polinucleotídicas del ADN. La carencia trae un retraso en el crecimiento que puede ser compensado con la administración de vitamina B12 (Leboulanger, 1987)

## 6) Vitamina C

La vitamina C (ácido ascórbico); Como es sintetizada en los tejidos de los rumiantes incluso jóvenes, las deficiencias de esta vitamina no se producen y no es requerida en la dieta (Merck *et al.*, 1981).

En experiencias realizadas en Dakota del Sur, las vacas lecheras contenían una cantidad normal de ácido ascórbico en la sangre después de tres o cuatro años de confinamiento en el establo, alimentadas con una ración que no proporcionaba casi nada de esta vitamina (Morrison, 1977).

La hipovitaminosis ocurre cuando existe un aumento importante de las necesidades, cuando los animales están enfermos, cuando se le obliga a realizar esfuerzos físicos repetidos o cuando viven en condiciones ambientales desfavorables, influido por estrés, calor frío, enfermedades infecciosas y parasitarias (Leboulanger, 1987)

## 7) Vitamina E

La deficiencia de vitamina E está asociada a la enfermedad conocida como músculo blanco o distrofia muscular que se caracteriza por lesiones bilaterales en corderos menores. La vitamina E es liposoluble y se almacena en el hígado, todos los insumos contienen cantidades adecuadas de esta vitamina, pero la oxidación la destruye, afectando el contenido en forrajes maduros y alimentos molidos (Aliaga, 2006).

Las necesidades en vitamina E dependen, principalmente de las características de la ración y en particular de su contenido en ácidos grasos no saturados, así el aceite de hígado de bacalao es muy rico en vitamina E, pero; sin embargo, numerosos investigadores han podido provocar signos de carencia empleando este producto, ello sin duda porque el aceite contiene numerosos ácidos grasos no saturados que reducen totalmente la actividad de la vitamina (Gallego, 1986).

En la dieta natural de las ovejas son los alimentos verdes y los gérmenes de semilla. En consecuencia, una deficiencia de esta vitamina es poco frecuente en los ovinos maduros. La deficiencia de vitamina E en los corderos jóvenes puede contribuir a una distrofia muscular nutricional si el ingreso de selenio es bajo (Merck *et al.*, Rahway, 1981).

La carencia determina una alteración del epitelio seminífero, con trastornos importantes de la espermatogénesis (disminución del número y de la movilidad de los espermatozoides, e incluso azoospermia). A nivel de los músculos lisos y, sobre todo, en el útero, las trompas, las vesículas seminales, la próstata y el intestino, diversas alteraciones que se caracterizan por la presencia de pigmentos que provocan una distensión de las células y una dispersión de las miofibrillas en la periferia (Leboulanger, 1987).

Las funciones metabólicas de Se están fuertemente relacionadas con la vitamina E. es parte esencial de las enzimas antioxidantes peroxidasa de glutatión (GSH-Px), conteniendo cuatro átomos de Se por mol de la enzima. (Rotruck et al., 1973). Los signos de una deficiencia marcada de Se en los rumiantes incluyen: el crecimiento reducido y la distrofia muscular de carácter nutricional que frecuentemente es referida como la enfermedad del “músculo blanco” en corderos y terneros. En los animales adultos, el principal signo es la baja tasa de reproducción. En los corderos, se presenta de unas tres a seis semanas después de nacidos pero también se puede desarrollar hasta los 4 meses de edad (Russell, 2005).

#### **8) Biotina**

La biotina es esencial para el crecimiento de los corderos. Cierta cantidad de factores aumenta la necesidad de biotina, incluyendo la rancidez oxidativa de los alimentos, competición por microorganismos intestinales. (Merck *et al.*, 1981).

Vitamina del complejo B necesaria para las aves, los perros, los conejos, los monos y probablemente, algunas otras especies. Con una dieta experimental muy pobre en biotina, se producen en los animales ciertos síntomas característicos de deficiencia. Se necesitan cantidades mucho menores de esta vitamina que de las demás y parece estar muy difundida en los alimentos ordinarios (Morrison, 1977).

## 2.4. MÉTODOS DE COLECCIÓN DE SEMEN

### a) Método de vagina artificial

Es el método preferido para la colección de semen. Es necesario entrenar al carnero para utilizar la AV, lo cual no es difícil y la mayor parte de los animales quedan entrenados en una semana. Lo mejor es recolectar el semen durante la culminación de la estación reproductiva. La AV, consta de una manguera de 20 a 25 cm de longitud y 5 a 7 cm de diámetro, con funda de caucho. Es necesario lubricar el entreferro y que la temperatura de la AV se encuentre entre 42 y 46°C. cuando el carnero monta a la hembra, se guía con suavidad el pene al interior de la AV. La cantidad de presión inter-AV varía según el carnero. También es importante que el tubo de vidrio de recolección se encuentre tibio (37°C) para evitar choque por frío. Una vez que el carnero eyacula, el tubo de vidrio que contiene el semen se retira y coloca en baño de agua tibia a 30°C hasta que el semen alcance esta temperatura (Hafez, 2000).

La vagina artificial debe adaptar condiciones naturales idénticas a la vagina de borrega, a fin de despertar la acometida y el reflejo de la eyaculación (Zemjanis, 1990).

Es una imitación de la vagina de la oveja que provee estimulación térmica (temperatura) y mecánica (presión) para producir la eyaculación. El método consiste en utilizar dispositivos que simulan las condiciones naturales del aparato genital femenino, donde el control de la temperatura y la presión juegan un papel importante en el estímulo táctil del pene para un buen eyaculado. El uso de vagina artificial a diferencia de los otros métodos, permite obtener el volumen total del eyaculado, libre de contaminaciones como las secreciones vaginales, no hay peligro de ahuyentar al macho y se evita el contagio de enfermedades infecto-contagiosas. La extracción de semen con la vagina artificial es el método más perfeccionado y el de mayor uso en el Perú porque permite obtener eyaculados con alta motilidad y concentración espermática y su fácil confección usando materiales que están al alcance del ganadero, o la adquisición de vaginas perfeccionadas como el modelo Uruguayo de Fernández Goyechea, llamada vagina térmica, de mucho uso en zonas frías como la puna peruana (Aliaga, 2006).

La temperatura interior de la vagina artificial deberá ajustarse entre 40 – 46°C debiendo así mismo mantener una presión suficiente como para provocar la eyaculación. Por debajo de una determinada presión y temperatura, el estímulo del centro de la eyaculación será insuficiente y aquella no se producirá (Duran, 1968).

Los métodos de recogida de semen han cambiado poco con el paso del tiempo, siendo la vagina artificial el método de elección. La

electroeyaculación supone una fuerte tensión para el animal y produce un semen de peor calidad, con lo que se recomienda en situaciones muy concretas (Buxadé, 1996).

El entrenamiento consiste en desarrollar y reforzar los reflejos condicionados del carnero para servir a una hembra y los carneros que se han de utilizar como reproductores deben ser preparados y acostumbrados a la vagina artificial y a la manipulación de los genitales, igualmente se les debe familiarizar con el brete de colección, conseguida la docilidad del carnero, éste ira al lugar de colección sin mayor resistencia (Santos, 1975). Con el uso de una hembra en celo, debe acostumbrarse al canero a una rutina y posteriormente se podrá utilizar cualquier hembra que este o no en celo (Moreno, 1987).

#### **b) Método de electro-eyaculación**

Consiste en extraer el semen del carnero por estimulación eléctrica; empleando un electro-eyaculador que consta de dos polos, uno que se introduce en el recto y el otro que pasa por la región lumbar previamente humedecida. Sin embargo, actualmente hay electroeyaculadores con electrodo bipolar que es introducido al recto para estimular eléctricamente las glándulas vesiculares, ampollas, próstata, etc. El principio consiste en efectuar descargas eléctricas intermitentes de 2 a 3 voltios que pueden causar erección del pene sin excitación y secreción de fluidos de las glándulas accesorias. Sin embargo, con descargas alternadas de 10 a 12 voltios, se puede obtener un eyaculado con mayor contenido de espermatozoides. Mediante la electroeyaculación se obtiene un mayor

volumen de semen con menor concentración de espermatozoides, ligera disminución de la motilidad que el método de la vagina artificial, además de causar mayores daños físicos a los machos. Otra desventaja de éste método es que el semen suele contaminarse con orina. Por lo tanto, sólo se recomienda su empleo cuando los machos no pueden ser entrenados para la colección con vagina artificial y el uso del semen será en inseminación con semen fresco (Aliaga, 2006).

## 2.5. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE SEMEN

### a) Volumen

Se determina utilizando tubos o frascos graduados previamente esterilizados. El volumen varía de 0.5 a 2.0 cc, aun cuando se registran límites extremos de 0.2 a 3.0 cc y un promedio de 1.0 cc. El volumen del eyaculado puede variar según la edad, tamaño y condición corporal del animal, raza, frecuencia de colección, época del año, régimen alimentario, grado de excitación y destreza del operador (Aliaga, 2006).

El volumen de semen varía de acuerdo con el método de colección. Resultan mayores volúmenes de electroeyaculación en comparación con la colectada en vagina artificial (AV). La edad y estado del carnero, las estaciones, la habilidad del colector y la frecuencia de obtención de muestras, influyen en el volumen de eyaculado. Cuando se utiliza AV, es posible que los apareamientos falsos incrementen el volumen de eyaculación. Si las muestras se recolectan tres o más veces al día o durante periodos extensos, dicho volumen disminuye. Este volumen es de

0.5 a 2.0 ml en animales maduros, y de 0.5 a 0.7 ml en los jóvenes (Hafez, 2000).

El volumen promedio de semen colectado por el método de electro eyacuación, es de 0.83 mL; en carneros de 2,4 y 6 años (Campana, 1982). Investigaciones realizadas por Mamani (2010) reportaron 1.38 mL colectados de carneros Corriedale, Merino y Criollo; similares trabajos de Cabrera y Pantoja (2008) reportando 1.7 mL y Guerrero *et al.* (2009) quienes obtuvieron 1.1 mL estos dos últimos realizadas en carneros Assaf y Blackbelly. Los valores de volumen de semen, están dentro del rango normal (0.5 a 1.5mL) recomendado para procesar (Perez, 2010).

#### **b) pH**

La determinación del pH del semen puro, inmediatamente después de la eyacuación; tiene mucha importancia, debido a que existe una correlación de la concentración espermática y de la fertilidad con el pH del semen. El pH normal del semen fluctúa de 6.2 a 6.8 de pH. Cuando el semen tiene un pH mayor de 7 presenta baja fertilidad y si llega a 8 el semen es estéril. Cuando baja el pH esto puede deberse a una mayor concentración espermática por unidad de volumen lo cual conduce a una mayor actividad metabólica de los espermatozoides, aumentando la acidez (Aliaga, 2006).

Posiblemente los factores principales implicados en la variación del pH son cationes (Na, K, Ca) y aniones (cloruros, fosfatos, bicarbonatos) por ser estos componentes del semen, el acumulo de ácido láctico baja el pH

debido a la fructolisis, está en muestras con concentración elevada de espermatozoides (Derivaux, 1982).

Para los trabajos de evaluación de semen se debe tener un pH óptimo y cierto poder buffer, especialmente para el semen de rápida acidificación espontánea y alta concentración de espermatozoides como el de los rumiantes (Bonadonna, 1986).

### **c) Color**

El semen del carnero o morueco es de consistencia lechoso o lacto-cremosa y de coloración blanco-lechoso o cremoso pálido. El cambio de color normal tiene relación con la concentración espermática o presencia de elementos extraños. De este modo, el semen de color amarillo puede contener pus u orina; el color rojizo del semen indica presencia de sangre y los colores grises o marrones indican contaminación o infección y finalmente, el color blanquecino opaco es sinónimo de espermatogénesis deficiente (Aliaga, 2006).

El color es el primer factor que se valora y se debe evaluar en el mismo tubo de colección inmediatamente después de la colección (Evans y Maxwell, 1987).

La cantidad de espermatozoides presentes en el eyaculado hacen que la muestra presente una coloración blanca cremosa cuando la muestra es de buena calidad, pudiendo entonces variar el color del semen de acuerdo a la concentración espermática y al régimen alimenticio, para esta evaluación la muestra debe de estar libre de contaminantes (Del campo, 1980 y Quispe, 2003).

#### d). Concentración espermática

Constituye la cantidad de espermatozoides por unidad de volumen. En condiciones normales la concentración de espermatozoides del carnero varía de 2000 a 6000 millones de espermatozoides por ml. La determinación de la concentración espermática se puede efectuar por varios métodos, entre los más conocidos está el recuento en cámara de Neubauer o por fotocolorímetro. El método mediante el hematocímetro de Neubauer utilizado también para contar glóbulos de la sangre es muy preciso al igual que el fotocolorímetro (Aliaga, 2006).

La concentración normal en carneros varía de  $3.5 \times 10^9$  a  $6.0 \times 10^9$  espermatozoides/mL. No deben utilizarse los animales cuya puntuación de fertilidad es de 0 a 2.

**Cuadro 2: Concentración de Semen de carnero valorada mediante la consistencia.**

Puntuación	Consistencia	Número de Espermatozoides (x $10^9$ )	
		Media	Rango
5	Crema espesa	5.0	4.5-6.0
4	Cremosa	4.0	3.5-4.5
3	Cremosa diluida	3.0	2.5-3.5
2	Lechosa	2.0	1.0-2.5
1	Brumosa	0.7	0.3-1.0
0	Transparente (acuosa)	insignificante	

Fuente: Hafez, 2000.

El hemocitómetro, es el método más exacto, para ello la dilución se efectúa con la pipeta de cuenta glóbulos rojos, siendo la dilución 1:200 con una solución salina al 3% la misma que debe contener formalina para matar a los espermatozoides y poder contarlos, fluctuando la concentración espermática de 3,000 a  $6,50 \times 10^6$  espermatozoides/mL (Galina *et al.*, 1988).

### e) Motilidad Masal

Es posible observar a simple vista en el tubo de colección los movimientos de los espermatozoides en forma de remolino y con mayor nitidez en el microscopio. Existe escala para determinar la motilidad del semen puro, el cual se basa en el movimiento del conjunto de espermatozoides en una gota pendiente a 37°C, examinado en un microscopio. Expresado en grados que fluctúa de 0 a 5. Así tenemos (Aliaga, 2006).

**Cuadro 3: Valoración microscópica de la motilidad espermática.**

Grados	% espermatozoides vivos	Calificativo	Observación
5	80-100	Muy bueno	Movimiento en remolino
4	60-80	Bueno	Movimiento en nube
3	40-60	Regular	Movimiento en ondas
2	20-40	Pobre	Movimiento en masa
1	10-20	Malo	Movimiento oscilatorio
0	0-10	Pobrísimos	No hay movimiento

Fuente : Aliaga, 2006

La valoración del semen es de mucha importancia, así la prueba de motilidad proporciona datos más importantes acerca de su calidad. Sin embargo ella está sujeta a dos tipos de factores. La subjetividad de la prueba y el manejo de células vivas que son extremadamente sensibles a influencias extremas que pueden destruirlas o perjudicarlas y alterar su motilidad. La muestra se prepara colocando una gota de semen en un lámina porta objeto limpio a una temperatura de 37°C, el semen puro del carnero exhibe movimientos en ondas cuando se examina en el microscopio a un aumento de 50X a 100X. al evaluar se hace un estimado subjetivo de la motilidad basándose en el vigor de las ondas y su actividad se cuantifica en grados en una escala que va de 0 a 5, que se detalla a continuación en el 03 (Evans y Maxwell, 1987).

#### **f) Motilidad Individual**

Debido a la alta concentración espermática es necesario diluir el semen colectado con solución salina isotónica fresca y tibia para observar los movimientos individuales de los espermatozoides, siendo una buena muestra de semen aquella que tenga más del 80% de espermatozoides motiles (motilidad individual). La motilidad puede calificarse como muy buena cuando la motilidad individual es mayor al 80%, buena cuando la motilidad individual se encuentra en un rango de 60 a 80%, regular cuando el rango es de 40 a 60%, pobre cuando está entre 20 a 40% y muy pobre cuando la motilidad individual es menor al 20%, así mismo se debe

considerar al momento de observar la motilidad individual movimientos anormales, circulares o retrogresivos (Clarence, 1993).

Los espermatozoides pueden tener: movimientos progresivo hacia delante, movimiento circular o rotatorio y movimiento oscilatorio o convulsivo sin progreso ni cambio de posición. Estos movimientos observados mediante la microscopia. Variando por factores ambientales, manejo del semen después de recogido, intervalo entre la recogida, valoración y variaciones individuales del propio carnero (Evans y Maxwell, 1990).

#### **g) Morfología de los espermatozoides**

Los espermatozoides normales del carnero presentan una cabeza de forma ovalada, cubierta por el capuchón cefálico que contiene el material cromosómico; tiene un cuello corto que alberga a los centriolos que regulan la movilidad; presenta el cuerpo y la cola cuya función es directriz. Sin embargo existen anomalías primarias o malformaciones debido a los factores genéticos o ambientales que pueden afectar la cabeza y el cuerpo cambiando de forma y tamaño. Se registran anomalías secundarias de espermatozoides totalmente desarrollados, debido a la vejez o luego de un prolongado reposo sexual o por mezcla anormal de secreciones accesorias, los cuales se manifiestan en cola doblada, cola doble, cola rota, fractura del cuello, colas circulares, etc. (Aliaga, 2006).

Existe una correlación positiva entre los espermatozoides con morfología normal y la motilidad espermática. Aunque todas las eyaculaciones contienen algunos espermatozoides anormales, el semen que contiene más de 15% de espermatozoides anormales no debe usarse para inseminación artificial. La morfología de los espermatozoides se examina mediante tinción de eosina-nigrosina, si bien también pueden utilizarse la de Wright y la de Williams (Evans y Maxwell, 1990).

La coloración de eosina-nigrosina es ideal para evaluar la morfología espermática dado que al carecer de pasos de lavado, todo lo que está en el semen se descubrirá en el frotis (Catena, y Cabodevila, 1999).



## 2.6. ANTECEDENTES:

Las referencias revisadas indican que la vitamina A tiene efectos positivos en ovinos: el promedio de fertilidad de borregas vitaminizadas con el Complejo A, D3, E y C (Revisol) fue de 62%, resultado que fue significativo frente a las borregas mantenidas en pasturas naturales que alcanzan solamente el 42% de fertilidad; el promedio de la fertilidad en borregas primerizas y adultas fue de 52% (Bombilla, 1981).

Los ovinos machos pueden iniciar su actividad sexual a los 6-7 meses, y los rendimientos de las cubriciones son variables (8 a 35 cubriciones por día) siendo el número de cubriciones más elevado al final de la tarde y por la mañana temprano (mejor eficacia durante la noche). Para que los carneros produzcan semen de calidad se debe suministrar las proteínas necesarias (es mejor que sean de origen animal). Y hay que cuidar los aportes en minerales (fósforo, calcio, zinc, y yodo) y vitaminas A, D3, E, procurando que las raciones no favorezcan el engorde de los carneros, pues en aquellos animales gordos el semen es de peor calidad (Domínguez *et al.*, 2002).

Los carneros con Cr presentaron mayor volumen del eyaculado (0.905 vs 1.078 mL;  $P \leq 0.01$ ) y concentración (3709.7 vs 3916.5 millones  $\text{mL}^{-1}$ ;  $P \leq 0.05$ ); la motilidad fue similar entre tratamientos ( $P \geq 0.05$ ). En morfología, los promedios de espermatozoides vivos (65.42 vs 63.26) y muertos (34.77 vs 36.71) fueron similares ( $P \geq 0.05$ ); el esperma de sementales con Cr produjo cambios ( $P \leq 0.07$ ) en los porcentajes de espermatozoides normales (98.30 vs 98.96). El Cr no afectó el perímetro

testicular (38.7 vs 38.2 cm), pero si el peso vivo ( $P \leq 0.01$ ), los sementales control ganaron 14.7 g/dL y 3 kg en total y los tratados 44.7 g/dL y 9.1 kg. El semen colectado con vagina artificial fue evaluado de inmediato las características de volumen (mL), motilidad (escala de 0 a 5), concentración (con hemocitómetro, miles de millones  $\text{mL}^{-1}$ ), vivos, muertos, normales y anormales (%), por tinción de eosina-negrosina). Semanalmente se registró el peso y se midió, con cinta métrica, el perímetro testicular. Se usó un diseño completamente al azar, se hizo por el procedimiento GLM de SAS (1999). Para ganancia de peso y diámetro testicular, el peso vivo inicial se consideró como covariable. El Cr orgánico aumentó la calidad del semen con efectos en volumen, concentración y % de espermatozoides normales, y también aumentó la ganancia de peso de los sementales (Domínguez y et al., 2002).

En la práctica, el flushing consiste en aumentar la ingesta de alimentos de las ovejas, de forma que se hallen ganando peso en la época de cubrición. Se suele efectuar tres semanas antes de la cubrición, ofreciéndoles a los animales los mejores pastos o un suplemento en forma de concentrado de unos 150 a 300gr. de cereal/animal/día, según su condición corporal. Niveles muy bajos y muy altos de alimentación, así como desbalances entre los componentes básicos de la dieta como son energía, proteínas, vitaminas y minerales, afectarán la capacidad reproductiva del carnero. Aquellos animales que presenten baja condición corporal o sub alimentación, tendrán menor concentración y calidad de semen, así como disminución de la libido. La deficiencia de Vitamina A es también un problema importante en el desarrollo de la fertilidad del carnero.

En condiciones de campo, no existen deficiencias de esta vitamina, ya que su fuente es el forraje verde. Sin embargo, en condiciones de sequía prolongada, pueden aparecer degeneraciones seminales por deficiencias de esta vitamina, en estos casos se recomienda administrar Vitamina A. a los carneros (Milicevic, 1992).

Los corderos Criollos alcanzan la pubertad y madurez sexual más precozmente que los corderos Junín y Corriedale; además, los carneros criollos muestran mayor concentración y motilidad espermática que las otras dos razas. Los carneros de las tres razas mantienen una producción de semen en cantidad suficiente para una reproducción adecuada a través del año. La actividad espermática y producción seminal no limitan la producción bajo sistemas de empadre continuo durante el año en las tres razas. Sin embargo los criollos muestran una menor estacionalidad que los otros dos. Estos resultados tienen la limitación del uso de electroeyaculación para la obtención del semen (Mc Corkle y Constante, 1990).

La fertilidad potencial de una muestra de semen depende de que contenga un número suficiente de espermatozoides viables, morfológicamente normales y funcionalmente competentes, capaces de alcanzar el oviducto y de establecer un reservorio oviductal, de llevar a cabo la fecundación del ovocito, y de contribuir al desarrollo embrionario. Los nuevos sistemas computarizados para el análisis de la motilidad y de la morfometría espermática, junto con las tecnologías de fluorescencia, permiten adquirir, de forma rápida y objetiva (Fernández *at al.*, 2005).

Se han utilizado 23 eyaculados procedentes de seis moruecos adultos de raza Churra, a cada uno de los cuales se realizaron cuatro recogidas y congelaciones distintas, excepto a uno de ellos al que sólo se realizaron tres recogidas. La obtención seminal se efectuó con vagina artificial termorregulada a 40° C. Tras la recogida de los eyaculados, éstos se colocaron en un baño termostático a 37° C y se procedió a valorar su motilidad masal siguiendo la clasificación de Evans y Maxwell (1989), el volumen mediante apreciación visual directa en el tubo colector graduado y la concentración espermática por procedimiento espectrofotométrico (Anel *et al.*, 1998).

En pH seminal no hubo efecto de raza; sin embargo hubo efecto semanal ( $P < 0.0001$ ) entre las semanas de colección antes del tratamiento y cada semana después del tratamiento, observándose esta diferencia a partir de la semana 5 hasta la 10. Hubo tendencia a la significancia ( $P < 0.07$ ) de la interacción raza/semana en donde la significancia desapareció a partir de la semana 8 en la raza Pelibuey. Mientras que en Merino Precoz ocurrió a partir de la semana 11; no hubo efecto significativo de raza y de interacción raza/semana en el volumen seminal; sin embargo, hubo tendencia a la significancia ( $P < 0.06$ ) entre semanas de colección antes del tratamiento y la semana 5 ( $P < 0.06$ ) (Manco *et al.*, 2000).

El Cr orgánico aumentó la calidad del semen con efectos en volumen, concentración y % de espermatozoides normales, y también aumentó la ganancia de peso de los sementales (Domínguez *et al.*, 2002).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ámbito de Estudio

El trabajo de investigación fue ejecutado en el CIP Chuquibambilla ubicado en el Distrito de Umachiri, Provincia de Melgar, Región Puno, se encuentra a 3970 m. s. n. m. comprendido entre las coordenadas 14° 47' 35" latitud Sur 70°43' 50" longitud Oeste, además cuentan con un área de terreno para cultivo de pastos (alfalfa, ryegrass, trébol y dactylis y forrajes temporales como, avena, cebada y pastos naturales), en la zona predomina un clima frío y seco observándose épocas bien marcadas la de lluvias y la de estiaje (SENHAMI- CIP- CH. 2012).

#### 3.2. Material de Estudio

##### 3.2.1. Animales

Se utilizó 12 carneros con edad promedio de 1.5 años, en etapa reproductiva; 06 carneros con tratamiento de Hematec® (experimental) y 06 carneros sin Hematec® (testigo), y se evaluó a los carneros antes y después de aplicar el Hematec®. Los ovinos fueron identificados con aretes de plástico y particularmente fueron alimentados en base a pastos naturales.

**CUADRO 4: Distribución de los carneros en estudio.**

N°	N° ARETE	Con Tratamiento			N° Muestra	N° ARETE	Sin Tratamiento			N° Muestra
		1 <sup>ra</sup> Dosis	2 <sup>da</sup> Dosis	3 <sup>ra</sup> Dosis						
1	2	2	3	3	8	14	3	3	2	8
2	4	3	3	3	9	18	3	3	2	8
3	10	3	2	0	5	32	3	3	2	8
4	50	3	3	3	9	52	3	3	2	8
5	56	3	3	3	9	54	3	3	2	8
6	68	3	3	2	8	70	3	3	2	8
<b>TOTAL</b>		<b>17</b>	<b>17</b>	<b>14</b>	<b>48</b>		<b>18</b>	<b>18</b>	<b>12</b>	<b>48</b>

Fuente: Elaboración propia.

**3.2.2. Producto empleado**

- a) Nombre comercial : HEMATEC®  
 b) Clase de uso : Promotor de producción  
 c) Formulación : Suspensión oral  
 d) Composición química : Fósforo 45 g

Magnesio 80 mg  
 Cobalto 20 mg  
 Biotina 1 mg  
 Vitamina A 10 000 000 UI  
 Vitamina E 6 000 UI  
 Vitamina C 30 g  
 Vitamina B12 10 mg  
 Aminoácidos totales 154.5 g  
 Agua c.s.p. 1 000 ml

Suspensión oral a base de vitaminas liposolubles, hidrosolubles y aminoácidos esenciales. Indicado para prevenir y reponer la carencia de vitaminas A, B12, C, E y aminoácidos esenciales. Es estimulante del metabolismo proteico y enzimático, favoreciendo el crecimiento, reproducción y ganancia de peso. Además es un potente reconstituyente en el tratamiento de enfermedades infecciosas y parasitarias de animales en crecimiento o en producción.

El manejo del ganado ovino se realiza con un sistema de manejo extensivo realizándose el pastoreo libre controlado de los animales en pastos naturales en el último tercio de gestación se le suplementa con forrajes almacenados (ensilados) especialmente en épocas de carencia de pastizales entre los meses de Julio a Noviembre.

El manejo reproductivo en el CIP es realizado mediante la Inseminación Artificial (IA) y complementándose con monta natura (repase). Se realiza agrupando borregas en celo por la técnica del efecto macho para estimular los calores o celos, consiste en mezclar machos vasectomizados con las hembras faltando 25 días antes de iniciar la inseminación con semen fresco, se retira 5 días antes de iniciar y luego se detecta las borregas dispuestas con el método de observación directa viendo el cómo los retajos marcadores o detectores pintados en el pecho con ocre marcaran a las borregas en celo, las borregas detectadas en celo deben esperar de 12 a 16 horas para ser inseminadas.

En cuanto a la calidad genética se tiene animales en proceso de selección para lograr majadas que reflejen puros por cruce de los criollos y poseen registros productivos, y las otras razas como merino precoz y corriedale.

### 3.3. Metodología de trabajo

#### 3.3.1. Selección de machos para la evaluación.

1. Se seleccionó los carneros de la raza corriedale del potrero de San Juan con las edades de 1.5 años y pesos uniformes aparentemente sanos.
2. Se identificaron los grupos con aretes numerados de distintos colores por tratamiento, los animales fueron sometidos a nuevas condiciones climáticas (dormidero) y la alimentación al pastoreo a base de pastos naturales.

#### 3.3.2. Entrenamiento de carneros para colección de semen.

1. Se adiestraron los carneros, de los cuales se seleccionó 06 carneros para cada grupo (experimental y testigo), descartándose a aquellos carneros indóciles.
2. Periodo de tiempo que duró esta actividad fue de 2 meses de Abril a Junio, paralelo a la campaña de inseminación.
3. Se usó la Sala de Inseminación Artificial de ovinos, en donde se adiestraron los carneros con una borrega en celo, en el brete de colección de semen.
4. Se usó el método de vagina artificial para la colección del semen.

### 3.3.3. Procedimiento de Aplicación de Vitaminas y Minerales.

1. Luego de entrenar, colectar y evaluar el semen se suministró vitaminas y minerales al grupo experimental con dosis de 50 mL/animal, en tres fechas distintas cada 15 días, en total recibieron 150 mL/animal; luego se procedió a evaluar a ambos grupos (experimental y testigo).

### 3.3.4. Colección de semen por vagina artificial.

1. En los carneros a colectarse se realizó la limpieza de la zona de prepucio, donde se recortaron los pelos prepuciales con la finalidad de evitar la contaminación del semen. El semen se colectó en un lugar limpio y libre de polvo antes y después del tratamiento con Hematec®.
2. Para la colección de semen se realizó el armado de vagina artificial con funda o camisa interna de látex, la misma se repliega y se asegura sobre los extremos del tubo externo con bandas electivas formando, entre la cubierta y la camisa, un compartimiento hermético para el agua, y el agua tuvo una temperatura de 39°C la cantidad de presión inter-AV. variará según el carnero.
3. Para este fin se trasladó una borrega de la punta de hembras en celo, luego sujetando en el brete de colección de semen, de tal manera que la hembra queda inmovilizada.
4. Una vez que la hembra estuvo inmovilizada se estimuló al carnero paseándolo por los alrededores de la hembra en celo, para que por

el intermedio de caminar y olfateo se estimule bien para una colecta segura.

5. Finalmente se soltó el carnero para que salte y con la mano izquierda se guió con suavidad el pene, al interior de la vagina artificial, que lleva en su extremo posterior un vaso colector graduado.
6. El semen se recolectó en el vaso graduado protegido con una tela gruesa oscura, y se evaluó inmediatamente las características apreciables como la motilidad masal, volumen y color de semen.

### **3.4. Evaluación seminal.**

#### **3.4.1. Volumen**

- a. Para determinar el volumen total se esperó un tiempo para que baje el semen por gravedad de la funda hacia el vaso colector.
- b. El volumen del semen se determinó directamente en el vaso colector graduado.
- c. El indicador (mL) fue medido y registrados en un formato de información (Anexo).

#### **3.4.2. Color**

- a. La lectura fue realizada directamente en el vaso colector aprovechando la transparencia del vaso.

- b. El color del semen se determinó por observación basándonos en los criterios que se encuentra en la siguiente tabla:

Puntuación	Aspecto	Color
5	Crema espesa	Crema
4	Cremosa	Crema pálido
3	Cremosa diluida	Blanco lechoso
2	Lechosa	Blanco
1	Brumosa	Pálido
0	Transparente (acuosa)	Transparente

Fuente: Hafez, 2000.

### 3.4.3. pH

- Para medir el pH de semen se depositó en un recipiente de diámetro menor.
- El equipo para medir pH se calibró en neutro con una solución buffer este procedimiento para cada muestra de semen.
- El pH-metro se introdujo al recipiente el extremo sensor del peachímetro digital y su respectiva lectura.
- Los datos fueron registraron en el formato de información (Anexo).

### 3.4.4. Motilidad masal

- Los materiales se calentaron a temperatura corporal en una estufa a gas.

- b) Se homogenizaron el eyaculado por agitación del vaso colector, se tomó una gota de muestra del semen con una vagueta entibiada.
- c) Se colocó sobre un portaobjetos tibio y se llevó al microscopio para su observación microscópica a 40 X de aumento.
- d) Se obtuvo una idea de la calidad seminal por la velocidad con que se hacen y deshacen las ondas (motilidad masal).
- e) La motilidad se estimó por el vigor del movimiento de las ondas en una escala subjetiva entre 0 y 5 (0, mínimo; 5, máximo).
- f) Los datos fueron registrados en el formato de información (Anexo).

#### **3.4.5. Concentración**

El método que se utilizó fue el hemocitómetro, en el cual se ha diluido en un medio que a la vez produce dispersión, de la siguiente forma:

- a) Se homogenizó suavemente la muestra de semen puro con la vagueta.
- b) Con la pipeta cuenta glóbulos rojos se aspiró el semen hasta la marca 0.25 que está por debajo del bulbo.
- c) Luego se aspiró agua destilada hasta la marca 101 sobre el bulbo.
- d) La pipeta tomándolo entre los dedos medio y pulgar se agitó en sentido transversal por espacio de 2 minutos, como 30 veces.
- e) Para colocar se eliminó las primeras 5 gotas de mezcla.

- f) Se colocó una gota en cada uno de los campos de la cámara de Neubauer.
- g) Se localizó uno de los campos a menor aumento de 10X.
- h) Para los siguientes cuadrantes se cambió foco sobre los 5 cuadraditos de los 25 a mayor aumento y se empezó a contar (los cuatro extremos y el del centro). Solamente se contó a los espermatozoides comprendidos dentro de la doble raya izquierda y superior.
- i) Se colocó la cámara bajo observación microscópica de (100 o 200 aumentos). Si los espermatozoides no están repartidos uniformemente por toda la cámara, se repitió la operación de carga. Se ha contado el número de espermatozoides en un cuadrado “grande” por cada cuadrante y se repitió el conteo en uno de los cuadrantes elegido al azar, contándose en total 5 cuadrados. La concentración de espermatozoides/mL se calculó multiplicando la suma de los espermatozoides contados en los 5 cuadrados por 10,000 ( $\text{Esp/mL} = \text{Suma de esp,} \times 10,000$ )

#### **3.4.6. Vitalidad de espermatozoides.**

- a) Para la determinación del % de vitalidad de espermatozoides se utilizó la técnica de Derivaux. Los espermatozoides muertos se colorearon mientras que los vivos no.
- b) Se utilizó eosina al 5% y nigrosina al 10%; en una lámina porta objetos a temperatura corporal, se mezcló una gota de semen

con dos gotas de eosina y una gota de solución de nigrosina, después de algunos segundos, se tomó una gota pequeña.

- c) Se realizó una extensión (frotis) con otra lámina en 45° de ángulo, secándola inmediatamente por agitación del aire. Fue conveniente que el colorante y el esperma estén en la misma temperatura, tengan el mismo pH y presión osmótica.
- d) Para esta operación se tuvo mucho cuidado para evitar el shock por los cambios de temperatura o luz a que son muy susceptibles los espermatozoides vivos, por lo que no transcurrió más de un minuto después de la colección.
- e) A continuación se llevó al microscopio contando con rangos de 129-287 espermatozoides entre vivos y muertos en diferentes campos a un aumento 40X, considerando como muertos aquellos que resultan coloreados citado por (Sucapuca, 1991).

#### **3.4.7. Determinación de espermatozoides normales y anormales del semen.**

- a) La morfología de los espermatozoides se examinó mediante la tinción de eosina-nigrosina (Hafez, 2000).
- b) Los portaobjetos teñidos con muestras de semen se examinaron a un aumento de 40X, se analizaron por lo menos 250 espermatozoides y se clasificaron en las siguientes categorías que se muestran en el siguiente cuadro:

CATEGORIA	ANORMALIDADES
1	Sin cola,
2	Cabezas anormales,
3	Formación anormal de la cola,
4	Formación anormal de la cola con inclusión citoplasmática proximal.
5	Formaciones anormales de la cola inclusión distal.

### 3.4.8. Determinación de la motilidad individual del semen.

- a) Se colocaron una pequeña muestra de semen diluido (citrato de sodio) en una lámina portaobjetos precalentado a 37°C aproximadamente, sobre la platina del microscopio el que fue calentado con un mechero bunsen a una distancia de 5 cm por debajo de la platina
- b) La lámina porta objetos se cubrió con un cubreobjetos precalentado a la misma temperatura.
- c) La lectura de los espermatozoides se realizó en 5 campos ópticos como mínimo, en los cuales se contaron los espermatozoides con o sin movimiento.

$$\% \text{ mot.} = \frac{N^{\circ} \text{espermat. motiles}}{N^{\circ} \text{total espermat.}} \times 100$$

CATEGORIA	MOTILIDAD INDIVIDUAL %
Semen muy bueno	Igual o mayor de 70% de motilidad individual.
Semen bueno	50-69% de motilidad individual.
Semen regular	30-49% de motilidad individual.
Semen malo	Menor de 29% de motilidad individual.

### 3.5. MÉTODO ESTADÍSTICO

3.4.1. Para los datos de color se ha utilizado la prueba estadística de chi-cuadrado, con la siguiente fórmula:

$$X_c^2 = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k \frac{(\sigma_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}}$$

$\sigma_{ij}$  = Valor observado

$e_{ij}$  = Valor esperado

3.4.2. Para las variables de volumen, pH, concentración, motilidad masal e individual, vitalidad de espermática, se utilizó análisis de variancia con dos tratamientos (ANVA) y la comparación de medias a través de "t" (student), con el siguiente modelo matemático y la fórmula.

$$Y_{ij} = u + T_i + E_{ij}$$

**Dónde:**

$Y_{ij}$  = Variable respuesta (Volumen, pH, concentración, motilidad masal, motilidad individual y vitalidad espermática).

$U$  = Media poblacional

$T_i$  = Efecto del tratamiento (1 y 2)

$E_{ij}$  = Efecto del error experimental

## IV. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1. CARACTERISTICAS MACROSCÓPICAS

#### 4.1.1. VOLUMEN SEMINAL

CUADRO 1: VOLUMEN SEMINAL (mL) DE LOS CARNEROS CORRIEDALE SEGÚN GRUPOS DE MANEJO EN EL CIP-CHUQUIBAMBILLA.

CARNEROS (GRUPO)	<i>n</i>	PROM.	D.E.	CV (%)
EXPERIMENTAL	48	1.12	0.20	17.8
TESTIGO	48	1.07	0.24	22.4

En el cuadro 1, nos muestra que no existe diferencia significativa en la variable volumen seminal de los carneros del experimental y los del testigo ( $P \geq 0.05$ ); lo cual permite deducir que las Vitaminas y Minerales no influyen en el aumento y/o disminución del volumen seminal. Estos valores son similares al reporte Pérez, (2010) quien encuentra  $1.22 \pm 0.46$  mL de volumen seminal de los carneros alimentados a base de pastos naturales. Mientras Quispe, (2009) reporta en promedio  $1.05 \pm 0.16$  mL de volumen seminal, no ha encontrado diferencias estadísticas ( $P \geq 0.05$ ) entre razas ni entre meses de evaluación. Los promedios de la raza Corriedale se encuentra dentro de los valores citados por Galina *et al.*, (1988); Derivaux (1982); Duran del campo (1980) y Aliaga (2006); quienes afirman que el volumen seminal fluctúa entre 0.8 a 2.0 mL; del mismo modo concuerda con el resultado citado por Guevara

(1996) quién reporta 1.23 mL, en el mismo lugar de estudio; sin embargo, Sonco, (1992) investigó en el mismo lugar y con carneros de raza corriedale y encuentra valores de 1.5 a 2.4 mL, que podría ser a que trabajo con animales de mayor edad que hace variar el volumen (McDonald., 1981). Los valores de volumen de semen, están dentro del rango normal (0.5 a 1.5 mL) recomendado para procesar por Mylne *et al.* (1997) y Cueto *et al.* (2004), asimismo son similares a los reportados por Marco-Jiménez *et al.* (2005) con 1.2 mL, Guerrero *et al.* (2009) con 1.1 mL y Mamani (2010) con 1.1 mL. Sin embargo, son superiores a los obtenidos por Campana (1982) 0.95 mL e inferiores a los reportados por Cabrera y Pantoja (2008) con 1.7 mL. Las ligeras variaciones que muestran los autores arriba mencionados en el volumen de semen, se debe a los factores medio ambientales, la composición del semen varía considerablemente, entre sus especies y otras, incluso dentro de los mismos individuos según la época del año o las condiciones de explotación (Illera, 1994). Por lo tanto las dosis de vitaminas y minerales no influyen en el aumento de volumen seminal. Se considera que un carnero de edad adulta puede eyacular un volumen que oscila entre 0.75 a 2 mL y que en promedio puede eyacular hasta 10 veces, por lo tanto la proporción de macho y hembra es de 1 a 30 realizando la monta natural (Hafez, 2000). Cabe indicar también de que el volumen total del esperma recogido no es más que un factor secundario de apreciación, de preferencia deberá medirse en el propio vaso colector graduado en su defecto mediante la pipita graduada, la producción volumétrica normal del carnero fluctúa alrededor de 0.5 a 2 mL (Derivaux, 1982).

**4.1.2. COLOR**

**CUADRO 2:** COLOR DEL SEMEN (%) DE LOS CARNEROS CORRIEDALE SEGÚN GRUPOS DE MANEJO EN EL CIP-CHUQUIBAMBILLA.

			COLOR			TOTAL
			Blanco Lechoso	Crema	Crema Pálido	
FACTOR	GT	Recuento (N)	23	0	25	48
		Porcentaje (%)	47.9%	0%	52.1%	100.0%
	GE	Recuento (N)	11	5	32	48
		Porcentaje (%)	22.9%	10.4%	66.7%	100.0%

$\chi^2_c = 10.09$

Chi cuadrado tabular 0.05, 2 = 5.99

Chi cuadrado tabular 0.01, 2 = 9.21

En el Cuadro 2, se observa que el porcentaje del total de colectas seminales en el grupo testigo fue de 47.9, 0 y 52.1% para el color seminal blanco lechoso, cremoso y crema pálido, respectivamente; mientras para los carneros del grupo experimental los porcentajes obtenidos fueron de 22.9, 10.4 y 66.7% para el color seminal blanco lechoso, cremoso y crema pálido, respectivamente; estos al ser sometido a la prueba de chi-cuadrado reflejó que existe una diferencia altamente significativa en la variación del color del semen ( $P < 0.01$ ). El número de espermatozoides varía de acuerdo al color seminal, entonces asumimos que cuanto más oscuro sea el semen mayor será el número de espermatozoides e inversamente (Evans y Maxwell, 1990). El examen del color seminal por lo tanto provee una rápida

y simple método de estimación del número de espermatozoides por eyaculado. Las variaciones del color seminal pueden ser calificadas como se muestra en la Tabla 02 (Sorensen, 1982; Evans y Maxwell, 1990). El variable color de semen indicado por los autores mencionados se debe o está directamente relacionado con la concentración de espermatozoides que normalmente es blanco-lechoso (Del Campo, 1980). Y la concentración es el número de espermatozoides por unidad de volumen (normalmente expresado en mL.), (Evans and Maxwell, 1990), entonces la aplicación de vitaminas y minerales en los carneros influyeron en la formación de los espermatozoides ya que las vitaminas actúan a nivel de los epitelios que reviste los túbulos seminíferos, está compuesto por dos tipos básicos de células las células de Sertoli y las células germinales (Hafez, 2000), las vitaminas influye en la formación de los espermatozoides, la avitaminosis E se acompaña de azoospermia en los machos. (Fattoorusso, V., 1987). Los datos obtenidos del presente trabajo son las primeras colectas obtenidas en las horas de la mañana, a medida que los saltos sean frecuentes en una misma jornada, el líquido espermático se hace cada vez más claro y acuoso, esto debido a la baja concentración espermática (Derivaux, 1982). Cuando los espermatozoides están ausentes (azoospermia) es incoloro (Castillo, 1965; Pérez et al., 1987).

### 4.1.3. pH.

CUADRO 3: PH DEL SEMEN DE LOS CARNEROS CORRIEDALE SEGÚN GRUPOS DE MANEJO EN EL CIP-CHUQUIBAMBILLA.

CARNEROS (GRUPO)	<i>n</i>	PROM.	D.E.	CV(%)
EXPERIMENTAL	48	6.69	0.28	4.2
TESTIGO	48	6.64	0.13	2.0

En el cuadro 3, se evidencia de que no se encontraron diferencias estadísticas en el pH del semen de los carneros del grupo experimental y las del testigo ( $P \geq 0.05$ ); en el cual los carneros del experimental mostraron un promedio de  $6.69 \pm 0.28$  y para el grupo testigo de  $6.64 \pm 0.13$  de pH. Lo cual nos permite afirmar que las vitaminas y minerales no influyen en el aumento y disminución de pH. Los valores normales de pH (Aliaga, 2006) reporta entre 6.2 a 6.8 de pH, que por encima de los valores indica baja fertilidad o podría llegar a ser estériles; no obstante que, los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación fueron de carneros libre de enfermedades reproductivas. Cuando baja el pH esto puede deberse a una mayor concentración espermática por unidad de volumen, lo cual conduce a una mayor actividad metabólica de los espermatozoides, aumentando la acidez (Aliaga, 2006). La concentración de iones de hidrógenos está regulada de una forma precisa que influye sobre casi todos los sistemas enzimáticos del organismo, es esencial que esté regulada de forma precisa. Los cambios en la concentración del hidrógeno

alteran la práctica totalidad de las funciones del organismo (Guyton, 1998). Cuando se produce un cambio en la concentración de iones de hidrógeno, los sistemas de amortiguadores de los líquidos orgánicos reaccionan en una fracción de segundos para contrarrestar las desviaciones (Guyton, 1998).

## 4.2. CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS

### 4.2.1. CONCENTRACION ESPERMATICA

CUADRO 4. CONCENTRACION ESPERMATICA (Número) DE LOS CARNEROS CORRIEDALE SEGÚN GRUPOS DE MANEJO EN EL CIP-CHUQUIBAMBILLA.

CARNEROS (GRUPO)	<i>n</i>	PROM.	D.E.	CV (%)
EXPERIMENTAL	48	$6.7 \times 10^9^a$	$9.3 \times 10^8$	13.9
TESTIGO	48	$5.6 \times 10^9^b$	$5.3 \times 10^8$	9.5

En el cuadro 4, observamos que existe diferencia significativa en la concentración espermática entre los carneros del grupo experimental y las del testigo ( $P < 0.05$ ); lo cual nos indica afirmar que las vitaminas y minerales influyen en el aumento de la concentración espermática. Para esta raza Quispe, (2009) reporta  $3,958.3 \pm 308.0 \times 10^6$ , valores reportados por Pérez, (2010) quien encuentra  $408 \pm 121 \times 10^7$ . En la raza corriedale, reportan como promedio  $3,767.3 \pm 364.0 \times 10^6$  espermatozoides/ml, que es inferior a lo obtenido en el presente investigación, por lo que no recibieron ningún tipo de tratamiento. No obstante los resultados logrados en carneros

con suplementación de vitaminas y minerales están por encima de los márgenes atribuidos por autores mencionados. Hafez, (2003); Aliaga (2006), quienes indican una variación desde 2,000 a 6,000 millones de espermatozoides/mL., estando en el rango que recomiendan los autores Sorensen (1982), Evans y Maxwell (1990), Mylne *et al.* (1997) y Gil *et al.* (2003) que reportaron de  $3.5 - 6 \times 10^9$ . Cabrera y Pantoja (2008) con  $2.73 \times 10^9$ /mL y Mamani (2010) con  $2.90 \times 10^9$ /mL reportaron resultados inferiores contrastado con el presente estudio; por el contrario Marco-Jiménez *et al.* (2005) reportó mayores concentraciones quienes reportaron  $6.20 \times 10^9$ . La suplementación de la vitamina A y la vitamina E mostraron una diferencia significativa por lo que la vitamina A es necesaria especialmente para el normal crecimiento y proliferación de los diferentes tipos de células epiteliales, el déficit de la vitamina A está asociado especialmente a la atrofia del epitelio germinal de los testículos, también la ausencia de la vitamina E puede provocar la degeneración de los epitelios germinales de los testículos, por tanto producir esterilidad en los machos (Guyton, 1998). La concentración espermática del carnero normalmente contiene de 1000 a 6000 millones de espermatozoides por mL; la suplementación permite el aumento del número de espermatozoides, se considera que el semen que contiene menos de 1000 millón de espermatozoides por mL es de baja fertilidad. La concentración varía con la raza del ovino y dentro de esta con el individuo e independientemente es influenciada por la temperatura y por el trabajo sexual al que es sometido; la concentración parece correlacionarse con la fertilidad, aunque no siempre un semen concentrado es de buena calidad (Calle, 1967).

#### 4.2.2. MOTILIDAD MASAL

CUADRO 5: MOTILIDAD MASAL DE LOS ESPERMATOZOIDES (%) DE LOS CARNEROS CORRIEDALE SEGÚN GRUPOS DE MANEJO EN EL CIP-CHUQUIBAMBILLA.

CARNEROS (GRUPO)	<i>n</i>	PROM.	D.E.	CV(%)
EXPERIMENTAL	48	4.67	0.48	10.21
TESTIGO	48	4.50	0.55	12.13

En el cuadro 5, nos muestra que no existe diferencia significativa en la motilidad masal del semen entre los carneros del experimental y testigo ( $P \geq 0.05$ ); lo cual nos indica afirmar que la suplementación de Vitaminas y Minerales no influye en la motilidad masal, la motilidad masal de los espermatozoides colectados fueron clasificados de acuerdo al vigor del movimiento, según lo recomendado por Sorensen (1982) y Cueto *et al.* (2004), quienes señalan que para proceder con el congelamiento se requiere que el semen tenga un valor de 3 o más, en el presente estudio el resultado fue de 4.48 en promedio. Mamani (2010) reportó 4.7 de motilidad masal resultado superior comparado con el resultado del presente estudio, Cabrera y Pantoja (2008) reportaron resultados parecidos de 4.3 contrastado con la del presente estudio. Mientras Guerrero *et al.* (2009) reportó resultados ligeramente inferior con 4.0 de motilidad masal Pérez, (2010). Los resultados arriba mostrados de los autores con el presente trabajo no muestra una diferencia significativa por lo que la medición de esta variable es subjetiva y el manejo de células vivas que son

extremadamente sensibles a influencias extremas que pueden destruirlas o perjudicar y alterar su motilidad (Zemjanis, 1990). Es decir la presencia y velocidad de tales ondas se utiliza como criterio adecuado de valoración, por otro lado la onda de movimiento sólo se puede observar en las especies que poseen una alta concentración espermática en el semen (Evans and Maxwell, 1990). Algunos autores sugieren la posibilidad de que la reducción de la motilidad esté justificada por la reducción de la actividad mitocondrial, que se traduce por un menor número de espermatozoides que mantienen mitocondrias funcionales, y también por una función mitocondrial alterada (O'Connel *et al.* 2002).

#### 4.2.3. MOTILIDAD INDIVIDUAL

CUADRO 6: MOTILIDAD INDIVIDUAL (%) DE LOS ESPERMATOZOIDES DE LOS CARNEROS CORRIEDALE SEGÚN GRUPOS DE MANEJO EN EL CIP-CHUQUIBAMBILLA.

CARNEROS (GRUPO)	<i>n</i>	PROM.	D.E.	CV(%)
EXPERIMENTAL	48	69.40 <sup>a</sup>	6.58	9.5
TESTIGO	48	66.54 <sup>b</sup>	6.33	9.5

En el cuadro 6, nos muestra que existe diferencia significativa en la motilidad individual del semen entre los carneros del experimental y testigo ( $P < 0.05$ ); lo cual nos indica afirmar que la suplementación de Vitaminas y Minerales influyen en el movimiento progresivo de los espermatozoides; presente dicho movimiento, normalmente se valora entre 0 y 5 puntos

aunque esta forma de valoración es subjetiva Evans y Maxwell, (1990). Basado en un gran número de eyaculados, se puede decir que la diferencia de movilidad de 50 a 80% no afecta la fertilidad del esperma si esta movilidad ocurre durante la inseminación. Las muestras que tienen una movilidad inicial menor de 40% no son adecuados, Bearden, (1982). Con frecuencia se evalúa el grado de movilidad de manera subjetiva, esto se puede hacer en términos de porcentaje de movilidad, pero tiene poco valor en lo que respecta a la evaluación de la calidad de semen (Bearden, 1982). Como se aprecia los resultados en cuanto a revisión son variados e indicamos que los resultados encontrados en el presente estudio están dentro de los rangos que mencionan los autores siendo en algunos casos superior y en otros inferiores, esto se puede deber a factores de manipulación, puesto que el proceso de colección de semen, dilución y de mantener caliente la platina del microscopio, hacen que exista estas diferencias de una a otra colección y manipulación, también hay diferencia entre repeticiones de semen colectado de un mismo carnero. Por lo general se considera que esta prueba proporciona los datos más importantes acerca de la calidad de del semen. Sin embargo, está sujeta a dos tipos de factores. Primero, es una prueba subjetiva, y segundo comprende el manejo de células vivas que son extremadamente sensibles a influencias extrínsecas, estas pueden destruir las células espermáticas o perjudicar y alterar su motilidad (Zemjanis, 1990).

#### 4.2.4. VITALIDAD ESPERMATICA

CUADRO 7: VITALIDAD ESPERMATICA (%) DE LOS CARNEROS CORRIEDALE SEGÚN GRUPOS DE MANEJO EN EL CIP-CHUQUIBAMBILLA.

CARNEROS (GRUPO)	<i>n</i>	PROM.	D.E.	CV(%).
EXPERIMENTAL	48	93.75 <sup>a</sup>	3.39	3.6
TESTIGO	48	91.06 <sup>b</sup>	4.37	4.8

El cuadro 7, evidencia que existe diferencia significativa en la vitalidad espermática entre los carneros del grupo experimental y del testigo ( $P < 0.05$ ); lo cual nos permite afirmar que la suplementación de vitaminas y minerales influyen en el número de espermatozoides vivos Bearden, (1982), indica que es usado estos resultados para estimar el porcentaje de espermatozoides vivos en una muestra como verificación de la motilidad. Mientras Perez, (2010) en la característica de la vitalidad espermática observó un 90.32% porcentaje superior comparado al reportado por Cabrera y Pantoja (2008) quienes obtuvieron 82.5%, Guerrero *et al.* (2009) reportaron 90.2% siendo resultados parecidos al del presente estudio; sin embargo es inferior contrastado con lo reportado por Mamani (2010) quien obtuvo 91.5%. Los datos obtenidos en el presente trabajo son superiores a los resultados de Perez, (2010); Cabrera y Pantoja (2008); %, Guerrero *et al.* (2009); Mamani (2010). Probablemente a que la suplementación de vitaminas y minerales permitió integrar mejor la membrana celular conservando la permeabilidad. Los estudios señalan que existe una correlación entre el valor de la

determinación de espermatozoides vivos y el grado de la motilidad y esta a su vez se relaciona a la fertilidad del semen; es decir cuanto mayor sea la cantidad de espermatozoides vivos mayor será la calidad del semen (Hanses, 1999).

#### 4.2.5. MORFOLOGIA ESPERMATICA

CUADRO 8: MORFOLOGIA ESPERMATICA (%) DE LOS CARNEROS CORRIEDALE SEGÚN GRUPOS DE MANEJO EN EL CIP-CHUQUIBAMBILLA.

CARNEROS (GRUPO)	<i>n</i>	PROM.	D.E.	CV(%)
EXPERIMENTAL	48	91.60	8.78	9.6
TESTIGO	48	91.63	6.10	6.7

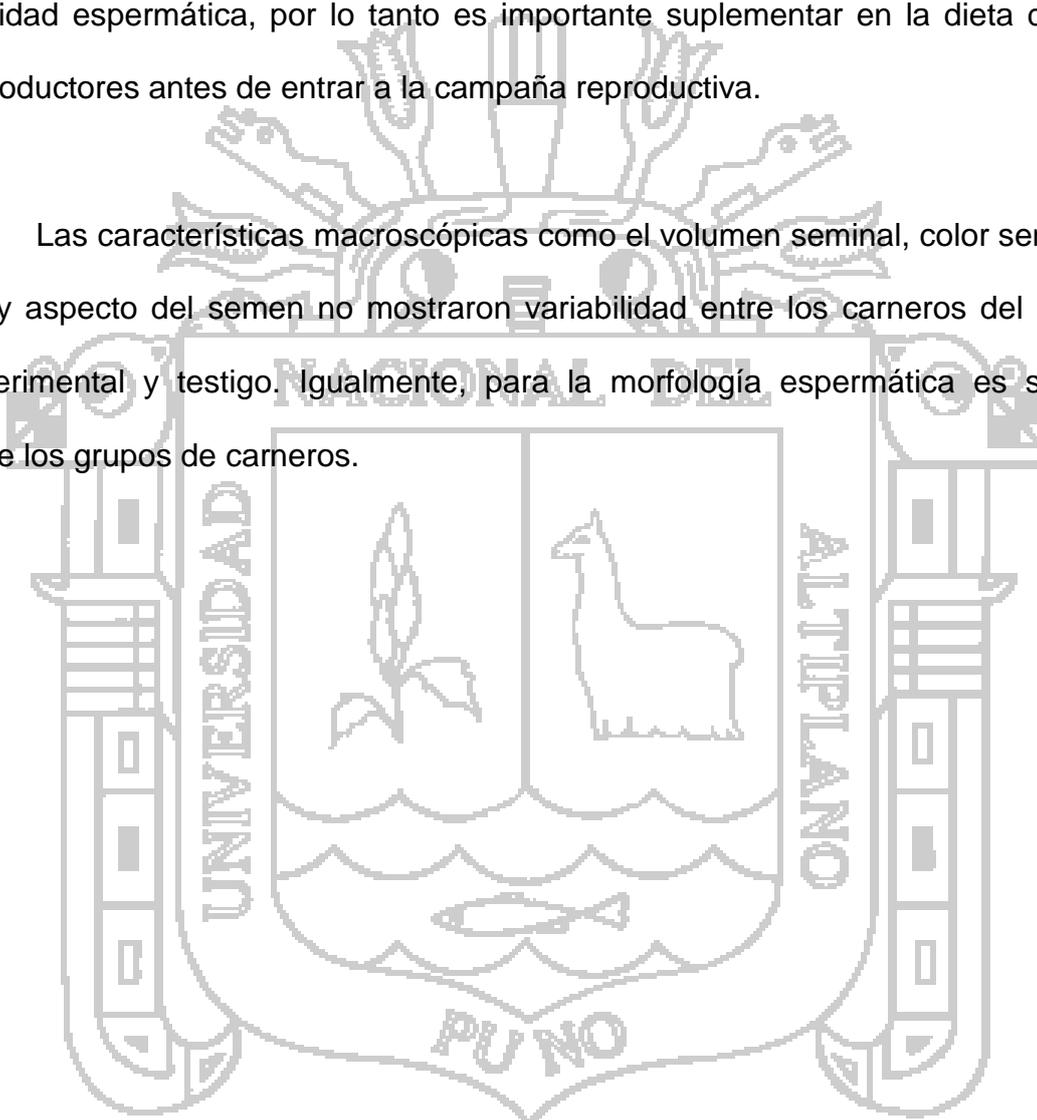
En el cuadro 8, se evidencia de que no existe diferencia significativa en cuanto a la variable morfología espermática de los carneros del grupo experimental y testigo ( $P \geq 0.05$ ); lo cual nos permite deducir que las vitaminas y minerales no influyen en la morfología de los espermatozoides. Los eyaculados pueden tener 5% de espermatozoides anormales, pero pueden llegar casi a 100%. La fertilidad no se ve afectada hasta que el número de espermatozoides anormales es mayor de 20 ó 25% donde a medida que el número de espermatozoides anormales aumente, el porcentaje de movilidad progresiva disminuirá Bearden, (1982). Cada eyaculado tiene una serie de espermatozoides anormales, pero si la proporción es alta, entonces nos encontramos ante un semen de baja

fertilidad, las muestras de semen que contengan más del 15% de espermatozoides anormales no se debe utilizar para inseminación artificial. El porcentaje de espermatozoides anormales varía con las estaciones, de forma que en la primavera es más elevada la cifra de anomalías, en tanto que el número se reduce a medida que se acerca la estación reproductiva (Hafez, 2000).



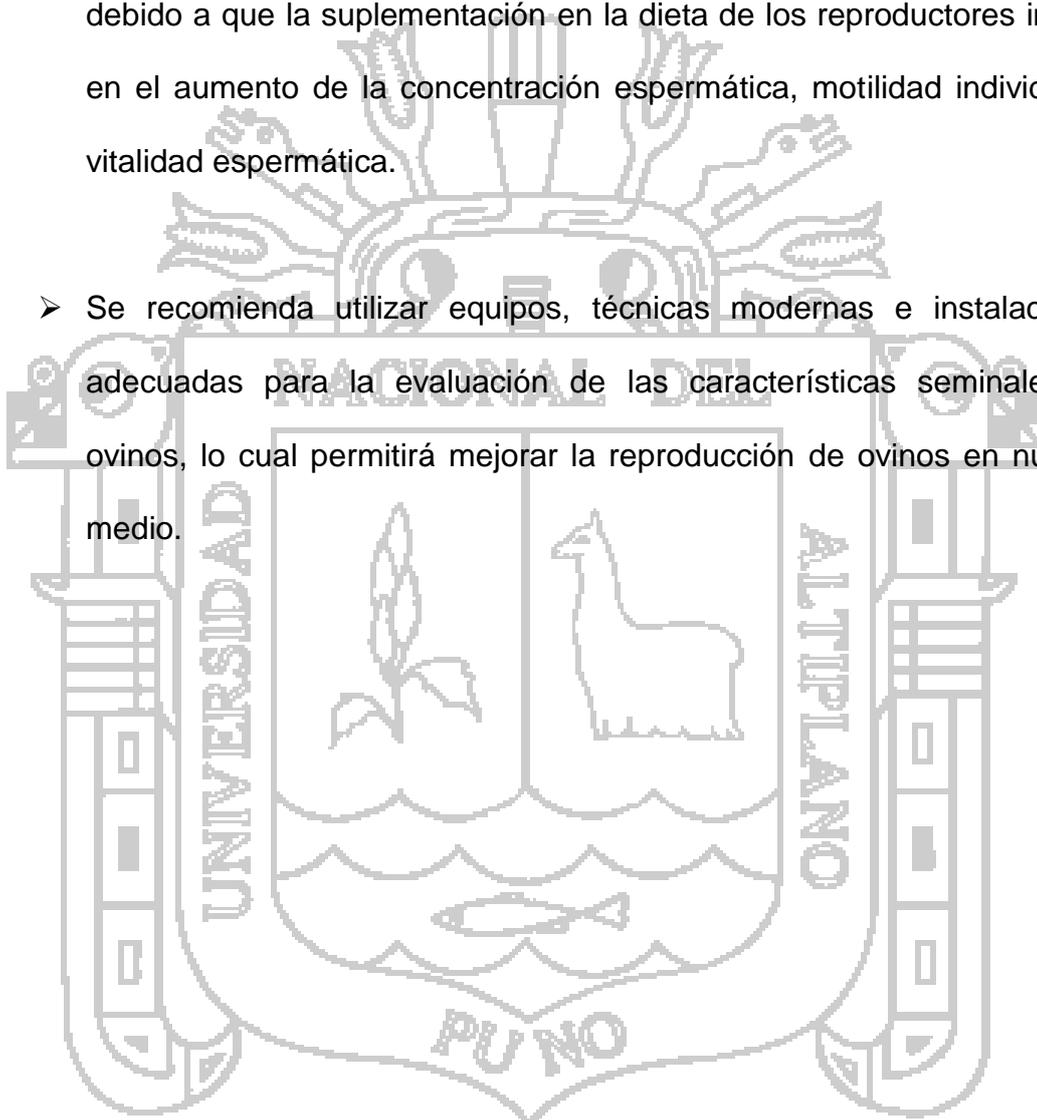
## V. CONCLUSIONES

- La aplicación de vitaminas y minerales (Hematec®) influye en el mejoramiento de las características seminales mostrando diferencias significativas entre carneros suplementados y el grupo testigo en concentración, motilidad y vitalidad espermática, por lo tanto es importante suplementar en la dieta de los reproductores antes de entrar a la campaña reproductiva.
- Las características macroscópicas como el volumen seminal, color seminal, pH y aspecto del semen no mostraron variabilidad entre los carneros del grupo experimental y testigo. Igualmente, para la morfología espermática es similar entre los grupos de carneros.



## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda el uso de vitaminas y minerales (Hematec®) en los carneros para las campañas de reproducción sean por monta natural, inseminación con semen fresco e inseminación con semen congelado; debido a que la suplementación en la dieta de los reproductores influye en el aumento de la concentración espermática, motilidad individual y vitalidad espermática.
- Se recomienda utilizar equipos, técnicas modernas e instalaciones adecuadas para la evaluación de las características seminales de ovinos, lo cual permitirá mejorar la reproducción de ovinos en nuestro medio.



## VII. BIBLIOGRAFÍA

Alencastre, R. Producción de ovinos. Puno-Perú. 1997.

Aliaga, Z. Producción de ovinos. Lima-Perú. Primera Edición. 2006.

Anel, E.; Álvarez, M.; Kaabi, M.; Boixo, J.C.1; Paz, P. y Anel, L. Influencia de la adición de algunos antibióticos en las características del semen descongelado de morueco. Reproducción Animal, Universidad de León, 24071, León, España. 1998.

Bernardo, L; Tapia, M. y Quispe, J. Suplementación de minerales y vitaminas en el engorde de carnerillos corriedale. IIBO., UNA-Puno, Volumen 5, Nº 1. 2000.

Bearden, J. y Fuquay, J. Reproducción animal aplicada. Editorial el Moderno, S.A. de C.V. México, D.F.-Santefé de Bogotá. 1982.

Bonadonna, T. Reproducción animal e inseminación artificial. Primera edición. Editorial Hemisferios sur S.A. Buenos Aires – Argentina. 1986.

Bombilla, G. Acción de las vitaminas A, D<sub>3</sub>,E, C. en fertilidad de borregas del altiplano y sus efectos en el peso de las crías al nacer. Tesis MVZ. UNA-PUNO. 1981.

Buxadé, C. Producción ovina. (Tomo VIII). Zootecnia bases de producción animal. Ediciones Mundi-Prensa. España. 1996.

Cabrera, P.; Pantoja, C. Influencia de los dilutores tris y ovine freezing sobre la integridad de la membrana citoplasmática durante la congelación de semen de ovinos en pajilla de 0.5 mL. *Rev Inv Vet Perú*. 2008.

Campana, V. Evaluación de semen de carneros corriedale de majada general del Centro experimental de Chuquibambilla. Tesis F.M.V.Z. CECH. UNA-Puno. 1982.

- Calle, R., Producción de Ovinos. Instituto de Sierra. 1<sup>ra</sup> Ed. Facultad de Zootecnia. FMVZ UNA-Puno. 1967.
- Castillo, A., Valores Normales del Semen Obtenidos por el Método de Electroeyaculación en Altura. Tesis FMV. UNMSM. Lima-Perú. 1965.
- Catena, M.; Cabodevila, J. Evaluación de semen bovino congelado. Trabajo presentado en el Simposio Internacional de Reproducción Bovina (UNCPBA), Tandil, 6 de agosto. 1999.
- [http://www.vet-uy.com/articulos/artic\\_bov/150/0127/bov127.htm](http://www.vet-uy.com/articulos/artic_bov/150/0127/bov127.htm)
- Clarence, M. Manual de Merck de Veterinaria. 4<sup>ta</sup> Edición. Ediciones océano S.A. COLOMBIA. 1993.
- Coronel, O. Manual para el manejo de ganado ovino. INICTEL-UNI. 2007.
- Cueto, M., Gibbons, A., Garcia, J. Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino. Grupo de Reproducción-INTA Bariloche. Patagonia. 1999.
- Cueto, M.; Gibbons, A.; Garcia, J.; Wolff, M.; Arrigo, J. Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino. Argentina Bariloche. Reproducción y genética. Instituto nacional de tecnología agropecuaria (INTA). 2004.
- Del Campo, A. Anatomía y fisiología de la reproducción e inseminación artificial en ovinos. Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L. URUGUAY. 1980.
- Derivaux, J. Reproducción de los animales domésticos. España: Editorial Acribia. 1982.
- Dominguez, V., Jaramillo E., Nava L. y González M. Cromo orgánico (Cr-L metionina) y calidad espermática de sementales ovinos. F.M.V.Z. "El Cerrillo".UAEM; MÉXICO. 2002.

- Duran, A. Anatomía, fisiología de la reproducción e inseminación artificial en ovinos. Editorial agropecuaria hemisferio sur S.R.L. Montevideo – Uruguay. 1968.
- Evans, G. y W. C. Maxwell. Salomon's artificial insemination in sheep and goats. Butterworths Pty Ltd. Sydney. 1987.
- Evans, G. y W. C. Maxwell. Salomon's Inseminación artificial de ovejas y cabras. Editorial Acribia, S. A. Zaragoza (España). 1990.
- Fattoorusso, V., Vademécum Clínico. Ed. "El Ateneo" S. A. Séptima Edición. Bogotá – Caracas. 1987.
- Fernández, H., López, A., Fernández, J. Nuevas tecnologías aplicadas al procesado y evaluación del semen bovino en centros de inseminación artificial. ITEA-AIDA. ISSN 1699-6887, Nº. 3, 2005, págs. 175-191. 2005.
- <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1271105>.
- Galina, C., A. Saliel y J. Valencia. Reproducción de los animales domésticos. 1<sup>ra</sup> Edición, Editorial Limusa Noriega Editores. MEXICO. D.F. 1988.
- Gallego, J. La Alimentación del Ganado. Madrid-España. Segunda Edición. 1986.
- Garner, D.L. y Hafez, E.S.E. Espermatozoides y plasma seminal, Capítulo 7, Reproducción e inseminación artificial en animales. Editorial interamericana McGraw Hill. México. 2000.
- Giuliano, F. and Pierre, C. Fisiología reproductivo del macho. Resultados preliminares. IV congreso mundial de camélidos sudamericanos. 2005.
- Gil, J.; Lundehein, N.; Soderquist, L.; Rodríguez, H. Influence of extender, temperature, and addition of glycerol on post-thaw sperm parameters in ram semen. *Theriogenology* 59: 2003.

- Guerrero, H.; Huanca, W.; Raymundo, F.; Huerta, S.; Ramos, D. Uso de dilutores hipertónicos en la criopreservación de semen ovino. *Rev Inv Vet Perú*. 2010.
- Guevara, H. Efecto de suero fetal en la sobrevivencia espermática a la descongelación y porcentaje de gestación en borregas inseminadas. Tesis pre grado, FMVZ.-UNA-PUNO. 1995.
- Guyton, A., Tratado de Fisiología Médica. Editorial Interamericana. McGRAW-Hill. 9vo Edición-México. 1998.
- Hafez, E.S.E. Reproducción e inseminación artificial en animales. Séptima Edición. Editorial Interamericana S.A. México. 2000.
- Illera, M., Reproducción en los Animales Domésticos. 1<sup>ra</sup> Ed. Editorial AEDOS S.A. Barcelona-España. 1994.
- Johan. H. Manuales para educación agropecuaria ovinos área producción animal. 2da edición. Editorial trillas. 1982.
- Juergenson, E. Prácticas aprobadas en la explotación del ganado lanar. Editorial Continental, S.A. Segunda Reimpresión. México-España. 1967.
- Leboulanger, J. Las vitaminas. Editorial el Roche. p. 38-40,66,160,175. 1987.
- Mamani, D. Efecto del uso de dos crioprotectores y tipo de envase sobre la motilidad e integridad de membrana del espermatozoide de carneros. Tesis para optar el título de MVZ. UNA-PUNO. 2010.
- Manco, Y.; Leyva, V.; Camacho, J. y Cueva, S. Efecto de la temperatura escrotal sobre el comportamiento sexual y la calidad de semen de ovinos pelibuey y merino precoz alemán. Departamento de Producción Animal - FMV – UNMSM. 2000.

[www.ovinos.info/090%20Articulos%20tecnicos/EFECTO%20DE%20LA%20TEMPERATURA%20ESCROTAL.htm](http://www.ovinos.info/090%20Articulos%20tecnicos/EFECTO%20DE%20LA%20TEMPERATURA%20ESCROTAL.htm)

- Mann, T., The Biochemistry of Semen and of the male reproductive tract. Methuen, London. 1964.
- Marco-Jiménez, F.; Puchades, S.; Gadea, J.; Vicente, J.; Viudes-de-Castro, M. Efect of semen collection method on pre- and post-thaw Guirra ram spermatozoa. *Theriogenology*. 64: 1756-1765. 2005.
- Mc Corkle, Constante N. INIAA. Mejoramiento de la producción andina de ovinos y alpacas. Programa colaborativo de apoyo a la investigación en rumiantes menores. 1990.
- Mc Donald, L. Reproducción y endocrinología veterinaria. Segunda Edición. Editorial. Acribia. Zaragoza – España. 1981.
- Mc Donald, L. Reproducción y endocrinología veterinaria. Editorial. Acribia. Zaragoza – España. 2002.
- Merck y Co., Rahway, N. J. El manual de Merck de Veterinaria. U.S.A. Segunda Edición. 1981.
- Milicevic, F. Como optimizar la performance de los carneros. AER Río Gallegos INTA EEA Santa Cruz. 1992.
- Mylne, M.; Hunton, J.; Buckrell, B. Ovine Theriogenology. Citado por Youngquist, R. 1997. Current therapy in large animal theriogenology. United states of América. Saunder company. p. 569-650. 1997.
- Moreno, M., Sincronización de celo e inseminación artificial con semen fresco diluido en ganado caprino raza Anglo Nubian. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga- 1987.
- Morrison, F. Compendio de alimentación del ganado. Unión tipográfica Editorial. Hispano-Americano. México. 1977.

- O'connell, M., McClure, N., Lewis, S., The Effects of crypreservation on sperm morphology, motility and mitochondrial fuction. Hum Reprod 17:704-709. 2002.
- Ortavant, R., Courot, M. and Hochereau de Reviere, M.T., Espermatogenesis en los animales domésticos, Capitulo 8. Reproducción de los animales domésticos. Editorial Acribia Zaragoza. España. 1984.
- Pérez, G. Alencastre, R., Rojas, R., Congelación de Semen de Carnero Corriedale e Inseminación Artificial. Resúmenes de la X Reunión Científica Anual. APPA. Puno-Perú- 1987.
- Perez, H., Evaluación del efecto de tres temperaturas de congelación en pajillas de semen de carnero en la viabilidad espermática. CIP-CHUQUIBAMBILLA-LA MOLINA-LIMA. 2010.
- Quispe, T. Revista del instituto de investigación de bovinos y ovinos (IIBO) vol. 5 (2). Puno-Perú. 2000.
- Quispe, F. Copias de cátedra inseminación artificial en ovinos y biotecnología de la reproducción, FMVZ-UNA-PUNO. 2003.
- Russell, L., Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales. Cuarta edición. Florida, E.E.U.U. University of Florida Ifas. p. 12-40. 2005.
- Santos, A., Manual de Inseminación Artificial en Ovinos. Separata. UNA-Puno-Perú. 1975.
- Setchell, B.P. Órganos reproductores masculinos y semen, capítulo 9. Reproducción de los animales domésticos, Editorial Acribia Zaragoza. España. 1984.
- Smidt, D., Endocrinología y Fisiología de la Reproducción en los animales Zootécnicos. 3<sup>ra</sup> Ed. Editorial Acribia Zaragoza-España.1992.

Sonco, J. Doble Inseminación Artificial y su Efecto Sobre la Natalidad en Borregas Corriedale Primerizas del Centro Experimental Chuquibambilla. Tesis F.M.V.Z. UNA-Puno. 1992.

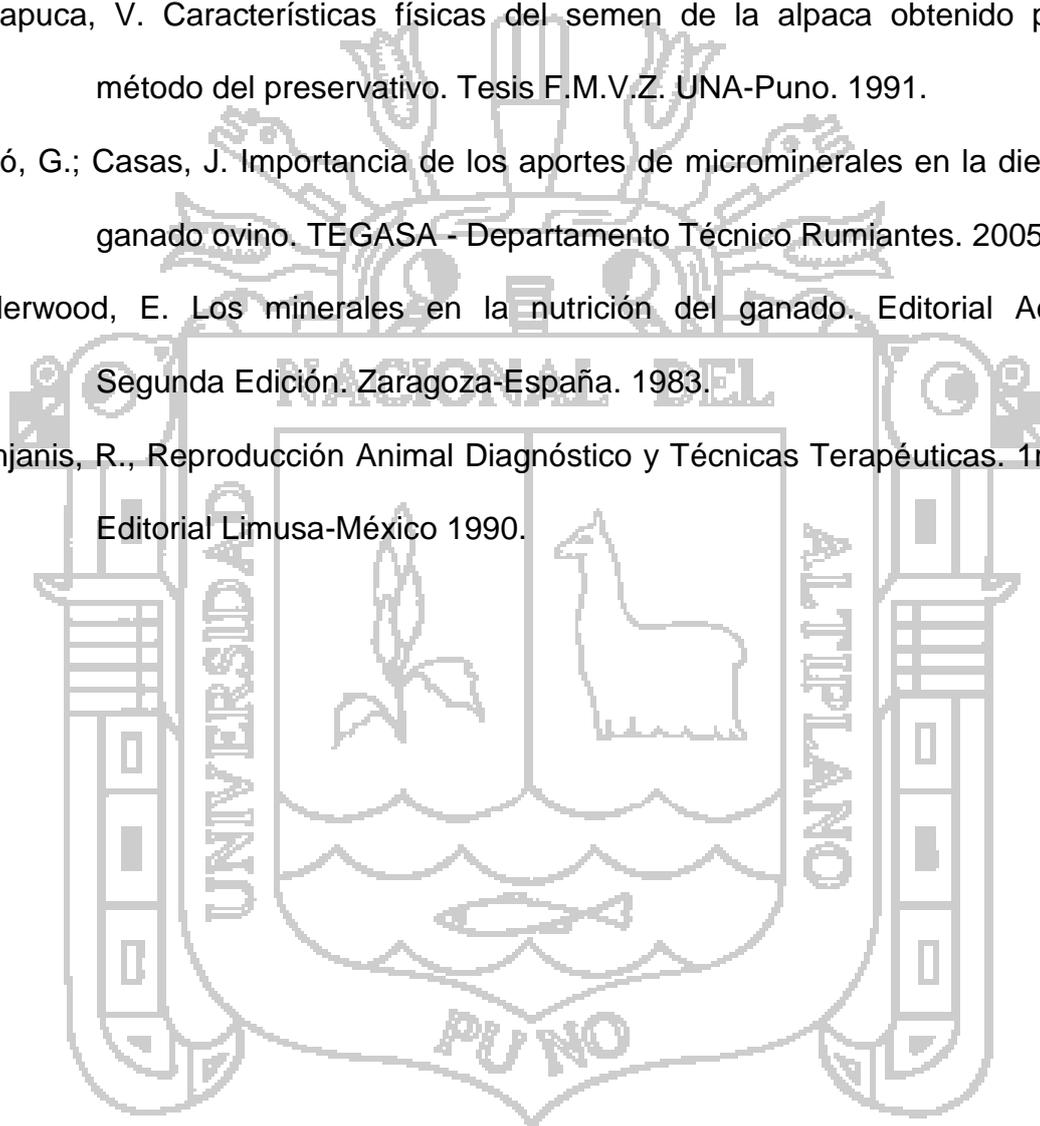
Sorensen, A.M. Reproducción animal principios y prácticas. Primera Edición. México. 1982.

Sucapuca, V. Características físicas del semen de la alpaca obtenido por el método del preservativo. Tesis F.M.V.Z. UNA-Puno. 1991.

Tedó, G.; Casas, J. Importancia de los aportes de microminerales en la dieta del ganado ovino. TEGASA - Departamento Técnico Rumiantes. 2005.

Underwood, E. Los minerales en la nutrición del ganado. Editorial Acribia. Segunda Edición. Zaragoza-España. 1983.

Zemjanis, R., Reproducción Animal Diagnóstico y Técnicas Terapéuticas. 1ra Ed. Editorial Limusa-México 1990.





## VIII. ANEXO

## CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS

CUADRO 1: ANVA PARA VOLUMEN SEMINAL (mL) DE LOS CARNEROS SUPLEMENTADOS CON VITAMINAS Y MINERALES EN EL CIP-CH.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.	Ft.
TRATAMIENTO	1	0.076	0.076	1.54	3.95
ERROR EXPER.	94	4.633	0.049		
TOTAL	95	4.709			

CUADRO 2: PRUEBA DE CHI-CUADRADO PARA COLOR SEMINAL DE LOS CARNEROS SUPLEMENTADOS CON VITAMINAS Y MINERALES EN EL CIP-CH.

Tratamiento	Grupo Experimental		Grupo Testigo		Total
	O <sub>i</sub>	E <sub>i</sub>	O <sub>i</sub>	E <sub>i</sub>	
Blanco lechoso	11	17	23	17	34
Cremoso	5	2.5	0	2.5	5
Crema pálido	32	28.5	25	28.5	57
Total	48	48	48	48	96

$$X^2_c = 10.09$$

Chi cuadrado tabular 0.05, 2 = 5.99

Chi cuadrado tabular 0.01, 2 = 9.21

CUADRO 3: ANVA PARA PH SEMINAL DE LOS CARNEROS SUPLEMENTADOS CON VITAMINAS Y MINERALES EN EL CIP-CH.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	FC.	FT.
TRATAMIENTO	1	0.082	0.0817	1.70	3.95
ERROR EXPER.	94	4.518	0.048		
TOTAL	95	4.599			

## CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS

CUADRO 4: ANVA PARA CONCENTRACIÓN ESPERMATICA (Número) DE LOS CARNEROS SUPLEMENTADOS CON VITAMINAS Y MINERALES EN EL CIP-CH.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	FC.	FT.
TRATAMIENTO	1	287109.375	287109.375	51.03	3.95
ERROR EXPER.	94	528843.958	5625.999		
TOTAL	95	815953.333			

CUADRO 5: ANVA PARA MOTILIDAD MASAL (%) DE LOS CARNEROS SUPLEMENTADOS CON VITAMINAS Y MINERALES EN EL CIP-CH.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	FC.	FT.
TRATAMIENTO	1	0.667	0.667	2.54	3.95
ERROR EXPER.	94	24.667	0.262		
TOTAL	95	25.333			

CUADRO 6: ANVA PARA MOTILIDAD INDIVIDUAL (%) DEL SEMEN DE LOS CARNEROS SUPLEMENTADOS CON VITAMINAS Y MINERALES EN EL CIP-CH.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	FC.	FT.
TRATAMIENTO	1	195.514	195.510	4.69	3.95
ERROR EXPER.	94	3921.396	41.71717		
TOTAL	95	4116.906			

CUADRO 7: ANVA PARA VITALIDAD SEMINAL (%) DE LOS CARNEROS SUPLEMENTADOS CON VITAMINAS Y MINERALES EN EL CIP-CH.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	FC.	FT.
TRATAMIENTO	1	173.344	173.344	11.35	3.95
ERROR EXPER.	94	1435.812	15.275		
TOTAL	95	1609.156			

CUADRO 8: ANVA PARA MORFOLOGÍA SEMINAL (%) DE LOS CARNEROS SUPLEMENTADOS CON VITAMINAS Y MINERALES EN EL CIP-CH.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	FC.	FT.
TRATAMIENTO	1	0.010	0.010	0.00	3.95
ERROR EXPER.	94	5372.729	57.157		
TOTAL	95	5372.739			

EVALUACION DE CARNEROS TESTIGO									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Nº 14</b>	19/04/2008	05/05/2008	16/05/2008	24/05/2008	30/05/2008	04/06/2008	19/06/2008	09/07/2008	13/07/2008
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
Volumen mL	0.9	1.0	0.8	1.0	1.0	0.9	0.5	0.8	
Color	Blanco lechoso	Blanco lechoso	Blanco lechoso	Crema palido	Crema palido	Crema palido	Crema palido	Blanco lechoso	
pH	6.6	6.8	6.5	6.6	6.7	6.7	6.5	6.7	
Motilidad Masal	5	4	4	4	4	5	5	5	
Motilidad Individual	64	67	58	63	71	72	67	64	
Morfología %	87	94	93	95	95	94	93	94	
Vitalidad %	95	91	94	93	91	95	93	93	
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	594	576	555	581	635	615	589	549	
Observaciones									
<b>Nº 18</b>	19/04/2008	05/05/2008	16/05/2008	24/05/2008	30/05/2008	04/06/2008	19/06/2008	09/07/2008	13/07/2008
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
Volumen mL	1.0	1.2	1.0	1.0	9.0	1.0	1.1	1.0	
Color	Crema palido	Blanco lechoso	Crema palido	Crema palido	Crema palido	Crema palido	Blanco lechoso	Blanco lechoso	
pH	6.5	6.6	6.6	6.5	6.4	6.7	6.7	6.8	
Motilidad Masal	5	4	5	5	5	4	3	4	
Motilidad Individual	67	92	79	64	75	70	59	70	
Morfología %	91	89	94	91	82	93	94	91	
Vitalidad %	96	93	91	94	94	93	85	94	
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	627	565	610	563	593	605	618	583	
Observaciones									
<b>Nº 32</b>	19/04/2008	05/05/2008	16/05/2008	24/05/2008	30/05/2008	04/06/2008	19/06/2008	09/07/2008	13/07/2008
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
Volumen mL	1.3	1.4	1.4	1.2	1.6	1.3	1.0	1.1	
Color	Crema palida	Blanco lechoso	Crema palido	Crema palido					
pH	6.6	6.8	6.7	6.6	6.9	6.7	6.4	6.3	
Motilidad Masal	4	4	5	5	5	5	5	4	
Motilidad Individual	59	70	68	69	69	78	73	76	
Morfología %	55	91	87	85	94	91	92	93	
Vitalidad %	86	89	82	91	94	97	95	88	
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	571	558	595	513	480	465	507	500	
Observaciones									
<b>Nº 52</b>	19/04/2008	05/05/2008	16/05/2008	24/05/2008	30/05/2008	04/06/2008	19/06/2008	09/07/2008	13/07/2008
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
Volumen mL	1.3	1.2	1.3	1.2	1.5	1.4	1.5	1.5	
Color	Blanco lechoso	Crema palido	Blanco lechoso						
pH	6.7	6.6	6.6	6.7	7.0	6.7	6.6	6.8	
Motilidad Masal	4	4	4	4	4	4	5	4	
Motilidad Individual	65	63	61	63	65	61	62	60	
Morfología %	90	89	93	92	91	95	96	94	
Vitalidad %	86	89	82	90	85	87	81	83	
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	492	514	548	520	468	489	559	422	
Observaciones									
<b>Nº 54</b>	19/04/2008	05/05/2008	16/05/2008	24/05/2008	30/05/2008	04/06/2008	19/06/2008	09/07/2008	13/07/2008
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
Volumen mL	0.9	1.0	1.2	1.1	1.0	1.0	0.9	1.0	
Color	Crema palido	Blanco lechoso							
pH	6.5	6.6	6.4	6.5	6.6	6.6	6.6	6.7	
Motilidad Masal	5	5	4	5	5	4	4	5	
Motilidad Individual	62	60	70	65	71	67	63	69	
Morfología %	94	95	96	92	93	96	94	94	
Vitalidad %	95	94	91	94	96	91	92	94	
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	623	651	620	618	536	531	539	478	
Observaciones									
<b>Nº 70</b>	19/04/2008	05/05/2008	16/05/2008	24/05/2008	30/05/2008	04/06/2008	19/06/2008	09/07/2008	13/07/2008
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	
Volumen mL	0.9	0.8	1.0	1.0	1.1	0.8	0.7	0.6	
Color	Crema palidos	Crema palido	Blanco lechoso	Crema palido	Blanco lechoso	Blanco lechoso	Crema palido	Crema palido	
pH	6.6	6.7	6.6	6.6	6.7	6.7	6.9	6.6	
Motilidad Masal	5	5	4	5	4	5	5	5	
Motilidad Individual	63	65	59	61	67	65	62	61	
Morfología %	92	92	95	94	95	93	91	94	
Vitalidad %	95	93	80	94	91	94	93	94	
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	627	532	500	534	561	545	533	600	
Observaciones									

EVALUACION DE CARNEROS TRATAMIENTO									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>N° 02</b>	<b>16/04/2008</b>	<b>02/05/2008</b>	<b>09/05/2008</b>	<b>22/05/2008</b>	<b>26/05/2008</b>	<b>01/06/2008</b>	<b>10/06/2008</b>	<b>17/06/2008</b>	<b>27/06/2008</b>
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Volumen mL	1.0		1.0	1.2	1.3	1.2	1.1	1.0	1.1
Color	Blanco lechoso		Crema pálido	Crema palido	Blanco lechoso	Crema palido	Blanco lechoso	Crema palido	Crema
pH	6.6		6.4	6.7	6.6	6.8	6.3	6.7	6.7
Motilidad Masal	5		5	5	5	5	5	5	5
Motilidad Individual	70		69	65	67	76	73	77	78
Morfología %	92		95	97	96	96	95	96	96
Vitalidad %	91		94	94	96	95	95	95	96
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	597		630	685	745	703	737	391	758
Observaciones									
<b>N° 04</b>	<b>16/04/2008</b>	<b>02/05/2008</b>	<b>09/05/2008</b>	<b>22/05/2008</b>	<b>26/05/2008</b>	<b>01/06/2008</b>	<b>10/06/2008</b>	<b>17/06/2008</b>	<b>27/06/2008</b>
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Volumen mL	1.0	0.8	1.3	1.3	1.3	0.8	1.1	1.2	1.0
Color	Crema palido	Crema palido	Crema palido	Crema palido	Blanco lechoso	Crema palido	Crema	Crema	Crema
pH	6.6	6.7	6.6	6.8	6.7	6.7	6.7	5.6	6.7
Motilidad Masal	4	5	5	5	5	5	5	5	5
Motilidad Individual	61	72	71	70	62	76	77	78	82
Morfología %	89	93	91	90	64	93	93	94	94
Vitalidad %	86	95	94	95	97	96	95	95	96
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	615	562	704	711	721	721	713	916	909
Observaciones									
<b>N° 10</b>	<b>16/04/2008</b>	<b>02/05/2008</b>	<b>09/05/2008</b>	<b>22/05/2008</b>	<b>26/05/2008</b>	<b>01/06/2008</b>	<b>10/06/2008</b>	<b>17/06/2008</b>	<b>27/06/2008</b>
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Volumen mL	1.1	1.2	0.8	1.0	0.5				
Color	Blanco lechoso	Crema palido	Crema palido	Crema palido	Blanco lechoso				
pH	6.7	6.7	6.5	6.6	6.6				
Motilidad Masal	4	4	4	4	4				
Motilidad Individual	58	61	63	62	63				
Morfología %	45	83	86	80	85				
Vitalidad %	81	90	85	87	86				
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	562	615	693	542	508				
Observaciones						sin libido	sin libido	sin libido	Sin libido
<b>N° 50</b>	<b>16/04/2008</b>	<b>02/05/2008</b>	<b>09/05/2008</b>	<b>22/05/2008</b>	<b>26/05/2008</b>	<b>01/06/2008</b>	<b>10/06/2008</b>	<b>17/06/2008</b>	<b>27/06/2008</b>
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Volumen mL	0.9	1.0	1.2	1.3	1.2	1.3	0.9	1.0	1.1
Color	Crema palido	Crema palido	Crema palido	Blanco lechoso	Crema palido	Crema palido	Blanco lechoso	Crema palido	Crema palido
pH	7.0	6.9	6.8	7.1	6.9	7.0	6.7	7.2	7.0
Motilidad Masal	4	4	4	5	5	5	5	5	5
Motilidad Individual	59	68	54	70	71	72	65	79	80
Morfología %	94	96	95	95	96	94	96	96	95
Vitalidad %	96	94	95	93	97	94	96	95	97
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	601	601	620	598	625	564	632	696	726
Observaciones									
<b>N° 56</b>	<b>16/04/2008</b>	<b>02/05/2008</b>	<b>09/05/2008</b>	<b>22/05/2008</b>	<b>26/05/2008</b>	<b>01/06/2008</b>	<b>10/06/2008</b>	<b>17/06/2008</b>	<b>27/06/2008</b>
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Volumen mL	1.0	1.1	1.0	1.0	1.1	1.0	1.3	1.2	1.1
Color	Crema palido	Blanco lechoso	Crema palido	Crema	Crema palido				
pH	6.6	6.7	6.7	6.5	6.7	6.6	6.6	6.5	6.7
Motilidad Masal	4	5	5	4	4	4	5	4	5
Motilidad Individual	63	61	68	67	62	68	71	69	68
Morfología %	93	96	94	96	93	95	96	92	94
Vitalidad %	92	95	95	93	94	95	96	94	95
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	650	597	710	698	713	613	719	739	760
Observaciones									
<b>N° 68</b>	<b>16/04/2008</b>	<b>02/05/2008</b>	<b>09/05/2008</b>	<b>22/05/2008</b>	<b>26/05/2008</b>	<b>01/06/2008</b>	<b>10/06/2008</b>	<b>17/06/2008</b>	<b>27/06/2008</b>
Edad	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Volumen mL	1.2		1.1	1.4	1.4	1.3	1.5	1.6	1.5
Color	Crema palido		Blanco lechoso	Crema palido	Blanco lechoso	Crema palido	Crema palido	Crema palido	Crema palido
pH	6.9		7.0	7.1	6.8	6.8	6.7	6.6	7.0
Motilidad Masal	5		4	5	4	5	5	5	5
Motilidad Individual	71		68	72	67	74	75	78	80
Morfología %	93		92	92	93	93	94	95	96
Vitalidad %	95		93	95	96	96	94	95	96
Concentración x 10 <sup>6</sup> /mL	584		547	690	700	670	710	701	735
Observaciones									