



RECIENA

Revista Científica Agropecuaria

VALORACIÓN DEL CONTENIDO SEMINAL DE DOS RAZAS OVINAS TROPICALES Y DOS TIPOS DE DILUYENTES PARA SU CRIOCONSERVACIÓN

Artículo Original

ASSESSMENT OF THE SEMINAL CONTENT OF TWO TROPICAL SHEEP BREEDS AND TWO TYPES OF EXTENDERS FOR CRYOCONSERVATION

Chunata, Shyrley Vanessa ¹*; Díaz, Hermenegildo ²; Hernández, Edgar Washington ²

Recibido: 16/02/2022 · Aceptado: 22/03/2022

RESUMEN

En la EE Pastaza de la ESPOCH se valoró el contenido seminal de dos razas ovinas tropicales y dos tipos de diluyentes para su crioconservación. Se utilizaron dos machos adultos con una edad promedio de 31 meses y un peso aproximado de 73 kg. Las características seminales se evaluaron en dos momentos, antes y después de la crioconservación. En el primer momento se utilizó estadística descriptiva en las variables cualitativas y la prueba t de student para variables cuantitativas. En el segundo momento se aplicó un DCA con arreglo combinatorio, en donde el Factor A corresponde a la raza (A1: Pelibuey y A2: Black Belly) y el Factor B a los diluyentes (B1: Andromed y B2: One step). En el primer momento los resultados mostraron diferencias estadísticas significativas ($P > 0,05$) en el volumen. En el segundo momento se presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la motilidad individual. Se concluyó que las características macroscópicas y microscópicas en semen fresco son las apropiadas, además que el contenido seminal del macho A2 es más resistente a la crioconservación. Se recomienda establecer protocolos y métodos de congelación adecuados para la especie.

Palabras clave: Semen, ovino, tropical, crioconservación.

RESUMEN

In ESPOCH's EE Pastaza the seminal content of two tropical sheep breeds and two types of diluents was evaluated for cryopreservation. Two adult males with an average age of 31 months and an approximate weight of 73 kg were used. The seminal characteristics were evaluated at two moments, before and after cryopreservation. In the first moment, descriptive statistics were used in the qualitative variables and the student's t test for quantitative variables. In the second moment, a DCA with a combinatorial arrangement was applied, where Factor A corresponds to the breed (A1: Pelibuey and A2: Black Belly) and Factor B to the diluents (B1: Andromed and B2: One step). At the first moment, the results showed significant statistical differences ($P > 0.05$) in volume. In the second moment there were significant differences ($P < 0.05$) in individual motility. It was concluded that the macroscopic and microscopic characteristics in fresh semen are appropriate, in addition that the seminal content of the A2 male is more resistant to cryopreservation. It is recommended to establish protocols and freezing methods suitable for the species.

Palabras clave: Semen, sheep, tropical, cryoconservation.

¹ Investigadora independiente.

² Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba EC060150, Ecuador
Correspondencia: shirley-95-vanne@outlook.com
ORCID: 0000-0003-0671-1463

1. INTRODUCCIÓN

La población nacional de ovinos es aproximadamente de 356,000 cabezas (INEC, 2018) compuesto por el 95,78% en la región Sierra, 3,73% en la región Costa y el 0,45% en región Amazónica, cabe destacar el descenso que está sufriendo la producción ovina en la región Amazónica, según Censo Nacional Agropecuario en el año 2000 existía 8,334 cabezas, en la actualidad según (INEC, 2018) se registran datos de 1,598 cabezas. Como alternativa los ovinos por sus características innatas como la adaptabilidad, rusticidad y sobriedad son capaces de producir a pesar de estar expuestos a condiciones deplorables, por lo cual, la producción ovina podría ser una de las soluciones al incremento de la demanda de productos y subproductos producidos por esta especie.

En los últimos años la producción ovina ha venido dando un giro de desarrollo en el ámbito nutritivo y sanitario obviándose de uno de los pilares fundamentales que es la reproducción animal, ya sea esto por la poca o nula introducción de técnicas reproductivas aplicadas en esta especie que dificultan el incrementar y potencializar esta producción ganadera. Existe un desconocimiento del uso y aplicación de biotecnologías reproductivas en esta especie, la cual ha decrecido circunstancialmente debido al bajo aporte genético, trayendo como consecuencia la pérdida de recursos zoo genéticos, es por ello que los productores se ven obligados a diseñar estrategias de manejo destinadas a su mejoramiento genético.

Por tal razón, la aplicación de nuevas biotecnologías reproductivas como son la Inseminación Artificial (IA), favorece de sobremana el accionar diario del pequeño productor, más aún cuando se trata de incrementar la productividad, la aplicación de esta biotecnología tiene como propósito el ayudar a reducir costos de producción con la finalidad de obtener productos de calidad, incrementar el valor genético de los animales y así incrementar los ingresos económicos en los hogares para mejorar la calidad de vida de la población.

Con relación a lo expuesto, es necesario el aporte constante de investigaciones en el ámbito reproductivo de la especie, ya que las mismas no presentan mayor desarrollo en comparación con otras especies de abasto, por lo que la inclusión de técnicas como conservación del material genético, tiene como finalidad mantener en congelación el contenido seminal de los mejores reproductores de cada raza o propósito zootécnico, por uno, dos o muchos años, dándole así un gran paso al desarrollo genético ovino en el Ecuador.

El presente estudio buscó valorar el contenido seminal de dos razas de ovinos tropicales, así como evaluar dos tipos de diluyentes comerciales para su crioconservación. Además, se planteó determinar si la raza influye en la calidad seminal y es más propensa a resistir la congelación, para ello se realizaron evaluaciones pre y post congelación con la finalidad de identificar y comparar las variables planteadas para el estudio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo experimental se desarrolló en la Estación Experimental Pastaza perteneciente a la Escuela Superior

Politécnica de Chimborazo- Facultad de Ciencias Pecuarias; ubicada en el kilómetro 32 vía al Puyo- Macas, Parroquia Simón Bolívar. Las evaluaciones post congelación se realizaron en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH; este duró 90 días.

Las características del semen se evaluaron en dos momentos, antes y después del proceso de crioconservación. Las técnicas estadísticas usadas en semen fresco fueron las de estadística descriptiva para las variables cualitativas y t de student para las variables cuantitativas. En las variables del semen post congelación se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo combinatorio, en donde el Factor A es la raza (A1: Pelibuey y A2: Black Belly) y el Factor B los diluyentes (B1: Andromed y B2: One step) y la interacción (A1B1: Pelibuey - Andromed; A1B2: Pelibuey - One step; A2B1: Black Belly - Andromed y A2B2: Black Belly - One step), donde el tamaño de la Unidad Experimental fue de una extracción, es decir, se trabajó con 4 repeticiones por tratamiento, dándonos un total de 16 unidades experimentales.

Mediciones experimentales

En el presente estudio se realizaron las siguientes mediciones experimentales correspondientes a cada uno de los momentos (pre y post congelación):

- Semen fresco: Color, olor, pH, motilidad masal, (%), motilidad individual, (pts), concentración espermática, (spz/ml), células vivas-muertas, (%), morfología, (%)

- Semen post congelación: Motilidad masal (%), motilidad individual (puntos), viabilidad espermática (%).

Metodología

Selección de los reproductores

Para la selección de los reproductores se realizó una evaluación de la condición corporal y circunferencia escrotal.

La condición corporal se evaluó de forma subjetiva, observando fenotípicamente, de pie: vista de frente, vista de perfil (columna vertebral, línea ventral), vista de atrás y vista de arriba; y observación sentado: revisión de la cabeza, revisión del aparato reproductor (Peña, 2018).

La circunferencia escrotal se midió utilizando una cinta métrica.

Extracción de semen

La extracción de semen se realizó utilizando un electroeyaculador de marca ElectroJac modelo ElectroJac III, el cual presenta una regulación de voltaje automática en pulsos que van desde los 8 hasta los 20 voltios.

Evaluación del semen fresco

Los parámetros de evaluación macroscópica del semen se evaluaron con las recomendaciones de (Gómez, 2013) en donde se sugiere:

Volumen: Se observa directamente sobre el tubo graduado. El volumen puede variar entre 1.5 y 3 ml.

Color: Se consideran normales los colores que van del blanco al amarillento al blanco crema, siendo patológicos los colores rosado, amarronado y verdoso.

pH: Se evalúa extrayendo una gota de semen del tubo y colocándola sobre una tira indicadora de pH. Se considera un pH normal, entre 6.2 y 6.8. No se deberá introducir la tira dentro del tubo para no alterar el semen con el reactivo de la misma.

Olor: El olor del semen se evalúa al momento de ser extraído, percibiéndolo directamente del tubo de recolección. Se estima un olor neutro (no desagradable) como un valor normal, y se descartan las muestras que presenten olores desagradables o a orina.

Los parámetros de evaluación microscópica del semen se evaluaron utilizando un microscopio binocular marca Boeco modelo BM-120 y una platina térmica para microscopio marca GredMed modelo 4503000 regulada a una temperatura de 37oC. Además, se usó una micropipeta marca Oxford Lab Products modelo A18195561.

Motilidad masal, (%): Se tomó 10 µl de muestra de semen fresco y se evaluó al microscopio (lente 10x), observando ondas de movimiento de los espermatozoides que aprecian el porcentaje de espermatozoides móviles bajo la referencia de la Tabla 1.

Tabla 1. Valoración de motilidad masal de semen fresco.

Calidad	Movimiento	Porcentaje
Muy Bueno	Movimiento masivo muy marcado y rápido.	70-100
Bueno	Movimiento aparente pero moderado	50-69
Suficiente	Ondas apenas apreciables	30-49
Pobre	No muestra ondas	Menor de 30

(Angelino, J. 2009 citado por Barragán, I. 2017).

Motilidad individual, (pts): Se tomó 10µl de muestra del semen fresco y se evaluó al microscopio (lente 40x), en esta evaluación se visualizó la velocidad progresiva de desplazamiento hacia delante de los espermatozoides vivos, teniendo una calificación como mínimo 0, y como máximo 5 puntos como se muestra en la Tabla 2.

Concentración espermática, (spz/ml): Se utilizó el método de conteo en la cámara de Neubauer en donde realizó una dilución 1:400 correspondiente a 2,5µl de semen en 2ml de agua bidestilada, posteriormente se enfocó en el microscopio con un aumento de 10x y se realizó el conteo de espermatozoides en 5 cuadros para posteriormente calcular la concentración espermática mediante la aplicación de la siguiente fórmula:

$$CE = \text{Espermatozoides contados en 5 cuadros} \cdot 5 \cdot 10 \cdot 1000 \cdot 400 \quad [1]$$

En donde se considera a la suma de los espermatozoides contados en los 5 cuadros, multiplicados por 5 correspondiente al valor de cuadros contabilizados, multiplicado por 10 correspondiente a la altura que posee la cámara, multiplicado

Tabla 2. Escala de medición subjetiva de la motilidad individual progresiva.

Calificación	Característica
0	Los espermatozoides no se mueven
1	Los espermatozoides se mueven en el lugar, giran sobre sí mismos.
2	Los espermatozoides se trasladan brevemente, pero "se quedan"
2,5	Los espermatozoides se trasladan, puedo seguir su trayectoria con la vista.
3	Los espermatozoides se trasladan, es difícil seguir su trayectoria con la vista.
4	Los espermatozoides se trasladan a mucha velocidad, prácticamente no puedo seguir su trayectoria con la vista, "los veo pasar"
5	Los espermatozoides se trasladan a tanta velocidad que no puedo seguir su trayectoria con la vista, "no los veo pasar"

(Cueto *et al.*, 2016).

por 1000 correspondiente al factor de transformación de microlitros a mililitros y multiplicado por 400 correspondiente a la dilución utilizada para la preparación de la muestra.

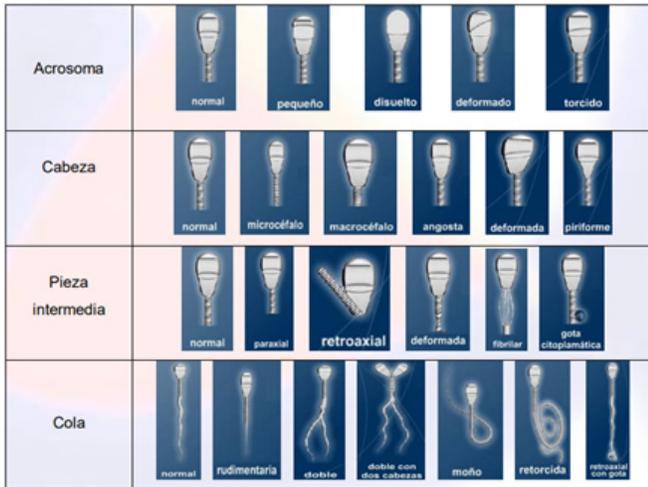
Células vivas-muertas, (%): Se preparó una placa con 5 µl de semen y 5µl del colorante eosina-nigrosina, se homogenizó la muestra y se procedió a realizar una extensión de la misma sobre toda la placa a manera de frotis. El principio de la técnica consiste en que el colorante ingresa a la célula espermática muerta debido al daño en su membrana lo que refleja una coloración rosa mientras que en células vivas el colorante no ingresa lo que refleja una coloración transparente al ser evaluada en el microscopio con un lente de 40x. Se evalúa el número de células vivas y muertas en 5 campos y para el cálculo del porcentaje se aplicaron las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ C. vivas} = \frac{\text{Suma de los 5 campos (spm vivos)}}{\text{Número de spm totales en 5 campos}} \times 100 \quad [2]$$

$$\% \text{ C. muertas} = \frac{\text{Suma de los 5 campos (spm muertos)}}{\text{Número de spm totales en 5 campos}} \times 100 \quad [3]$$

Morfología, (%): Utilizando la misma placa preparada para la determinación de células vivas – muertas se procedió a evaluar morfología espermática, en donde se consideraron tanto anomalías primarias como secundarias según lo indicado en la Fig. 1.

Figura 1. Morfoanomalías del espermatozoide (Valdez, D. 2013)



Para el cálculo del porcentaje se usaron las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ spm anormales} = \frac{\text{suma de los 5 campos (spm anormales)}}{\text{Número de spm totales en 5 campos}} \times 100 \quad [4]$$

$$\% \text{ spm normales} = 100\% - \% \text{ spm anormales} \quad [5]$$

Crioconservación de semen

Para el proceso de crioconservación se utilizaron dos tipos de diluyentes comerciales los cuales fueron preparados según las indicaciones de los fabricantes. Posterior a la extracción y evaluación de semen fresco se realizó una predilución 1:1 que consiste en añadir la misma cantidad de diluyente al eyaculado obtenido, para este caso el eyaculado se dividió en dos fracciones iguales para poder adicionar cada uno de los diluyentes. Se dejó reposar a temperatura ambiente (21oC) esta predilución durante minutos para que el diluyente pueda ingresar al interior de la célula espermática y reemplace al agua intracelular; transcurrido este tiempo se procedió a realizar el cálculo del número de dosis seminales a obtenerse con la aplicación de las siguientes fórmulas:

$$\text{Total de espermatozoides viables} = \frac{\text{Volumen de eyaculado} * \text{Concentración espermática} * \text{Morfología normal} * \text{Motilidad individual}}$$

$$\text{Total de dosis} = \frac{\text{Total de espermatozoides viables}}{30 \text{ millones} * } \quad [7]$$

*Concentración deseada por cada dosis seminal

$$\text{Volumen final} = \frac{\text{Total de dosis}}{4 * } \quad [8]$$

*Corresponde al factor usado para pajillas de 0,25 cc

$$\text{Volumen final de diluyente} = \frac{\text{Volumen final} * \text{Volumen eyaculado}}{\text{Volumen de diluyente en predilución}}$$

El semen fue envasado en pajillas de 0,25cc con una concentración de 30 millones de espermatozoides por dosis utilizando una jeringa adaptada para succionar el semen, el sellado se realizó con polvo polivinílico. Las pajillas envasadas se mantuvieron en refrigeración a 4oC durante 3 horas en un refrigerador marca Mabe modelo RMT35YBE1 para su estabilización. Posteriormente se realizó la congelación en la cual las pajillas se colocaron en un rack el cual es introducido en un cooler con 2 cm de nitrógeno líquido. El descenso de temperatura se realizó en relación a los siguientes valores y tiempos: primer descenso de 4 °C a -6 °C durante 10 minutos (velocidad -1 °C/min), esto se logró colocando el rack a 6 cm del nitrógeno líquido. Segundo descenso de -6 °C a -196 °C en 4 minutos (velocidad -47.50 °C/min), esto se logró colocando el rack a 2 cm del nitrógeno líquido. Realizado este descenso se sumergen las pajillas en el nitrógeno líquido del cooler para terminar con su congelación y colocarlas en el tanque de almacenamiento.

Evaluación de semen post congelación

La descongelación del semen se realizó en un termo de descongelación automático marca Cito Thaw modelo AI CT -12-36 a una temperatura de 37 °C durante 45 segundos.

Motilidad masal, (%): Se tomó 10µl de cada uno de los tratamientos (A1B1; A1B2; A2B1; A2B2) y se evaluó al microscopio con un lente de 10x.

Motilidad individual, (pts): Se tomó 10µl de muestra del semen, de cada uno de los tratamientos (A1B1; A1B2; A2B1; A2B2) y se evaluó al microscopio con un lente de 40x.

Viabilidad espermática, (%): Se preparó una placa con 5 µl de semen y 5µl del colorante eosina-nigrosina, se homogenizó la muestra y se procedió a realizar una extensión de la misma sobre toda la placa a manera de frotis. El principio de la técnica consiste en que el colorante ingresa a la célula espermática muerta debido al daño en su membrana lo que refleja una coloración rosa mientras que en células vivas el colorante no ingresa lo que refleja una coloración transparente al ser evaluada en el microscopio con un lente de 40x. Se evalúa el número de células vivas y muertas en 5 campos y para el cálculo del porcentaje se aplicaron las siguientes fórmulas:

$$\% \text{ C. vivas} = \frac{\text{Suma de los 5 campos (spm vivos)}}{\text{Número de spm totales en 5 campos}} \times 100 \quad [10]$$

$$\% \text{ C. muertas} = \frac{\text{Suma de los 5 campos (spm muertos)}}{\text{Número de spm totales en 5 campos}} \times 100 \quad [11]$$

$$\text{Viabilidad espermática (\%)} = \% \text{ células vivas} - \% \text{ células muertas} \quad [12]$$

3. RESULTADO Y DISCUSIÓN

Evaluación del semen fresco

Volumen

Al realizar el análisis de la variable volumen, se registraron diferencias significativas ($P < 0,05$), entre las medias de los tratamientos, alcanzando el valor más alto de 1,83 ml para las muestras seminales del carnero Pelibuey; y el valor más bajo con 1,43 ml correspondientes al reproductor de la raza Black Belly, Tabla 3.

Tabla 3. Evaluación del volumen seminal obtenido de las eyaculaciones de ovinos Pelibuey y Black Belly.

Variable	Tratamientos		E.E.	C.V. (%)	Prob.	Sig.
	Black Belly	Pelibuey				
Volumen semen, ml	1,43 b	1,83 a	0,09	10,51	0,0162	*

E.E.: Error Estándar

C.V.: Coeficiente de Variación

aa: Letras iguales no existe diferencias significativas

ab: Letras distintas existe diferencias significativas ($P < 0,05$)

Con respecto a los resultados obtenidos en la presente investigación (Cueto, 2014) indican que en promedio el carnero tiende a eyacular una cantidad de semen que oscila entre 0,75 a 2 ml, además esto va a variar por factores como la edad del semental, condiciones climáticas, raza, la adaptación del semental, frecuencia de extracción del semen e incluso por la habilidad del técnico (López, 2014), en el estudio del efecto de la raza, edad y época sobre la capacidad reproductiva del carnero con machos Pelibuey en edad promedio de 34 meses, determinó volúmenes de eyaculados de $0,48 \text{ ml} \pm 0,30$, bajo condiciones del trópico, al igual que (Avilés, 2018), en ovinos Pelibuey reportó un volumen de $1,51 \pm 0,37$ ml, siendo estos valores similares a los obtenidos en el presente estudio.

Los resultados expuestos anteriormente son superiores a los obtenidos por (Guerrero, 2012), quien al estudiar el uso de dilutores hipertónicos en la criopreservación del semen ovino de la raza Black Belly de 2 a 3,5 años de edad en el Valle de Lima, reportó valores promedios de $1,1 \pm 0,1$ ml.

Además, (Orellana, 2009), quien al evaluar Características Seminales e Integridad de la Membrana Espermática Post Refrigeración en carneros Black Belly con una edad aproximada de 3,5 años estimados, presento un volumen de eyaculado de $1,43 \text{ ml} \pm 0,58$, siendo estos valores similares a los obtenidos en la Estación Experimental Pastaza.

Color

La coloración que presentaron los eyaculados del ovino de la raza Pelibuey en las cuatro extracciones seminales fue de un blanco lechoso (BL), (Tabla 4); el ovino de la raza Black Belly en las cuatro extracciones presentó una coloración

seminal blanco cremoso (BC) (Tabla 5). Estos resultados se evaluaron de forma subjetiva, es decir, directamente con la apreciación visual.

Tabla 4. Evaluación seminal macroscópica de ovinos de la raza Pelibuey

Característica	Promedio	DS
Número de eyaculados	4	-
Color	Blanco lechoso	-
Olor	Sui generis (neutro)	-
Ph	7	0,0

DS: Desviación standard

Tabla 5. Evaluación seminal macroscópica de ovinos de la raza Black Belly

Características	Promedio	DS
Número de eyaculados	4	-
Color	Blanco cremoso	-
Olor	sui generis	-
pH	7	0,0

DS: Desviación standard

Respecto a los resultados obtenidos (Cueto, 2016), manifiestan que el color del semen en los ovinos debe ser blanco-lechoso o cremoso pálido, aunque también puede tomar una coloración blanquecina-amarillenta, siendo las mismas predictoras de una muestra seminal de buena calidad teniendo y a su vez se tiene una relación directa entre la intensidad del color y la riqueza espermática.

Además, (Durán, 2008), menciona que el semen del carnero normalmente es de color blanco lechoso o crema pálido, pudiendo variar de unos eyaculados a otros, aún del mismo semental, siendo estas son características propias de cada especie.

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por (Avilés, 2018), quien al realizar estudios sobre las características del semen en diferentes razas de Ovinos determinó que la coloración presente en las muestras seminales de las razas, Black Belly, Pelibuey, Charoláis, Kathadin y Dorper, presentaron una tonalidad del 100% blanco cremoso en todas las razas.

Olor

Las muestras seminales provenientes de los ovinos Pelibuey y Black Belly, presentaron un olor sui generis o proteico neutro característico de la especie, como se indica en las Tablas 4 y 5. Estos resultados son similares a los obtenidos por (Avilés, 2018), quien reportó un olor sui generis en las muestras seminales evaluadas para el estudio sobre las características del semen en diferentes razas de Ovinos.

De igual manera, (Escudero, 2015), quien, al realizar preservación de semen ovino mediante vitrificación y

congelamiento lento, utilizando diferentes diluyentes comerciales reporto un olor proteico neutro característico en el semen de esta especie, libre de olores desagradables que podrían ser provocados por contaminación bacteriana.

pH

El análisis del pH en el semen ovino de las muestras recolectadas, provenientes de las razas Pelibuey y Black Belly, reportaron promedios de 7 ± 0 , siendo este un pH neutro, considerándose que no hubo diferencias significativas en los eyaculados de cada raza, Tablas 4 y 5.

El pH seminal de la especie ovina distintamente del propósito zootécnico de cada una de las líneas genéticas es por general neutro a levemente alcalino, que tiene el objetivo de neutralizar la acidez que se encuentra en el tracto reproductivo de la hembra, los valores pueden ser alterados por tiempo de almacenamiento y método de recolección del semen, además este es indicativo de un material seminal adecuado, ya que si se hubiera detectado valores mayores o inferiores (alcalino - ácido) se considera como semen de escasa fertilidad y baja concentración y motilidad, tal como lo reporta (Orellana, 2009).

Los resultados obtenidos son similares a los reportados por (Cabera, 2010), quien registró en su investigación un pH neutro, utilizando la misma metodología del presente estudio, para la valoración de este parámetro. Por otro lado (Tapia, 2014), al realizar la Valoración Seminal en Ovinos de Raza Corriedale y Mestizos registró para los dos valores de 7 en cuanto al pH de las muestras seminales.

Motilidad masal

La valoración microscópica de la motilidad masal, (Tapia, 2014) en las diferentes observaciones realizadas no registró diferencias estadísticas ($P > 0,05$), entre las medias de los tratamientos, obteniendo el 91,25 %, para las muestras seminales del carnero Pelibuey, y 95,25 % para el carnero de la raza Black Belly, Tabla 6.

Tabla 6. Evaluación microscópica de los eyaculados obtenidos de ovinos Pelibuey y Belly antes de ser sometidos a dilución y crioconservación.

Variable	Tratamientos				C.V. (%)	Prob.	Sig.
	Black Belly	Pelibuey	E.E.				
Motilidad masal, %	95,25	a 91,25	a	2,16	4,62	0,2374	ns
Motilidad individual, %	4,75	a 4,50	a	0,27	11,68	0,5370	ns
Concentración, spz/ml	2540,50	a 2329,5	a	318,94	26,20	0,6564	ns
Células vivas/muertas, %	97,25	a 94,00	a	2,24	4,69	0,3451	ns
Morfología	95,35	a 94,90	a	0,60	1,25	0,6131	ns

E.E.: Error Estándar

C.V.: Coeficiente de Variación

aa: Letras iguales no existe diferencias significativas

ab: Letras distintas existe diferencias significativas ($P < 0,05$).

Encontrándose estos resultados dentro de los rangos aptos para su conservación, pues, según (Cueto, 2016), recomienda que para proceder al congelamiento de un eyaculado su motilidad masal debe ser igual o mayor de 3,5 pts, es decir $\geq 70\%$, sabiendo que 5 pts equivale al 100%.

Los resultados obtenidos en la presente investigación son similares a los registrados por (López, 2014), quienes, en su investigación sobre el efecto de Factores Ambientales y Variación Individual en la Capacidad Reproductiva del carnero, determinaron el 92 % de motilidad masal para las muestras seminales frescas.

A diferencia de los resultados obtenidos por (Velasco, 2011), quien registró una motilidad masal de 85%, evaluada en semen fresco de Pelibuey, al realizar el estudio de la determinación de sub poblaciones espermáticas por motilidad en ovinos de pelo, siendo estos resultados inferiores a los de la presente investigación.

Motilidad individual

La valoración microscópica de la variable motilidad individual, observada en las muestras seminales de los ovinos no registro diferencias estadísticas ($P > 0,05$), existiendo diferencias numéricas entre las medias de los tratamientos, reportando el mayor valor en la raza Black Belly con 4,75 puntos, mientras que en las muestras de semen del carnero Pelibuey se obtuvo medias de 4,5 puntos, siendo este el menor valor, Tabla 6.

Estos resultados se presentan superiores a los reportados por (7), quienes al evaluar el uso de diferentes dilutores en Crioconservación de Semen Ovino, en muestras de semen fresco del mes de abril y julio presentan valores $3,5 \pm 0,1$ puntos en carneros Black Belly.

López *et al.*, (2016), obtuvo resultados de 4,31 puntos para las muestras seminales frescas pertenecientes al macho de la raza Pelibuey; a diferencia de (14), quien en el estudio Aplicación de Técnicas de Biotecnología Reproductiva en Ovejas Mestizas determino una motilidad individual en semen fresco de 5 puntos en la raza Rambouillet y Poll Dorset, siendo estos resultados similares al presente estudio.

Concentración espermática

La concentración espermática, promedio por unidad de volumen (ml), de las muestras obtenidas en los ovinos no registro diferencias estadísticas ($P > 0,05$), entre las medias de los tratamientos, reportando en la raza Pelibuey una concentración espermática de $2329,5 \times 10^6$ spz/ml, mientras que en el ovino Black Belly para la misma variable se obtuvo $2540,5 \times 10^6$ spz/ml.

En relación a los resultados obtenidos Duran *et al.*, (2008), menciona que la determinación de la concentración

espermática es muy importante, ya que la relación en la dilución depende de ella, al mismo tiempo indica que el semen del carnero de buena calidad contiene entre 2,5 a 5,0 mil millones de espermatozoides/ml. Estos resultados son similares a los obtenidos por Orellana (2009), quien al valorar la concentración espermática reportó valores de $2\,458,89 \times 10^6$ spz/ml $\pm 903,65$ en ovinos de la raza Black Belly. Al igual que López *et al.*, (2014), quienes en muestras seminales frescas de los carneros Pelibuey obtuvieron una concentración espermática de $2964 \pm 103 \times 10^6$ spz/ml, y en los carneros Black Belly se determinaron una concentración de $3059 \pm 114 \times 10^6$.

Por otro lado, según el estudio de Características del Semen en Diferentes Razas de Ovinos, realizado por Avilés (2018), manifiesta que la concentración espermática en las muestras seminales del ovino Pelibuey reportó un promedio de $562,50 \pm 50 \times 10^6$ spz/ml, mientras que para el reproductor Black Belly, se registró una concentración espermática de $826,67 \pm 323,02 \times 10^6$ spz/ml, siendo estos resultados inferiores a los reportados en la presente investigación.

Células vivas – muertas

Esta variable no registró diferencias estadísticas ($P > 0,05$), existiendo solo diferencias numéricas entre las medias de los tratamientos, identificando el mayor valor de 97,5 % en las muestras seminales provenientes del ovino Black Belly, a diferencia del 94 %, obtenido en las muestras de semen del reproductor Pelibuey. Con respecto al porcentaje de células muertas este reportó el 2,5% y 6% respectivamente.

Respecto a los resultados obtenidos (Escudero, 2015), indican que al congelar el semen debe existir un buen porcentaje de células vivas en relación a las células muertas, ya que solo alrededor del 50% de los espermatozoides mantienen su viabilidad luego de la descongelación. (Guerrero, 2012), en la evaluación microscópica del semen en el cálculo del porcentaje de células vivas y muertas, reporta valores de $90,2 \pm 3,8$ % de células vivas y $9,8$ % de células muertas en carneros Black Belly, al igual (Avilés, 2018), quien determinó un porcentaje de células vivas y muertas de $75,24 \pm 9,44$ en muestras seminales del macho Pelibuey, en cambio en el Black Belly arrojó resultados de $92,45 \pm 2,35$, valores que son inferiores a los reportados en la presente investigación.

En el estudio de (Orellana, 2009), se determinó que en la valoración microscópica del semen en fresco la variable células vivas-muertas reportó datos de 80,19% espermatozoides vivos y 19,81% de células muertas, en la raza Black Belly, los cuales son inferiores con los del estudio. Por otro lado, (Escudero, 2015), en la investigación Preservación de Semen Ovino mediante Vitricación y Congelamiento Lento, Utilizando Diferentes Diluyentes, encontró $99,58 \pm 0,51$ en muestras seminales frescas de machos Corriedale, siendo estos superiores a los obtenidos en la investigación.

Morfología

Se presentaron promedios de 94,9% de espermatozoides normales y del 5,1% de espermatozoides anormales en

las muestras del semen del ovino de raza Pelibuey (Tabla 7), mientras que las muestras seminales de la raza Black Belly arrojaron resultados de 95,35% de espermatozoides con estructura normal, determinando que 4, 65% de los espermatozoides son anormales, (Tabla 7). No se registran diferencias estadísticas ($P > 0,05$) entre las medias de los tratamientos, reportándose anomalías espermáticas como: microcefalia, colas de látigo, enrollada, doblada y sin cola.

Tabla 7. Morfología espermática de semen de ovinos Black Belly y Pelibuey

Anormalidades Espermáticas	Black Belly	Pelibuey
Microcefalia	0,05	-
<i>Cola</i>		
Cola de látigo	0,9	1,1
Cola enrollada	1,6	1,4
Cola doblada	1,9	2,5
Sin cola	0,05	-
Cola corta	0,1	0,1
<i>Total de anomalías (%)</i>	<i>4,6</i>	<i>5,1</i>

(Orellana, 2009), considera normal los eyaculados de 5 – 9 % de anormales, ya que el porcentaje de espermatozoides vivos se considera alto y guarda relación con el movimiento progresivo.

Estos valores son inferiores a los indicados por (Guerrero, 2009), en su investigación en cuanto a la morfología reportó valores 98,2% de espermatozoides normales en muestras seminales de machos Black Belly con 1.8 ± 0.7 de anomalías. Siendo a su vez superiores a los (Viteri, 2015), quien en su estudio determinó 93,06% de espermatozoides normales y el 6,94% de espermatozoides con anomalías como macrocefalos, doble cola y cola látigo.

La determinación del porcentaje de la morfología y anomalías según (Castro, 2017), en su investigación de la Calidad del Semen Refrigerado de Carneros Assaf y Black Belly, determinó en muestras de semen fresco valores de 6.94 ± 1.57 de espermatozoides anormales y 93,06 % espermatozoides normales en machos Black Belly de 3,5 años de edad, valores que son similares a los reportados en la presente investigación.

Evaluación del semen post congelación

Motilidad masal

De acuerdo a la raza (Factor A)

Al analizar la variable no se registran diferencias estadísticas entre las medias del factor A, reportando el mayor porcentaje para las pajuelas provenientes del carnero Black Belly con 13,75%, a diferencia del menor valor registrado por las dosis seminales del reproductor Pelibuey, con 11,67 %, como se indica en la Tabla 8.

Tabla 8. Evaluación microscópica del semen post congelación de ovinos Pelibuey y Black Belly

Variables	Raza				E.E.	Prob.	Sig.
	Factor A						
	Pelibuey	Black Belly					
M.m (%)	11,67	a	13,75	a	1,34	0,29	ns
M.i (pts)	1,17	b	1,38	a	0,07	0,045	*
V (%)	12,07	a	14,08	a	1,44	0,34	ns

M.m: Motilidad masal, (%)
 M.i: Motilidad individual, (pts)
 V: Viabilidad espermática (%).
 E.E: Error estándar

Prob. >0,05: no existen diferencias estadísticas.
 Prob. <0,05: existen diferencias estadísticas.
 Prob. < 0,01: existen diferencias altamente significativas

De acuerdo al diluyente (Factor B)

El efecto de los diluyentes comerciales en la conservación seminal, no se reportó diferencias estadísticas (P>0,05), entre las medias del factor B, registrando para el diluyente Andromed valores de 12,29%, a comparación de diluyente seminal One Step para el que se obtuvo el 13,13 % de motilidad masal (Tabla 9).

Tabla 9. Evaluación microscópica del semen post congelación de ovinos Pelibuey y Black Belly

Variables	Diluyente				E.E.	Prob.	Sig.
	Factor B						
	Andromed	One Step					
M.m (%)	12,29	a	13,13	a	1,34	0,67	ns
M.i (pts)	1,21	a	1,33	a	0,07	0,20	ns
V (%)	12,34	a	13,81	a	1,44	0,48	ns

M.m: Motilidad masal, (%)
 M.i: Motilidad individual, (pts)
 V: Viabilidad espermática (%).
 E.E: Error estándar

Prob. >0,05: no existen diferencias estadísticas.
 Prob. <0,05: existen diferencias estadísticas.
 Prob. < 0,01: existen diferencias altamente significativas

De acuerdo a la interacción (Factor Ax B)

De acuerdo a la interacción factores A x B (razas ovinas y tipos de diluyentes comerciales) no se presentaron diferencias estadísticas (P>0,05), entre los tratamientos, pero si existieron diferencias numéricas, reportando el mayor porcentaje de motilidad masal del 15 % para el tratamiento A2B2, a diferencia del menor valor que se obtuvo en el tratamiento A1B2, con 11,25 %, como se indica en la Tabla 10. Lo que nos lleva a deducir que no existió en el proceso de conservación seminal una relación directa entre las razas ovinas y los componentes que constituyen los diluyentes comerciales utilizados en la presente investigación.

Tabla 10. Evaluación microscópica del semen post congelación de ovinos Pelibuey y Black Belly

Variables	Pelibuey				Black Belly				E.E.	Prob.
	Interacción (A x B)				Interacción (A x B)					
	Andromed	One Step	Andromed	One Step	Andromed	One Step	Andromed	One Step		
M.m (%)	12,08	a	11,25	a	12,50	a	15,00	a	1,90	0,40
M.i (pts)	1,17	a	1,17	a	1,25	a	1,50	a	0,09	0,20
V (%)	12,08	a	12,06	a	12,60	a	15,56	a	2,03	0,48

M.m: Motilidad masal, (%)
 M.i: Motilidad individual, (pts)
 V: Viabilidad espermática (%).
 E.E: Error estándar

Prob. >0,05: no existen diferencias estadísticas.
 Prob. <0,05: existen diferencias estadísticas.
 Prob. < 0,01: existen diferencias altamente significativas

Con respecto a los resultados obtenidos estos son superiores a los reportados por (Escudero, 2015), quien al realizar preservación de semen ovino mediante vitrificación y congelamiento lento, utilizando diferentes diluyentes comerciales, obtuvo 8,50 % de motilidad masal post descongelamiento al emplear el diluyente seminal Ovixcell y ejecutar un congelamiento lento en el procesamiento seminal.

Los resultados obtenidos son inferiores a los reportados por (Gómez, 2018), quienes al investigar la Categorización de Criopreservación del Semen Ovino de Acuerdo a la Cinética Espermática a la descongelación, en ovinos Pelibuey y Black Belly, reportaron un 51,68 % de motilidad masal post-descongelación en las dosis seminales.

Motilidad individual

De acuerdo a la raza (Factor A)

En el análisis de la varianza correspondiente a la motilidad individual post congelación, se identificaron diferencias significativas (P<0,05), entre las dosis seminales de las razas evaluadas, registrando la mejor valoración en las pajuelas derivadas del carnero Black Belly con 1,38 puntos, a comparación del valor obtenido en las dosis seminales de reproductor Pelibuey en el cual se registró 1,17 puntos Tabla 8.

De acuerdo al diluyente (Factor B)

Al analizar el factor B (diluyentes comerciales), no se registraron diferencias estadísticas con respecto a la motilidad individual, presentando la mayor valoración al utilizar el diluyente seminal One step con 1,33 puntos, a diferencia del 1, 21 puntos reportado por el diluyente comercial Andromed.

De acuerdo a la interacción (Factor Ax B)

Al realizar el análisis de la interacción Factores A x B, perteneciente a la motilidad individual no se presentaron diferencias estadísticas significativas (P>0,05), obteniendo el rango más alto en el tratamiento A2B2 con 1,50 puntos a comparación de los tratamientos A1B1 y A1B2 con 1,17 puntos en los dos tratamientos Tabla 10.

Los valores registrados en la presente investigación son similares a los obtenidos por (Cervera, 2013), quienes en su estudio del Efecto de la adición de un surfactante (Orvus Es Paste®) en el diluyente de congelación en ovinos Katahdin, reportaron una motilidad individual para el tratamiento TO (Triladyl® 20%, agua destilada 60%, yema de huevo 20%, con 0,5% de OEP), de 1,8 a la post- descongelación y para TT (sin OEP) 1 punto.

Por otro lado, (ICabrera, 2010), en su investigación Efecto del dilutor tris y citrato con yema de huevo de codorniz sobre la viabilidad espermática en semen ovino congelado, en ovinos Black Belly registra una motilidad individual en el tratamiento 1 (TRIS), de $63,7\% \pm 2,7$ correspondiendo esta calificación de 3,18 puntos y para tratamiento 2 (CITRATO), de $58,1\% \pm 5,1$; equivalente a 2,9 puntos, siendo estos valores superiores a los reportados en la presente investigación.

En el mismo estudio se evaluó a la raza Assaf que presenta para el T1 (TRIS), una motilidad individual post-descongelación de $61,7\% \pm 6,5$; corresponde a 3 puntos y para el T2 (CITRATO) presento una motilidad individual de $55,7\% \pm 8,5$ que equivale a 2,7 puntos, por tal estos valores son superiores a los obtenidos en la investigación, las mismas que pueden diferir por utilizar diferente protocolo de congelación y diferente diluyente.

(Rodríguez, 2008) quienes en su estudio Capacitación espermática inducida por la conservación de semen de carnero diluido, refrigerado o congelado, en carneros Pelibuey y Black Belly, presento una motilidad individual promedio de 2,6 puntos.

Viabilidad espermática

De acuerdo a la raza (Factor A)

Al analizar esta variable no se registraron diferencias estadísticas entre las razas ovinas al post congelación, reportándose el mayor valor de este parámetro en las dosis seminales del carnero Black Belly con 14,08 % de viabilidad espermática a comparación de los valores registrados por el semoviente de la raza Pelibuey, con 12,07%, en el análisis Tabla 8.

De acuerdo al diluyente (Factor B)

En el análisis del factor B (diluyentes comerciales), no se reportaron diferencias estadísticas ($P > 0,05$), obteniendo el mayor valor para el diluyente One Step con 13,81 % de viabilidad espermática post congelación, en comparación al menor valor el cual se registró con el diluyente Andromed con 12,34% Tabla 9.

De acuerdo a la interacción (Factor Ax B)

La viabilidad espermática post congelación en relación a la interacción de las razas y diluyentes, no mostró diferencias significativas ($P > 0,05$), registrándose la mayor viabilidad espermática en el tratamiento A2B2 con 15,56%, y difiriendo numéricamente con A1B2 con 12,06% Tabla 10.

Los resultados obtenidos en la presente investigación son inferiores a los de (Gómez, 2018), quienes en su investigación categorización de la crío preservación del semen ovino de acuerdo a la cinética espermática a la descongelación, en carneros (Black Belly y Pelibuey) crío preservados con Triladyl y yema de huevo, determino a las 24 horas de su conservación una viabilidad de $41,77\% \pm 5,34$ post- descongelamiento.

De la misma manera (Cervera, 2013), quienes al adicionar un Surfactante (Orvus Es Paste) en el diluyente comercial de congelación Triladyl®, en ovinos Katahdin obtuvo una viabilidad espermática a los 17 días post congelación en el TO (20% Triladyl, agua destilada (60%), yema de huevo (20%), con 0,5% de OEP) una viabilidad de $37,31 \pm 1,27$ y para el TT sin OEP, obtuvieron una viabilidad de $21,98\% \pm 1,27$.

Los datos obtenidos por Guerrero *et al.*, (Guerrero, 2012), en su investigación de Uso de Dilutores Hipertónicos en la Criopreservación de Semen Ovino, en ovinos Black Belly con una edad de 2-3.5 años, reportan una viabilidad espermática post congelación con el tratamiento 1 Dilutor Tris-Trehalosa datos promedio de $34,4\% \pm 6,6$; mientras que en el tratamiento 2 Dilutor Tris-Lactosa obtuvo $24,3\% \pm 5,0$

4. CONCLUSIONES

Las características macroscópicas y microscópicas en semen fresco son apropiadas para cada raza, es importante destacar que el volumen del eyaculado que obtuvo el rango más alto fue del ovino Pelibuey con 1,83 ml en relación al volumen de Black Belly 1,43 ml, obteniendo un mayor número de dosis seminales con una concentración de 30 millones de espermatozoides por pajuelas de 0,5 ml.

Al evaluar las variables microscópicas en semen fresco la mejor calidad seminal fue la del carnero Black Belly con una motilidad masal de 95,25%, concentración espermática de $2540,50 \times 10^6$ spz/ml y un porcentaje de células vivas-muertas de 97,25%, las características del carnero Pelibuey difirieron con una motilidad masal de 91,25%, concentración espermática de $2329,50 \times 10^6$ spz/ml y células vivas-muertas de 94%.

Se comprobó que en la motilidad individual al momento de la post congelación no fue afectada por los dos diluyentes, pero si existió diferencias significativas entre las razas obteniéndose un mayor valor para el carnero Black Belly con 1,83 pts, por lo que, es más eficiente para congelar en relación al Pelibuey con 1,17 pts. Cabe recalcar que si existe diferencias numéricas entre los tratamientos teniéndose al tratamiento A2B2 con el rango más alto permitiéndose obtener una mejor calidad del semen congelado.

Se recomienda establecer o adecuar un cuarto frio que permita el control de los factores externos como la temperatura ambiental y la humedad que impiden que se lleve un control preciso de las temperaturas en las etapas de equilibramiento, refrigeración y congelación donde pueden existir fluctuaciones de temperatura que afectarán al espermatozoide en el proceso post congelación.

5. REFERENCIAS

- Avilés, F., Características del Semen en Diferentes Razas de Ovinos, a Principios de Otoño. [Trabajo de titulación]. Universidad Autónoma de Baja California Sur; Área de Conocimiento de Ciencias Agropecuarias; Departamento Académico de Ciencia Animal y Conservación del Hábitat. La Paz-Baja California Sur. 2018.
- Cabrera, P., Orellana, J., Pantoja, C. Efecto de dos dilutores sobre la motilidad e integridad de la membrana espermática en semen congelado de ovinos. *Revista de Investigación Veterinaria Perú* [Internet]. 2010. Vol. 21. N°2. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172010000200002&script=sci_arttext
- Castro, J., Chirinos, D., Orellana, J. Calidad del semen refrigerado de carneros Assaf y Blackbelly. *Revista de Investigación Veterinaria Perú* [Internet]. 2017. Vol. 28. N°3. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172017000300032&script=sci_arttext
- Cervera, P., Cob, L., Rivera, Juan., Domínguez, A., Baeza, J., Ramón, J. Efecto de la adición de un surfactante (Orvus es Paste®) en el diluyente de congelación sobre la calidad y la capacidad fecundante del semen ovino de pelo (Ovis aries) congelado. *Revista Científica FCV* [Internet]. 2013. Vol 23. N° 1. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/959/95925465002.pdf>.
- Cueto, M., Gibbons, A., Bruno, M., Fernández, J., Manual de Obtención, Procesamiento y Conservación del Semen Ovino. 2ª. Edición. INTA Ediciones. Buenos Aires – Argentina. 2016.
- Durán, F., Hernández, H., Latorre, D. Manual de explotación y reproducción en ovejas y borregos. 1ª edición. Grupo Latino Editores Ltda. Bogotá- Colombia., 2008.
- Escudero, J. Preservación de Semen Ovino Mediante Vitricación y Congelamiento Lento, Utilizando Diferentes Diluyentes Comerciales. [Trabajo de Titulación]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias Pecuarias; Carrera de Ingeniería Zootécnica. Riobamba-Ecuador. 2015.
- Gómez, C. Evaluación de la Efectividad de un Electroeyaculador Experimental Comparado a Uno de Marca Comercial en Ovinos. [Trabajo de titulación]. Universidad Central del Ecuador; Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito-Ecuador. 2013.
- Gómez, J., Estrada, E., Cuicas, R., Ávila, B. Seguna, J. Categorización de la Crio preservación del Semen Ovino de Acuerdo a La Cinética Espermática A la Descongelación. *Avances de la Investigación Sobre Producción Animal y Seguridad Alimentaria en México*. Ciudad de México - México, 2018.
- Guerrero, H., Huanca, W., Raymundo, F., Huerta, S., Ramos, D. Uso De Dilutores Hipertónicos en la Criopreservación de Semen Ovino. *Revista de Investigación Veterinaria Perú* [Internet]. 2012. Vol. 20. N°1, pp. 41-46. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v20n1/a07v20n1.pdf>
- INEC – ECUADOR. Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua. Quito- Ecuador. 2018. [Actualizada en 2018]. [aprox. 6 pantallas]. Disponible en https://www.ecuadorencifras.gob.ec/estadisticas-agropecuarias-2/?fbclid=IwAR2KUWTTA2WdURPv_kgefV-Hr2xvi3GOMHZvnJpwW0Gjk_NIRRF RuihsDjc.
- López, J., Villanueva, N., Villanueva J., Avances de la investigación sobre producción de ovinos de pelo en México. *Efecto de la Raza, Edad y Época Sobre la Capacidad Reproductiva del Carnero*. Tecnológico Nacional de México - Ciudad de México – México. 2014.
- Orellana J., Características Seminales E Integridad de la Membrana Espermática Post Refrigeración en Carneros Black Belly y Assaf del Banco Nacional de Semen [Trabajo de titulación]. Universidad Nacional del Centro del Perú; Facultad de Zootecnia. Huancayo - Perú. 2009.
- Peña, L. Manual de Producción Ovina. Primera edición. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias Pecuarias; Carrera de Zootecnia; Riobamba - Ecuador. 2018.
- Rodríguez, F., Ávila, C., Anchondo, A., Sánchez, B., Jiménez, J. Capacitación espermática inducida por la conservación de semen de carnero diluido, refrigerado o congelado. *Revista Científica Agrociencia*. [Internet]. 2008. Vol. 42. N°4. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952008000400002
- Tapia, L. Valoración seminal en ovinos de raza Corriedale y mestizos en la parroquia Cochapamba del cantón Saquisilí. [Trabajo de Titulación]. Universidad Técnica de Cotopaxi; Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; Carrera de Medicina Veterinaria. Latacunga- Ecuador. 2014.
- Velasco, L., Determinación de sub poblaciones espermáticas por motilidad en ovinos de pelo. [Trabajo de Titulación]. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”; Unidad Saltillo; División Ciencia Animal; Departamento de Producción Animal. Coahuila- México. 2011.
- Viteri, W. Aplicación de Técnicas de Biotecnología Reproductiva en la Sincronización de Estro e Inseminación Artificial en Ovinas Mestizas. [Trabajo de Titulación]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Facultad de Ciencias Pecuarias; Carrera de Ingeniería Zootécnica. Riobamba- Ecuador. 2015.