

Universidad Nacional
Facultad Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria

Reproducción en pequeños rumiantes en la Universidad de São Paulo, Brasil

Modalidad: Pasantía

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado Académico de
Licenciatura en Medicina Veterinaria**

Natalia Sáenz Aguilar

Campus Presbítero Benjamín Núñez

2015

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL EXAMINADOR

Reproducción en pequeños rumiantes en la Universidad de São Paulo, Brasil

Rafael Vindas Bolaños, MSc.

Vicedecano.

Laura Bouza Mora, Licda.

Subdirectora.

Laura Castro Ramírez, PhD.

Tutor

Natalia Soto Barrientos, MSc.

Lectora

Gloriana Castillo Badilla, Licda.

Lectora

DEDICATORIA

“Aprovecha ahora que eres joven para sufrir todo lo que puedas, que estas cosas no
duran toda la vida”

- Amor en los tiempos del cólera-

A todos los que vivieron conmigo esta etapa que ahora finalmente es un éxito.

AGRADECIMENTOS

A Dios, por la lección de perseverancia. A mi mamá por darme la oportunidad de estudiar lo que yo quisiera y a mi familia en general, por siempre estar ahí pase lo que pase. A los buenos amigos que crecen y maduran a mi lado.

A todos los angelitos que me recibieron en Brasil, a la Dra. Kiky pues mi viaje no habría sido posible sin toda su ayuda, al Dr. Manoel y a todo el personal de la Hacienda Campo Verde que me hicieron sentir en casa. A los Drs. Maíra, Vanessa, Arnaldo, Carolina y Cynthia que en horarios de trabajo me enseñaron de veterinaria y fuera de este, me enseñaron São Paulo. A Luciana y Andrea, las hermanas perdidas que encontré en Brasil.

A profesores como Jotas que me orientó con el anteproyecto. A la Dra. Marcia que siempre tuvo palabras de aliento y amor a la docencia. A Glori por prestarme la oficina y Natalia por el café de las 3. A la Dra. Laura Castro por todo el apoyo.

Y por último, pero quizás más importante, a Gera, para vos no tengo palabras pero me sobran sentimientos.

RESUMEN

La pasantía de reproducción en pequeños rumiantes se realizó en São Paulo, Brasil, coordinada por la profesora Anneliese de Souza, durante los meses de setiembre a diciembre del 2011. Se trabajó en las explotaciones oviceprinas: Sitio Paraíso, Hacienda Campo Verde y la sede de Pirassununga de la Universidad de São Paulo (USP).

Durante esta práctica se realizaron en total 86 exámenes reproductivos en hembras vacías (54 ovejas y 32 cabras); con el fin de visualizar por medio de ultrasonido (US) estructuras reproductivas como útero, cuernos y ovarios. También se efectuaron exámenes reproductivos en hembras preñadas, incluyendo 244 diagnósticos de gestación, 84 US entre los 25 y 35 días de gestación, 99 US entre los 35 y los 60 días y 61 US en gestaciones de más de 60 días. Además, se determinó con éxito 91 gestaciones gemelares, 118 de un solo feto y se consiguió sexar 30 fetos (19 machos y 11 hembras).

En machos se realizaron 19 exámenes reproductivos, evaluando circunferencia escrotal, los órganos reproductivos macroscópicamente y por US y se realizaron colectas de semen, que incluyeron valoración de motilidad en masa volumen, color y aspecto del eyaculado.

Con respecto a las técnicas de reproducción asistida (TRA) se trabajó en: sincronización de celos (n=244), superovulaciones (n=73), colectas y transferencias de embriones (n=795 embriones), aspiraciones foliculares (n=1 hembra), colectas de oocitos (n=45 oocitos) e inseminaciones artificiales (IA) (n=222). De estas últimas, 28 fueron en cabras por el método transcervical y 194 en ovejas por los métodos exocervical con retracción del cérvix (n=1), la técnica intracervical (n=18) y la intrauterina (IU) (n=177).

Debido a la época reproductiva en la que se estuvo presente y a que el manejo de las fincas es intensivo, se facilitó la participación en gran cantidad de procedimientos reproductivos, ampliando y consolidando los conocimientos tanto prácticos como teóricos, en el área de la reproducción de pequeños rumiantes.

ABSTRACT

The internship in small ruminant reproduction was made in Sao Paulo, Brazil, coordinated by professor Anneliese de Souza, between the months of September to December of 2011. This took place in the farms Sitio Paraiso, Hacienda Campo Verde and on the Pirassununga Campus of the University of Sao Paulo (USP).

During this practice a total of 86 reproductive exams on non-pregnant females (54 sheep and 32 goats) were made using ultrasound (US) and the reproductive structures evaluated included: uterine body, uterine horns and ovaries. Likewise, reproductive exams were made on pregnant females including 244 pregnancy diagnosis, 84 US in between 25 and 35 days of pregnancy, 99 US among 35 and 60 days and 61 in pregnant females over 60 days. Besides, 91 twin pregnancies and 118 single gestations were successfully diagnosed; it was also possible to determine the fetal sex in 30 fetuses (19 males and 11 females).

Furthermore, 19 males' reproductive exams were made, evaluating the scrotal circumference, reproductive organs macroscopically and by US, and semen collection, including examination of the mass motility, color and appearance of the ejaculate.

In regard to reproductive assisted techniques (TRA) the following were accomplished: estrus synchronization (n=244), superovulation (n=73), embryo recovery and transfer (n=795 embryos), follicular aspiration (n=1 female), oocyte recovery (n=45 oocytes) and artificial insemination (n=222). The Artificial insemination were performed on 28 goats by the transcervical method and 194 on sheep, by the exocervical technique with cervix retraction (n=1), the intracervical (n=18) and the intrauterine (n=177).

Because the present study took place during the breeding season and the intensive management of those herds, it was possible to participate in a considerable amount of reproductive procedures, expanding and consolidating the student's knowledge, both practical and theoretical, in the reproductive area of small ruminants.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

1	INTRODUCCIÓN	1
1.1	Antecedentes	1
1.2	Justificación	3
1.3	Objetivos	4
1.3.1	<i>Objetivo general</i>	4
1.3.2	<i>Objetivos específicos</i>	4
2	MATERIALES Y MÉTODOS	5
2.1	Descripción por lugar de trabajo	5
2.1.1	<i>VRA-USP Pirassununga</i>	5
2.1.2	<i>Hacienda Campo Verde</i>	5
2.2	Descripción de las prácticas	6
2.2.1	<i>Examen reproductivo de las hembras</i>	6
2.2.2	<i>Examen reproductivo de los machos</i>	7
2.2.3	<i>Técnicas de reproducción asistida</i>	9
2.2.3.1	Sincronización de celos	9
2.2.3.2	Inseminación artificial.....	12
2.2.3.3	Superovulación y transferencia de embriones.....	17
2.2.3.4	Aspiración folicular por laparoscopia	21

3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
3.1	Examen reproductivo de las hembras	23
3.2	Examen reproductivo de los machos	26
3.3	Técnicas de reproducción asistida (TRA)	30
3.3.1	<i>Sincronización de celos</i>	30
3.3.2	<i>Inseminación artificial</i>	32
3.3.3	<i>Superovulación y transferencia de embriones</i>	34
3.3.4	<i>Aspiración folicular</i>	36
4	CONCLUSIONES	37
5	RECOMENDACIONES	38
6	REFERENCIAS	39
7	ANEXOS	43

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Cantidad de diagnósticos de gestación realizados por ultrasonido.....	24
Cuadro 2. Evaluaciones fetales por medio de ultrasonido.	25
Cuadro 3. Población de ovinos sincronizada según el lugar de trabajo	30
Cuadro 4. Comparación entre prostaglandinas y progestágenos para la sincronización de celos en cabras y ovejas	31
Cuadro 5. Comparación entre las técnicas de IA utilizadas en ovejas	33
Cuadro 6. Población de hembras superovuladas vs colectadas según el lugar de trabajo	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Colecta de semen en machos ovinos	8
Figura 2. Ultrasonografía de la grasa dorsal en corderos.	9
Figura 3. Protocolo de sincronización de celos en cabras	10
Figura 4. Colocación de las esponjas Progespon®.....	10
Figura 5: Protocolo de sincronización utilizado en ovejas	11
Figura 6. Inseminación Artificial en caprinos	13
Figura 7. Técnica de IA cervical con retracción de cérvix	14
Figura 8. IA intracervical con pistola de inseminación en ovejas	14
Figura 9. Preparación para IA por laparoscopia.	15
Figura 10. Inseminación artificial por laparoscopia	16
Figura 11. IA por laparoscopia.....	17
Figura 12. Protocolo de Superovulación con Foltropin®.....	18
Figura 13. Protocolo de Superovulación con Pluset®.....	18
Figura 14. Colecta de embriones	19
Figura 15: Protocolo de superovulación utilizado en la aspiración folicular	21
Figura 16. Estructuras visualizadas por medio de US en el examen reproductivo en hembras vacías.	23
Figura 17. Circunferencia escrotal de los machos evaluados.	27
Figura 18. Examen macroscópico de órganos reproductivos de los machos evaluados.	27
Figura 19. Profundidad conseguida en cabras durante las IA.	32

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ABCDorper:	Asociación Brasileña de Criadores Dorper.
CE:	Circunferencia Escrotal.
CIDR:	Controlled Internal Drug Release (Liberador interno controlado de drogas).
CM:	Inseminación artificial Cervical media.
CP:	Inseminación artificial Cervical Profunda.
CS:	Inseminación artificial Cervical superficial.
DIV:	División <i>in vitro</i> .
eCG:	Gonadotropina Coriónica equina.
FIV:	Fertilización <i>in vitro</i> .
FMVZ-USP:	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la USP.
HOVET:	Hospital Veterinario de la USP.
IA:	Inseminación Artificial.
IU:	Inseminación artificial Intrauterina.
LOPU:	Laparoscopicovum pick-up (Aspiración folicular laparoscópica).
MAP:	Medroxiprogesterona.
MHz	Megahertz
MIV:	Maduración <i>in vitro</i> .
MOET:	Multiple Ovulation and Embryo Transfer (Superovulación y transferencia de embriones).
PBS:	Suero fetal bovino.
PGF2 α :	Prostaglandina F2- α .
PPE:	Extracto de hipófisis porcinas.
TRA:	Técnicas de Reproducción Asistida.
US:	Ultrasonido.
USP:	Universidad de Saõ Paulo.
VRA-USP:	Departamento de Reproducción Animal de la USP.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

En Costa Rica, en términos de cantidad, las principales actividades de producción pecuaria se inclinan hacia la producción bovina (leche principalmente) y la industria avícola (FAOSTAT, 2012). La producción de pequeños rumiantes es algo relativamente incipiente, ambas producciones formaban parte de la economía agrícola y pecuaria del pequeño campesino, siendo componente secundario o terciario de sistemas agropecuarios mixtos (Manual Agropecuario, 2002).

La facilidad de establecer una explotación en la que el tamaño, la adaptabilidad, el bajo costo de producción, así como la posibilidad de obtener un incremento del hato en un menor tiempo posible ha despertado el interés de desarrollar la industria ovicaprina (Baidar-Khan et al., 2003), valiéndose para ello de nuevas técnicas reproductivas (Pliego, 2005) y los avances en la investigación clínica para determinar los factores de riesgo y el manejo de las enfermedades tanto individuales como del hato (Radostits, 2001).

Aquí entran las diferentes técnicas de reproducción asistida (TRA) que son empleadas para mejorar el potencial reproductivo del hato; mejorando la distribución económica de material genético y también reduciendo el riesgo de transmisión de enfermedades específicas, favoreciendo el almacenamiento indefinido de material genético para futuras generaciones, lo cual es un recurso invaluable para la regeneración de líneas o razas de poblaciones animales e incluso para evitar la extinción de alguna especie (Sharkey, 2001).

Las TRA en general, han abierto una gran posibilidad de trabajo para la profesión veterinaria. En pequeños rumiantes, las técnicas utilizadas incluyen: la sincronización del

estro, ya sea por medio de la alteración del fotoperiodo, la estimulación por el macho o mediante métodos farmacológicos (Pliego, 2005; Córdova-Izquierdo et al., 2008).

Las Inseminaciones Artificiales (IA) se utilizan con el fin de acelerar el proceso genético de un hato; conservar el material genético de animales de alto valor y aumentar el flujo de este (Cueto y Gibbons, 2007; Cueto et al., 2007; Fonseca-Matos, 2009); sin embargo, la mala selección de los animales a utilizar puede traer consecuencias como la consanguinidad y la propagación de enfermedades infecciosas o hereditarias (Sharkey et al., 2001; Aisen, 2004).

Otra de las TRA aplicadas para la producción *in vivo* de embriones en la actualidad es la superovulación y transferencia de embriones o MOET por sus siglas en inglés, que es la principal de las técnicas reproductivas planteadas en los últimos años (López, 2004). El objetivo principal de esta técnica es el aumentar la cantidad de crías obtenidas de hembras de alto valor genético, alcanzando valores diez veces mayores que las tasas de ovulación promedio; logrando así acortar el intervalo generacional, incrementar el avance genético (Cueto y Gibbons, 2010) y el aumento en la presión de selección (Baril et al., 1995).

Esta técnica supone la recuperación del embrión directamente del útero de la hembra valiosa, en el estadio de mórula compacta o blastocito (Forcada, [s.f.]) y la posterior transferencia de estos embriones a hembras sin mucho valor. Estos embriones pueden ser trasplantados frescos, es decir inmediatamente después de ser lavados de la madre; o pueden ser criopreservados (Baril et al., 1995) o vitrificados (Cueto y Gibbons, 2010).

Con respecto a la producción, maduración *in vitro* (MIV) y cultivo *in vitro* de embriones, existen técnicas novedosas, muchas de las cuales todavía están en etapas experimentales; estas requieren la recuperación de oocitos desde los folículos. Dicha recuperación puede realizarse por medio de la aspiración folicular por laparoscopia o

LOPU por sus siglas en inglés. Esta extracción de folículos también puede realizarse por medio de la realización de pequeños cortes sobre la superficie ovárica (en ovarios de matadero). Estos oocitos deben ser madurados para posteriormente pasar a ser fertilizados de manera *in vitro*, técnica conocida como FIV; sin embargo, estas técnicas aún cuentan con bajos porcentajes de éxito (Traldi, 2009).

1.2 Justificación

Desde el año 2000 se ha dado un mayor interés en los productores por establecer rebaños de rumiantes menores (FAOSTAT, 2012), ya que ofrecen nuevas y mejores expectativas de explotación. Esto ha aumentado la demanda de profesionales calificados para aplicar las técnicas de punta que les permitan a los productores a optimizar sus recursos (Pliego, 2005).

Tradicionalmente el manejo clínico de estas producciones era realizado por los mismos productores, debido al bajo valor económico de los individuos y la falta de legislación existente. Sin embargo, la intensificación de la producción ovicaprina ha obligado a una especialización del personal veterinario para el manejo y control de los factores nutricionales, clínicos y reproductivos, ya que estas son las mayores causas de pérdidas económicas en este tipo de producción (Radostits, 2001).

La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de São Paulo (FMVZ-USP), cuenta con un importante departamento de Reproducción Animal (VRA-USP). Este Programa VRA-USP cuenta con cuatro líneas de investigación: entre las cuales está biotecnología de la reproducción.

Mediante esta práctica en el manejo reproductivo de hatos especializados en venta de pie de cría o producción intensiva, se espera contribuir de manera importante en el manejo y mejoramiento reproductivo en fincas oviceprinas en Costa Rica.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

- Adquirir conocimientos teórico-prácticos del área de reproducción aplicadas en las producciones de rumiantes menores, en la USP, Brasil.

1.3.2 Objetivos específicos

- Desarrollar habilidades manuales e intelectuales en diferentes técnicas de reproducción asistida como: inducción de celos, inseminaciones artificiales, superovulación y transferencia embrionaria y aspiración folicular por laparoscopia, utilizados más comúnmente en ovejas y cabras en Brasil.
- Mejorar habilidades en el manejo del ultrasonido (US) y la interpretación de imágenes ultrasonográficas tanto para el diagnóstico de gestación, como para la evaluación de la ecografía testicular y ovárica en oviceprinos.
- Conocer el manejo reproductivo utilizado en diferentes granjas de producción intensiva de ovinos y caprinos.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

La pasantía se llevó a cabo en su totalidad en el estado de São Paulo, Brasil, en las instalaciones de la USP (São Paulo y Pirassununga) y en dos fincas particulares llamadas Sitio Paraíso ubicada en la ciudad de Leme y en la Hacienda Campo Verde ubicada en la ciudad de Jundiaí. Esta abarcó un periodo de 15 semanas y tres días.

2.1 Descripción por lugar de trabajo

2.1.1 VRA-USP Pirassununga

La pasantía estuvo bajo la supervisión de la Dra. Anneliese de Souza Traldi. Esta estancia fue teórico-práctica, ya que la misma incluyó participación en el curso de Reproducción asistida en pequeños rumiantes (Anexo 1).

Entre las actividades realizadas durante este periodo estuvieron: la inscripción y el juzgamiento de cabras de la raza Saanen y Boer de fincas de pie de cría, así como la revisión del manejo reproductivo de las fincas visitadas. También los diagnósticos de gestación, IA, LOPU y MOET; prácticas en el laboratorio de reproducción (clasificación, congelamiento y vitrificación de oocitos; FIV, división *in vitro* (DIV), MIV y clonación).

2.1.2 Hacienda Campo Verde

Esta finca cuenta con su propia fábrica de concentrado, matadero y dos laboratorios para IA o transferencias embrionarias. También con un sector en donde se mantienen el hato raza Santa Inés, criado para producir receptoras de embriones. El área donde se mantiene el hato de razas Dorper y Dorper blanco esta subdividida en parcelas donde se clasifican los animales según su nivel etario, su género y su fin productivo.

El trabajo estuvo supervisado por el Dr. Manoel Claudio Cunha Jr. La metodología de trabajo utilizada es conocida como el método “buen pastor” y consiste en hacer una ronda diaria de 8 am a 12 md por toda la finca revisando los animales en los diferentes confinamientos, revisando desde comportamiento, manejo y patologías.

Por la tarde se realizaron las actividades programadas según el calendario entre ellas: pesaje de corderos, vacunaciones, colocación del microchip, cortes de cola, selección de animales en los diferentes grupos etarios según las características de la raza, ultrasonidos de la capa de grasa dorsal, descornes, diagnósticos de gestación, inseminaciones artificiales, sincronizaciones, detección de celos, colectas de embriones, transferencias de embriones, colectas de semen y cirugías (corrección de prolapso rectales, vasectomías, cesarías y prolapsos uterinos).

2.2 Descripción de las prácticas

2.2.1 Examen reproductivo de las hembras

En las hembras vacías se evaluó con US el aspecto de útero y calidad de ovarios con la técnica transrectal con un transductor lineal de 7,5 MHz o uno de cinco MHz, posterior a un ayuno entre 12 y 24 horas y con la hembra en pie.

En las prácticas de diagnóstico de gestación con US se trabajó verificando la viabilidad, el sexo y la cantidad de los conceptos. Para las gestaciones tempranas (25 a 35 días de preñez); se utilizó la técnica transrectal con un transductor lineal entre cinco y 7,5 MHz. Se verificó la presencia de líquido en útero y, en las hembras con más de 30 días, se buscó la presencia del embrión y del latido cardiaco.

Para las preñeces ubicadas entre los 35 y 60 días, se utilizaron tanto la técnica transrectal como la transcutánea. Se utilizaron tanto transductores lineales como convexos

de tres a seis MHz. Se hizo confirmación de preñez, de viabilidad fetal y se contaron la cantidad de fetos. Estos datos se compararon con los registros existentes o se corrigieron en caso de estar como dudosos en el US anterior.

Finalmente, los US restantes se realizaron en hembras con más de 60 días de gestación, se utilizó la técnica transcutánea, con transductor convexo entre tres y seis MHz. En estos casos se hizo una evaluación fetal completa revisando estructuras como corazón, hígado, caja torácica, compartimentos estomacales, cabeza y extremidades, se realizó el sexado por medio del tubérculo genital o cualquier otra estructura genital externa en preñeces más avanzadas. En algunas hembras entre los 60 y 80 días de gestación, también se realizó conteo fetal para compararlo con los registros anteriores.

2.2.2 Examen reproductivo de los machos

El examen andrológico inició con la revisión de los registros del productor para ver sus parámetros reproductivos (cantidad de montas, última fecha de esta, entre otros). También un examen físico general para determinar la salud del animal, aplomos, malformaciones y condición corporal. Y un examen macroscópico de los órganos reproductores. Se midió la circunferencia escrotal (CE) y se evaluó la consistencia, el desplazamiento, la forma, el epidídimo, el cordón espermático y la temperatura por medio de la palpación de estos. También se revisó el pene y el glande por alguna anomalía o lesión.

Se les practicó ultrasonido en testículos y se les realizó una colecta de semen por medio de vagina artificial o electro eyaculación. Se hizo una evaluación macroscópica de este eyaculado (color, aspecto, volumen, movimiento en masa, densidad y pH), como parte del examen de eficacia reproductiva (Figura 1).

En la hacienda Campo Verde la selección de machos reproductores inicia desde muy jóvenes; los corderos a los tres meses de edad son seleccionados por: CE, condición de aplomos, características de la raza y peso. Además se les realiza ultrasonido en el lomo para ver el porcentaje de grasa dorsal (Figura 2). Estas imágenes son enviadas a la USP para ser analizadas y de ahí son remitidas a la ABCDorper.



Figura 1. Colecta de semen en machos ovinos: (A) colecta por el método de electroeyaculación en Campo Verde, (B y C) observamos colectas con vagina artificial y hembra maniquí, en Campo Verde y en el Sitio Paraíso respectivamente

La selección de machos reproductores se sigue practicando de manera periódica hasta los 18 meses de edad, momento en el cual se les realiza su primer examen andrológico (Anexo 2) y se clasifican como: machos de venta, machos de pista (los que participan de las competencias y se vende semen) o descarte.

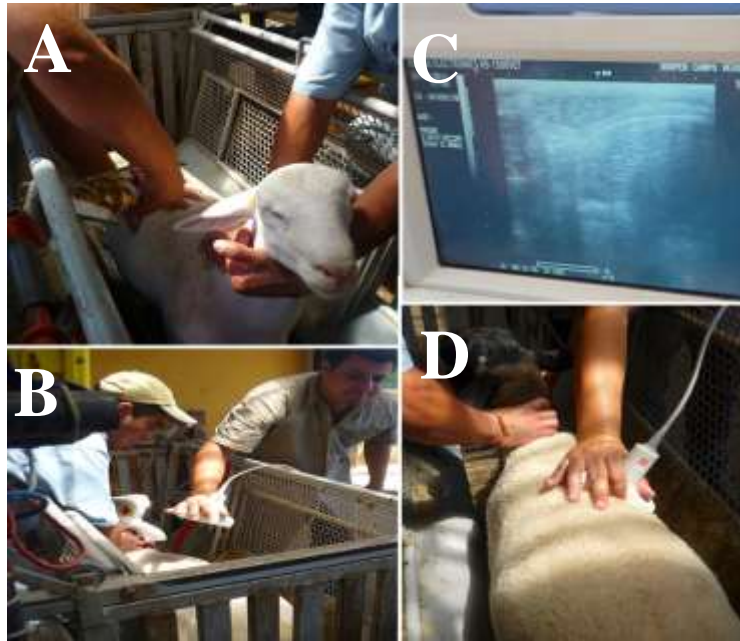


Figura 2. Ultrasonografía de la grasa dorsal en corderos: (A) capa de aceite mineral sobre el pelaje del animal, para minimizar los artefactos producidos por la lana. (B) Sujeción del animal. (C) Imagen del US. (D) La ubicación del transductor es dos dedos por debajo de la última costilla.

A los machos seleccionados como reproductores se les realizan exámenes andrológicos completos una vez al año, y antes de las inseminaciones o el congelamiento del semen se evalúa el aspecto macroscópico de éste y se mantiene un registro para cada macho. Este registro incluye además la forma de colecta: si fue por electroeyaculación o vagina artificial y en este último caso, si fue con hembra maniquí o hembra en celo.

2.2.3 *Técnicas de reproducción asistida*

2.2.3.1 Sincronización de celos

El protocolo farmacológico utilizado para la sincronización de las cabras se muestra en la Figura 3

	09-set	18-set	20-set	21-set	22-set
	Día 0	Día 9	Día 11	Día 12	Día 13
Colocar las esponjas		250 UI eCG (1,2ml de Folligon®)	Retirada de las esponjas	Detección de celos	IA
		+	($\Delta T = 0$ h)	16:00 h ($\Delta T = 24$ h)	10:00 a 12:00h ($\Delta T = 42-44$ h)
16:00 h		75 μ g PGF _{2a} (0,3ml Ciosin®)	16:00 h	Y	16:00 a 18:00h ($\Delta T = 48-50$ h)
		16:00 h		22:00 h ($\Delta T = 30$ h)*	

*Las cabras que no manifestaron el estro a las 30 horas de retirada la esponja deberá hacerse detección de celo a las 8:00h del día siguiente.

ΔT es el tiempo transcurrido desde el momento en que se retiran las esponjas.

Figura 3. Protocolo de sincronización de celos en cabras

Las esponjas en todos los casos de sincronización (tanto cabras como ovejas) fueron rociadas con oxitetraciclina en spray antes de ser colocadas, fueron introducidas por medio de un aplicador y su cordón fue cortado más o menos a dos centímetros, como se observa en la Figura 4.



Figura 4. Colocación de las esponjas Progespon®: aplicador de la esponja siendo colocado (A), la esponja siendo introducida (B), la extracción del aplicador (C), la esponja colocada (D) y por último el cordón recortado (E).

El día 12 se realizó la detección de celos en las cabras sincronizadas, se clasificaron según la hora en que presentó un celo visible y según el tipo de muco: cristalino, opaco o lechoso.

En la práctica de IA realizada en ovejas, el protocolo utilizado es el que se describe en la Figura 5: Protocolo de sincronización utilizado en ovejas

09-set	21-set	22-set	23-set
Día 0	Día 12	Día 13	Día 14
Colocar las esponjas	Retirada de esponjas	Detección de celos	Detección de celo
			08:00h
+	+	20:00h	($\Delta T = 48h$)
0,4 ml Ciosin [®] (100 μ g PGF2 α)	300 UI eCG (1,5ml Folligon [®] o Novormon [®])	($\Delta T = 36h$)	
	08:00h		IA
8:00h	($\Delta T = 0h$)		14:00h a 18:00h
			($\Delta T = 54-58h$)

ΔT es el tiempo transcurrido desde el momento en que se retiran las esponjas.

Figura 5: Protocolo de sincronización utilizado en ovejas

La primera detección de celos en las ovejas sincronizadas para la práctica de IA se realizó el día 13 a las 20:00 h y al día siguiente a las 8:00 h se realizó la segunda detección de celos.

En Campo Verde se utilizaron tres diferentes métodos de sincronización: un protocolo largo con el dispositivo CIDR[®] (Controlled Internal Drug Release), otro largo de 12 días muy similar al usado durante la práctica del VRA-USP con las esponjas y una modificación de este protocolo acortándolo a nueve días y sumado al efecto macho.

Para la detección de los celos se utilizaron machos marcadores, vasectomizados, a los que se les colocó una pechera con crayola marcadora para distinguir las hembras en celo y cada lote de inseminación fue revisado dos veces antes de la inseminación.

2.2.3.2 Inseminación artificial

En cabras las IA se realizaron en dos periodos diferentes del día, de 10:00 a 12:00 con los animales que presentaron celo 24 horas después de retirada la esponja. Y de las 16:00 a las 18:00 en los animales que presentaron celo más de 30 horas después de retirado la esponja.

Se utilizaron la técnicas intracervical y la IU transcervical con semen fresco y semen congelado. El animal se colocó en pie con el tren posterior ligeramente levantado o de cabeza, según la comodidad del inseminador, como se demuestra en la Figura 6

Con ayuda del vaginoscopio se localizó el cérvix, se introdujo el aplicador con la respectiva pajuela y se depositó el semen. Se clasificó el tipo de inseminación conseguida de la siguiente forma: cervical superficial (CS) en las que consiguió atravesar un anillo cervical, cervical media (CM) en los que se consiguió atravesar 2 anillos, cervical profunda (CP) en las que se consiguió traspasar 3 anillos y IU en las que todos los anillos fueron atravesados.



Figura 6. Inseminación Artificial en caprinos:(A y B) las posiciones en las cuales se puede colocar el animal para la inseminación. (C) Inseminación con el aplicador miniaturizado.

La IA en ovejas se inició ese mismo día a las 14:00, con semen fresco por el método de IA exocervical con retracción cervical (Figura 7).

También fueron realizadas con la pistola de inseminación o con el aplicador miniaturizado, en este caso la hembra se colocó con el tren posterior ligeramente levantado, se limpió y se lubricó para introducir el vaginoscopio, luego se introdujo la vaina de inseminación y se giró hasta engancharse en la entrada del útero, ahí se depositó el semen (Figura 8).



Figura 7. Técnica de IA cervical con retracción de cérvix: (A) introducción del espéculo bivalvo para localizar el cérvix, (B) introducción de la pinza Alliz, fijación del cérvix (C) retracción, (D) sujeción con los dedos y (E) posteriormente se introduce el aplicador miniaturizado y se insemina la hembra.



Figura 8. IA intracervical con pistola de inseminación en ovejas: se coloca el vaginoscopio (A), se localiza la entrada del cérvix (B), se introduce la pistola de inseminación por el vaginoscopio (C y D) y a través del cérvix (E) hasta depositar el semen.

Las ovejas que se sometieron a IA intrauterina por medio de laparoscopia con semen congelado, se mantuvieron en ayuno por 24 horas suplementando con 10 ml de Glicopan®. Se revisaron dos pajillas de semen del lote con que se trabajó, asegurándose que su motilidad en masa fuera normal, que el porcentaje de espermatozoides vivos fuera superior al 30% y que la motilidad individual progresiva fuera de al menos un 2,5.

El protocolo de anestesia utilizado fue 0,02 mg/kg de xilazina y 15 mg ketamina/kg dividido en dos dosis, en la primera dosis se aplicaba el total de la xilazina y la mitad de la dosis de ketamina para preparar las ovejas, el resto de la ketamina se colocaba cuando ingresaron al lugar de la IA. (Figura 9)



Figura 9. Preparación para IA por laparoscopia: Primera dosis del coctel (A), se rasó y limpió el área (B), se prepara la hamaca donde se va a colocar el animal (C) y se coloca la hembra y se desinfecta el área con alcohol y yodo (D).

Una vez en la sala de IA, se colocaron en la hamaca a unos 45° con la cabeza hacia abajo, se realizaron dos pequeñas incisiones dos centímetros al lado izquierdo y derecho de la línea media del abdomen y unos cinco centímetros por debajo de la ubre. Del lado

izquierdo se introdujo el tócar de siete milímetros y su respectiva cánula y del derecho el trócar de cinco milímetros y la cánula. Se introdujo aire a la cavidad abdominal halando la piel en repetidas ocasiones. En el primer trócar se introdujo el laparoscopio y el del lado derecho por la pinza Coen para manipular el útero de manera cuidadosa hasta colocarlo en una posición adecuada, luego se introdujo la jeringa de inseminación o Asplic IMV®. Finalmente se suturaban los dos puntos de entrada. (Figura 10)

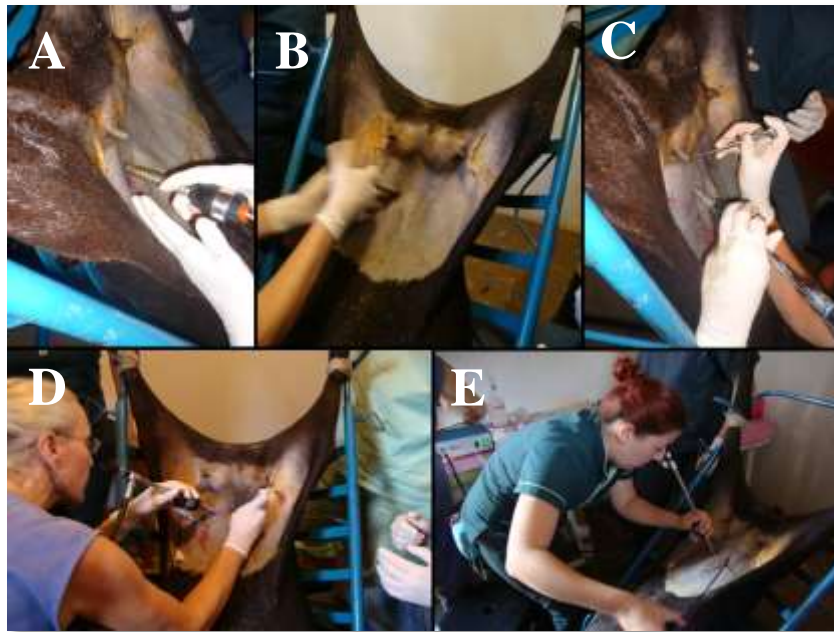


Figura 10. Inseminación artificial por laparoscopia: (A y B) introducción de los tócar (C) se introduce el laparoscopio del lado izquierdo y del lado derecho se acomoda el útero en posición. (D y E) con la pinza Coen se manipuló el útero para colocarlo en una posición correcta para la inseminación.

En la Hacienda Campo Verde las IA se realizaron de rutina dos veces por semana, cuando se utilizó semen fresco se realizó un análisis macroscópico y este fue diluido para obtener una dosis de 0,1 ml con aproximadamente 150 millones de espermatozoides y fue mantenido en baño María. En los casos en los que se utilizó semen congelado las pajillas se descongelaron cinco minutos a una temperatura de 36°C y se vació el contenido en un tubo de ensayo de cristal temperado. De aquí se tomaba una pequeña muestra para observar en el

microscopio y se verificaba: la motilidad en masa, el porcentaje de espermatozoides vivos y la motilidad individual.

A la hora de llevar a cabo las inseminaciones, se ingresaron las hembras en la manga en grupos de cuatro. Se sedaron con Rompun® (Xilazina) vía intramuscular y se colocaron en las hamacas de inseminación. La técnica fue similar a la utilizada en las otras fincas, sus principales diferencias fueron el uso de insuflador de CO₂, y que cada hembra se inseminó dos veces con el mismo semen o pajilla, cada una de estas fue colocada en un cuerno diferente (Figura 11).



Figura 11. IA por laparoscopia: (A) examen macroscópico del semen fresco colectado. (B) Semen colectado, debidamente rotulado (C) pajillas descongelaadas en baño María. (D) Colocación del trocar con el insuflador, (E) y la introducción del laparoscopio y por último la vaina de inseminación.

2.2.3.3 Superovulación y transferencia de embriones

Se trabajó con ovejas de la raza Santa Inés y cabras de la raza Saanen para la superovulación y colecta de embriones. Se utilizaron dos protocolos diferentes aplicados al azar en los diferentes grupos de animales, se pueden observar en la Figura 12 y la Figura 13

8-set	18-set	19-set	20-set	21-set	22-set	27-set	28-set
Día 0	Día 10	Día 11	Día 12	Día CELO	Día 1	Día 6	Día 7
8:00 h	8:00 h	8:00 h	8:00 h			AYUNO	
Esponja (60 mg MAP)	2,0 ml Folltropin®	1,2 ml Folltropin®	0,8 ml Folltropin®	Detección de celos	Detección de celos		Colecta de embriones
+			Retirada de la esponja	1° monta (±12 h)	inicio de las ovulaciones	10 ml Glicopan®	
0,4 ml Ciosin®	20:00 h	20:00 h	20:00 h				
	2,0 ml Folltropin®	1,2 ml Folltropin®	0,8 ml Folltropin® 1,5 ml Novormon® 0,4 ml Ciosin®	2° monta (±24 h)			

Figura 12. Protocolo de Superovulación con Folltropin®

8-set	18-set	19-set	20-set	21-set	22-set	27-set	28-set
Día 0	Día 10	Día 11	Día 12	Día CELO	Día 1	Día 6	Día 7
8:00 h	8:00 h	8:00 h	8:00 h	Detección de celos		AYUNO	
Esponja (60 mg MAP)	1,4 ml Pluset®	0,9 ml Pluset®	0,5 ml Pluset® 1,5 ml Novormon® 0,4 ml Ciosin®	1° monta (±12 h)	Detección de celos		Colecta de Embriones
+			+	2° monta (±24 h)		10 ml Glicopan®	
0,4 ml Ciosin®	20:00 h	20:00 h	Retirada de la esponja		inicio de las ovulaciones		
	1,4 ml Pluset®	0,9 ml Folltropin®	20:00 h 0,5 ml Pluset®				

Figura 13. Protocolo de Superovulación con Pluset®

El día del celo se colocaron los machos celadores con crayola marcadora en el corral y en la tarde las hembras positivas fueron sometidas a monta natural, siete días después de presentado el celo, se hizo la colecta de embriones.

El protocolo de anestesia utilizado para la colecta de embriones el día 28 de setiembre fue el mismo que en las prácticas de IA así como la preparación de las hembras (Figura 9). Se colocaron en un ángulo de 45° cabeza abajo con un campo de plástico previamente desinfectado con una solución de amonio cuaternario.

Se realizó una incisión de cuatro centímetros en la línea alba, cinco centímetros por debajo de la ubre y se expuso el útero y se verificó la cantidad de cuerpos lúteos observados en cada ovario. Luego se realizó una primera punción cerca de la unión útero-tubárica con el catéter de colección de embriones que se colectará en un beaker previamente temperado a 37°C. La segunda punción se realiza a dos centímetros de la bifurcación uterina con una aguja atraumática N° 14, la cual se conectó a una jeringa con 20 ml de PBS modificado, temperado previamente a 37°C para realizar el lavado (Figura 14).

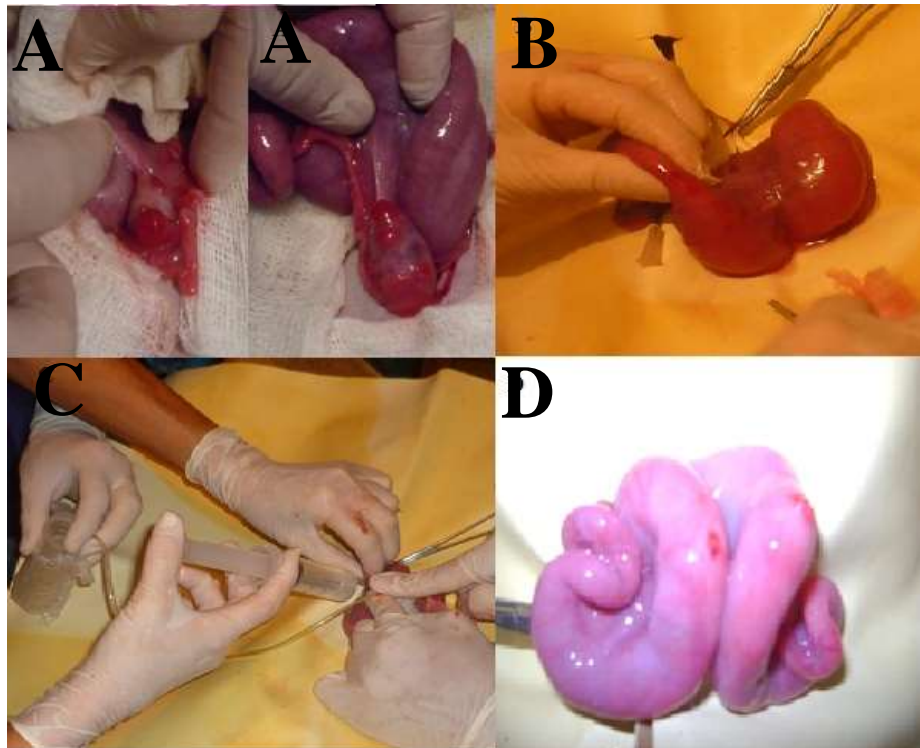


Figura 14. Colecta de embriones: (A) ovarios presentando múltiples cuerpos lúteos e inclusive algunos folículos. (B) También podemos ver las punciones siendo realizadas y (C) el lavado en uno de los cuernos. (D) Al final del procedimiento se observan los puntos de entrada de las agujas.

Este procedimiento se repitió para ambos cuernos uterinos. Al finalizar, antes de regresar el útero a la cavidad abdominal se lavaba con la solución PBS. El contenido de ambos lavados fue colocado en una placa Petri para ser observado en el estereoscopio, seleccionado y clasificado. Los embriones no se transfirieron, sino que se utilizaron para una práctica posterior de congelamiento o vitrificación.

En la Hacienda Campo Verde las prácticas de superovulación y transferencia de embriones se realizaron bajo el método quirúrgico y con anestesia inhalatoria con isoflurano. La inducción de la superovulación en la donante se realizó con una dosis decreciente de eCG o FSH al finalizar el tratamiento con progestágenos (ya fuera con esponjas vaginales de poliuretano o dispositivos plásticos como el CIDR[®]). Tanto en las receptoras como las donadoras se realizó detección de celos con machos marcadores vasectomizados y con crayola. Dicho procedimiento se realizó los días seis y siete posteriores a la fecundación, colectándose cuatro o cinco ovejas por día y transfiriéndose dos o tres embriones a unas ocho receptoras.

La colecta se realizó en las hembras que por medio del laparoscopio se observaron más de 15 cuerpos lúteos. El útero fue expuesto y fue constantemente humedecido con PBS temperado y con 10 ml de Gentamicina por cada litro. Se realizó una primera punción en la unión útero-tubárica con una aguja a traumática y por dicho agujero se insertó una sonda K33. La segunda punción se realizó a unos dos centímetros de la bifurcación uterina y se colocó una sonda Foley para cerrar el paso de contenido y se procedió a realizar los lavados con 20 ml de PBS modificado para extraer los embriones. Seguidamente, se repitió el procedimiento en el otro cuerno, para finalizar, se suturó la herida en pared abdominal.

El contenido fue simultáneamente llevado a un estereoscopio y los embriones fueron contados, clasificados y separados para su inmediata transferencia a la hembra receptora, se

escogieron dos embriones para cada hembra, uno de muy buena calidad y otro de mediana o baja, en caso de ser de baja calidad se sembraron tres embriones. Estos se mantuvieron en una jeringa de un mililitro, con una micropipeta Unopette®.

Por otro lado, para la siembra de estos embriones en las hembras receptoras se utilizó una técnica mixta (quirúrgica y laparoscópica). Se ubicaron los cuernos uterinos por medio de laparoscopia y se identificó el cuerno uterino ipsilateral al ovario con el cuerpo lúteo, luego se realizó una pequeña incisión en línea alba y con una pinza no traumática se exteriorizaba el cuerno, en el que introdujo la micropipeta con los embriones en la luz del cuerno. Para finalizar la herida era suturada y la oveja trasladada a su corral.

2.2.3.4 Aspiración folicular por laparoscopia

Para la aspiración folicular por vía laparoscópica, el protocolo propuesto se puede observar en la

Figura 15.

17-set	25-set	26-set	27-set	28-set	29-set	30-set	01 oct
Día 0	Día 8	Día 9	Día 10				
8:00h	8:00h	8:00h	13:00h	18:00h	12:00h	08:00h	10:00h
Espónja (60mg MAP)	50UI Pluset® (1ml)	50UI Pluset® (1ml)	Tricotomía	FIV*		ayuno de las receptoras	TE
+ 0,4ml Ciosin®	+ 0,4ml Ciosin®	+ 2ml Folligon® (400UI eCG)	Punciones Retirada de las esponjas		DIV*		
	18:00 50UI Pluset® (1ml)	10:00h Ayuno	18:00h MIV*				
		18:00h 50UI Pluset® (1ml)					

* MIV, FIV y DIV se vieron únicamente de manera demostrativa en el Centro de Biotecnología en Reproducción Animal en el Campus de Pirassununga.

Figura 15: Protocolo de superovulación utilizado en la aspiración folicular

El día 10 del protocolo se realizó la aspiración folicular en una hembra. Se colocó en un ángulo 45°, cabeza abajo en la hamaca y se realizó una incisión de cinco centímetros en la línea alba, se expuso el útero y los ovarios y se procedió a aspirar con una vaina de inseminación, conectada a una bomba de aspiración, los folículos uno por uno. Estos a su vez fueron colectados en un beaker plástico temperado y posteriormente fueron introducidos en un filtro miniflush® para separar los óvulos del resto de células.

Al finalizar el procedimiento se le practicó la eutanasia y se extrajeron ambos ovarios a los que también se les practicó una serie de cortes en su superficie y se lavaron con PBS para coleccionar más óvulos. Seguidamente, los óvulos se clasificaron en una escala del uno al cuatro siendo la mejor calidad el número uno.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Examen reproductivo de las hembras

Para la evaluación reproductiva en las hembras no grávidas se trabajó con un total de 86 animales (54 ovejas y 32 cabras). De los animales analizados con el US, en el 100% se pudo ubicar la vejiga, en el 87% (n=75) se logró visualizar el útero y la visualización de los ovarios solamente se pudo hacer en un 24% (n=21) para el ovario derecho y 19% (n=16) para el ovario izquierdo (Figura 16).

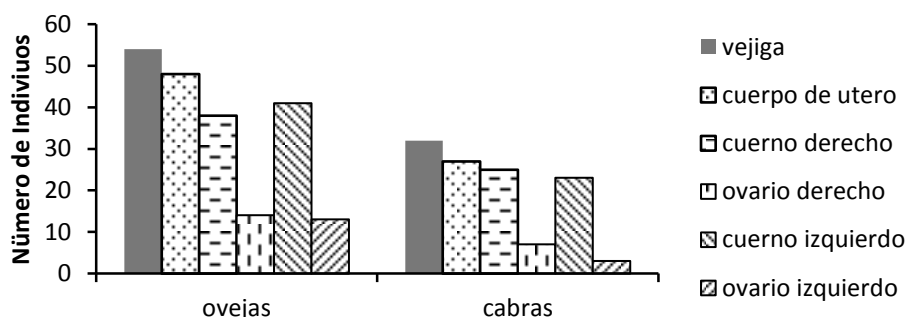


Figura 16. Estructuras visualizadas por medio de US en el examen reproductivo en hembras vacías.

La técnica de sujeción que permite una mejor visualización de las estructuras reproductivas en ovicaprinos es decúbito dorsal (Schatten y Constantinescu, 2004); sin embargo, por razones de bienestar animal para reducir el estrés al que es sometido el animal, es preferible realizar los US en pie (Karen, 2003; Kähn, 2004) como se realizó en las prácticas.

La evaluación reproductiva por US en hembras vacías, ha permitido explorar los aspectos morfológicos del sistema reproductivo de pequeños rumiantes, así como, dar seguimiento a los procesos de dinámica folicular en animales vivos; no obstante, esta no es una práctica muy utilizada a campo, sino para investigación (Schatten y Constantinescu, 2004).

El examen reproductivo en las hembras preñadas se realizó en 39 animales del Sitio Paraíso, en 71 de la USP y en 134 de la Hacienda Campo Verde (Cuadro 1).

Cuadro 1: Cantidad de diagnósticos de gestación realizados por ultrasonido

Periodo de gestación (días)	Ovinos			Caprinos		Total
	SP*	USP**	CV***	SP*	USP	
25 a 35	0	14	60	3	7	84
35 a 60	12	6	74	6	1	99
> 60	14	34	0	4	9	61
Total	26	54	134	13	17	244

***SP: Sitio Paraíso. **USP: Universidad de Sao Paulo. ***CV: Campo Verde.**

El diagnóstico de gestación temprana se realizó en 84 hembras que, según sus registros, se ubicaban entre los 25 y 35 días de preñez, de los cuales 74 fueron ovejas y 10 cabras (Cuadro 1). Estos diagnósticos podrían ser realizados a partir de los 20 días, pero por tratarse de estudiantes y trabajar en un sistema productivo, se prefirió utilizar un rango de edad gestacional de mayor confiabilidad (Wolfgang, 2004).

En el grupo de hembras que va de los 35 a los 60 días de gestación, se trabajó con 92 ovinos y siete caprinos, que incluyó 21 diagnósticos de preñez y 77 reconfirmaciones (Cuadro 1). La mayoría de estas reconfirmaciones fueron realizadas en la Hacienda Campo Verde que contaba con mejor orden y manejo de los registros, que es muy importante en un sistema que implementa una asistencia reproductiva eficiente (Radostis, 2001).

Con gestaciones de más de 60 días de preñez se trabajó con un total de 61 animales (48 ovejas y 13 cabras) (Cuadro 1) y en todos los casos consistieron en reconfirmaciones y evaluaciones fetales. Se tomaron en cuenta la viabilidad fetal, la cantidad de fetos y el sexo de los más maduros. Se evaluaron un aproximado de 335 fetos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Evaluaciones fetales por medio de ultrasonido.

Pruebas realizadas con el US		
Viabilidad fetal	Conceptos viables	297
	Conceptos no viables	12
	En duda	25
Cantidad de embriones por hembra	Uno	118
	Dos	91
	Sin determinar	35
Sexado	Macho	19
	Hembra	11
	Sin determinar	49

La viabilidad fetal se determinó en todas las gestaciones donde el feto fue visible y su latido cardiaco perceptible, más o menos partir de los 30 días de preñez (Wolfgang, 2004), aunque la literatura reporta visualización del latido por US en el piso de la vesícula embrionaria desde el día 16 posterior a la monta (Schatten y Constastinescu, 2007). También se evaluaron aspectos como cantidad de líquido en la vesícula embrionaria, movimiento fetal y órganos del feto de acuerdo con la edad gestacional (Karen, 2003; Wolfgang, 2004).

El sexado de los fetos se realizó en el grupo de hembras de más de 60 días de preñez, para lo que se requiere de entrenamiento (Schatten y Constastinescu, 2007) y de habilidad para maniobrar el transductor. Se lograron determinar 19 machos por medio del reconocimiento del escroto (Cuadro 2), que es una estructura triangular encontrada entre los miembros y en escasas ocasiones se visualizó el prepucio, que es una estructura bilobulada cercana al cordón umbilical. Las hembras por su parte son todavía más difíciles de reconocer por estar el tubérculo genital ubicado cerca de la base de la cola y siendo un área oscurecida por la sombra de esta (Schatten y Constantinescu, 2007), solo 11 hembras pudieron ser reconocidas (Cuadro 2).

Este método de diagnóstico fue escogido dado que permite no solo el diagnóstico de preñez, sino también la determinación de la cantidad de fetos, su viabilidad, el sexo, predicciones de edad fetal y evaluación de la placenta (Karen, 2003; Wolfgang, 2004; Schatten y Constantinescu, 2007). El mayor inconveniente que se tuvo fue el estrés de las hembras durante los US, restringiendo la duración examen.

Otro factor importante a tomar en cuenta es el tipo de transductor utilizado; los lineales de 7,5 MHz, por vía transrectal permiten visualizar gestaciones a una edad más temprana, sin embargo, es preciso dar seguimiento a estos casos debido a posibles reabsorciones embrionarias (Karen, 2003; Wolfgang, 2004). Los transductores de cinco MHz permiten obtener diagnósticos de gestación un poco más tardíos, generando índices de preñez más confiables, lo que concuerda con el método de trabajo de las fincas donde se trabajó.

3.2 Examen reproductivo de los machos

Se trabajó con un total de 19 machos, entre los 12 meses y los cinco años de edad, todos estaban siendo usados como reproductores, tanto en el Sitio Paraíso como en las dos sedes de FMVZ-USP, Pirassununga y São Paulo.

En el examen macroscópico de los machos reproductores, la mayoría (n=17, 89%) tuvo una circunferencia escrotal dentro del promedio (30 centímetros) (Pugh, 2002). Esta característica es muy importante debido a que existe una correlación positiva entre una mayor circunferencia escrotal y una mejor producción espermática (Aisen, 2004); solamente dos machos se encontraron por debajo de esta medida (Figura 17).

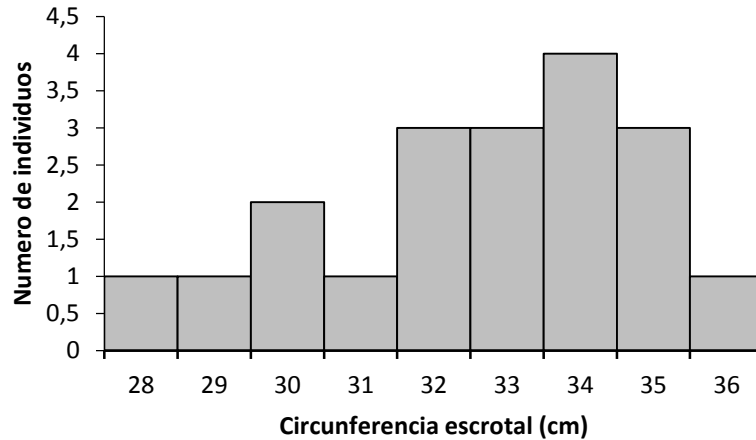


Figura 17. Circunferencia escrotal de los machos evaluados.

Con respecto a los hallazgos macroscópicos de los órganos reproductivos de los machos evaluados (Anexo 3), la Figura 18 evidencia que en un alto número de los machos (n=14, 74%) no se encontraron alteraciones de ningún tipo.

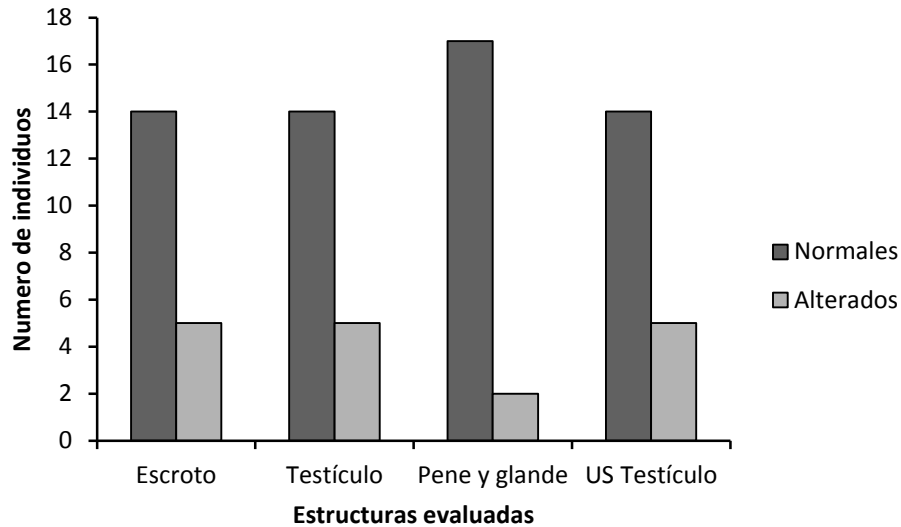


Figura 18. Examen macroscópico de órganos reproductivos de los machos evaluados.

Esta alta prevalencia de machos sin alteraciones fue lo esperado pues el grupo con el que se trabajó era el de los machos actualmente utilizados como reproductores. Y pese a estas alteraciones a todos se les realizó la evaluación completa y no se descartaron en este punto del examen.

Entre las alteraciones encontradas se observaron: asimetrías, las cuales aumentan las probabilidades en los machos de tener problemas de infertilidad por lo que no deberían ser seleccionados como reproductores (Pezzanite, 2009); adherencias en el polo caudal del testículo con calcificaciones en el parénquima testicular vistas por medio del US, lo cual podría deberse a inflamación o infección (Pezzanite et al., 2009), o incluso un granuloma espermático (Pugh, 2002). También hallazgos como suciedad que puede reducir la habilidad de termorregulación del testículo y golpes que pueden producir alteraciones en el parénquima testicular (Rodríguez, 2006)

También se detectó una masa de dos centímetros en un testículo, con respuesta dolorosa a la palpación y evidencia mediante US de un quiste anecoico con sedimento, que podría ser producto de orquitis o un absceso. Y, los hallazgos en pene y glande incluyeron lesiones de tipo ulcerativas, posiblemente causadas por ectima contagioso o parapoxvirus (Pugh, 2002).

La segunda parte del examen andrológico fue la colecta y evaluación de un eyaculado por macho. La mayoría de los machos (n=14, 74%) fueron colectados con vagina artificial a excepción de cinco machos (26%), dos de los cuales tenían lesiones a nivel del prepucio. Los veterinarios se inclinaban más por la colecta seminal con vagina artificial, dado que con la técnica de electro eyaculación se corre el riesgo de una dilución del semen por sobreestímulo de las glándulas anexas o de que este se contamine la muestra de forma accidental con orina. También se reduce la cantidad de extracciones por día de uno a dos mientras que con vagina artificial se pueden realizar de tres a cinco diarias en carneros y de dos a tres extracciones en cabros (Aisen, 2004; Pezzanite et al., 2009).

El análisis del semen se utilizó para poder clasificar a los machos como satisfactorios, sospechosos o insatisfactorios (Anexo 3).

Con respecto al color del eyaculado, el ideal esperado es blanco con un aspecto que varía de cremoso a un lechoso cremoso dependiendo de la concentración espermática, entre más denso o cremoso mayor concentración (Baril et al., 1995; Aisen, 2004). Todas las muestras se observaron de color normal a excepción de una donde los dos primeros eyaculados fueron de un color rosado y por ende descartados (Aisen, 2004). Otros dos machos presentaron eyaculados con un aspecto translúcido relacionado con baja concentración espermática (Baril et al., 1995).

Los volúmenes obtenidos oscilaron entre 0,5 ml a 1,7 ml, estando estos parámetros dentro de los valores normales (Pugh, 2002; Aisen, 2004). El macho que eyaculó el menor volumen presentaba adherencias y calcificaciones en el parénquima testicular, lo cual evidencia atrofia del parénquima y pérdida de la funcionalidad (Pugh, 2002; Pezzanite, 2009).

La motilidad se calificó en una escala del uno a cinco, que se desglosa de la siguiente manera: cinco con una motilidad entre el 100 % y 80 % (excepcionales), cuatro entre 80 % y 60 % (satisfactorios), tres entre 60 % y 40 % (satisfactorios), dos entre 40% y 20 % (sospechosos) y uno con motilidad menor al 20 % (insatisfactorio). Esta clasificación es muy fácil de utilizar, sin embargo, algunos autores la consideran subjetiva (Sharkey et al., 2001 y Arrigo et al., 2007). Durante esta práctica, a los machos que fueron catalogados como sospechosos, se les programó una reevaluación 60 días después, y los machos insatisfactorios fueron descartados.

A los machos analizados en esta práctica no se les realizó examen microscópico, a pesar de ser una parte importante de un examen andrológico completo y en el cual se incluyen pruebas como la concentración espermática, motilidad en masa microscópica, motilidad individual, motilidad progresiva, vigor, y morfología espermática, aspectos que

son de suma importancia para una correcta selección de reproductores (Pugh, 2002; Aisen, 2004 y Pezzanite et al., 2009).

3.3 Técnicas de reproducción asistida (TRA)

Antes de realizar cualquier TRA es importante una buena selección de los animales (Baril et al., 1995; Sharkey et al., 2001; Barceló et al., 2007; Cueto et al., 2007; León, 2008; Cueto y Gibbons, 2010). Se realizaron TRA en un total de 246 animales: 220 ovejas y 32 cabras, con las técnicas de IA (n=222), sincronización de celos (n=244), superovulaciones (n=53), colectas y transferencias de embriones (n=45); en tres diferentes lugares de trabajo: el Servicio de Clínica de la USP, VRA-USP en Pirassununga y en la Hacienda Campo Verde.

3.3.1 Sincronización de celos

Las hembras escogidas para la sincronización fueron 244, con el fin de someterlas a IA posteriormente. De estas 212 fueron ovejas y 32 cabras, de las cuales solo 91,5% (n=194) ovejas y 87,5% (n=28) cabras presentaron celo (Cuadro 3).

Cuadro 3. Población de ovicaprinos sincronizada según el lugar de trabajo

Lugar de trabajo	Ovejas		Cabras	
	Sincronizadas	Celo*	Sincronizadas	Celo*
Sitio Paraíso	8	6	8	4
USP-Pirassununga	14	13	18	18
USP-Sao Paulo	0	0	6	6
Campo verde	190	175	0	0
Total	212	194	32	28

*Todas las hembras que entraron en celo, fueron inseminadas durante la práctica.

En el Sitio Paraíso, no respetaron los tiempos de aplicación de las hormonas y además en las cabras se perdieron algunas de las esponjas intravaginales, por lo que varias hembras no presentaron celos o no fueron muy evidentes (Aisen, 2004).

Los protocolos empleados para la sincronización de los animales se basaron en combinaciones hormonales, a pesar que suelen incrementar los costos de producción (Cuadro 4), debido a que permiten la intensificación de la producción (Baril et al., 1995; Aisen, 2004). Esto se debió a las características y necesidades de cada una de las explotaciones, en la USP el énfasis era la investigación y la docencia, mientras que en Campo Verde era la producción y venta de alta genética; por lo que se justifica el incrementar el gasto con el fin de obtener mejores tasas de preñez (Baril et al., 1995)

Cuadro 4. Comparación entre prostaglandinas y progestágenos para la sincronización de celos en cabras y ovejas

	PROSTAGLANDINAS	PROGESTAGENOS
Función fisiológica	Regresión del cuerpo lúteo, desencadenando una fase folicular.	Función principal es mantener la gestación. Los progestágenos simulan un cuerpo lúteo, inhibiendo la liberación de gonadotropinas, durante el periodo que el implante permanezca en el animal.
Época*	Únicamente durante la estación reproductiva	En estación reproductiva o durante el anestro estacional
Uso	Caprinos: dos inyecciones con un intervalo de 11 a 14 días. Induciendo celo 24 a 72 horas de la segunda aplicación. Ovinos: dos inyecciones con un intervalo de 11 a 12 días. Aunque intervalos de 7 días dan buenos resultados.	Caprinos: de 17 a 21 días con el tratamiento largo y de 10 a 12 con el corto (en conjunto con prostaglandinas). Ovinos: 12 días fuera del periodo sexual. 14 días dentro de este.
Particularidades	Es abortiva	Puede favorecer infecciones bacterianas, o perderse el dispositivo.

*Época del ciclo en donde se puede utilizar el hormonal.
(Córdova-Izquierdo et al., 2008, Schatten y Constantinescu, 2007, aisen, 2004 y Baril et al., 1995)

Los dos grupos de fármacos más utilizados para esta finalidad en pequeños rumiantes son: las prostaglandinas y los progestágenos (Schatten y Constantinescu, 2007; Aisen,

2004; Baril et al., 1995). Las diferencias entre estos fármacos y su aplicación se pueden ver en el Cuadro 4, donde es fácil ver que se complementan.

Con respecto a la detección de celos, en 216 hembras se realizó por medio de machos marcadores vasectomizados (Baril et al., 1995; Aisen, 2004) con una proporción de un macho por cada 20 hembras (Sharkey et al, 2001; Cueto et al., 2007) En seis hembras se realizaron IA a tiempo fijo. La literatura encontrada recomienda el uso del efecto macho para mejorar las tasas de las sincronizaciones (Baril et al., 1995; Sharkey et al, 2001; Aisen, 2004; Cueto et al., 2007)

3.3.2 Inseminación artificial

Se realizaron IA en un total de 28 cabras y 194 ovejas, que presentaron celo con las sincronizaciones realizadas como se puede observar en el Cuadro 3.

En la Figura 19 podemos observar el nivel de penetración conseguido en cabras durante las IA; en esta especie se pudo lograr una penetración CP e inclusive IU en la mayoría de los animales (n=20). Esto se debió sobre todo a sus particularidades anatómicas (Aisen 2004; Gordon, 1997), lo que incrementa la probabilidad de obtener altas tasas de preñez (Baril et al., 1995; Cueto et al., 2007)

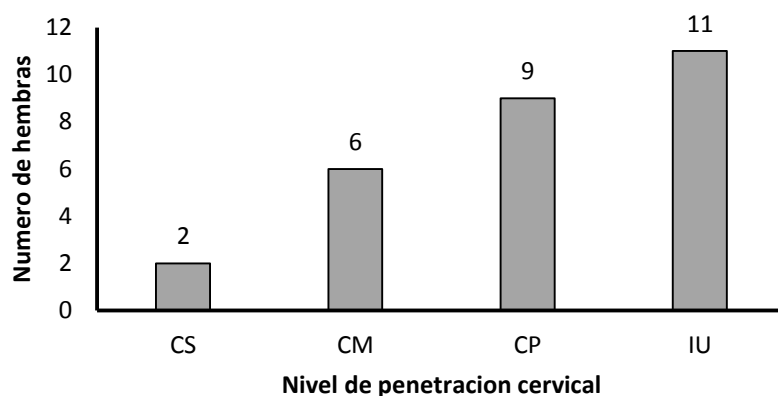


Figura 19. Profundidad conseguida en cabras durante las IA.
(CS: cervical superficial, CM: cervical media, CP: cervical profunda, IU: intrauterina)

Estas técnicas se escogieron por dar buenos porcentajes de preñez y no ser tan exigente en cuanto a materiales y costos, como las técnicas laparoscópicas. La sujeción de los animales utilizada y la descripción del procedimiento corresponden con las técnicas descritas por la literatura (Baril et al., 1995; Cueto et al., 2007; Cordova-Izquierdo et al., 2008).

Por otro lado, en ovejas se realizaron tres diferentes técnicas, la exocervical con retracción del cérvix en una única hembra de manera demostrativa, pues se considera una técnica poco efectiva, dolorosa y que inclusive puede causar infecciones vaginales por la manipulación del cérvix (Córdova-Izquierdo et al., 2008 y Fonseca-Matos, 2009). La técnica intracervical se practicó en 18 hembras, con semen fresco, de forma similar a la descrita en los manuales IA del INTA (2007) o las descritas por Aisen, (2004). Y la técnica IU por vía laparoscópica fue realizada en 177 ovejas; siendo esta última con la que se obtienen las mejores tasas de preñez, y con menores concentraciones espermáticas, como se explica en el Cuadro 5 (Gordon, 1997; Aisen, 2004; Cueto y Gibbons 2007; Cordova-Izquierdo et al., 2008).

Cuadro 5. Comparación entre las técnicas de IA utilizadas en ovejas

Sitio de depósito del semen	Técnicas de IA			
	Vaginal:	Exocervical:	Intracervical:	Intrauterina: transcervical o laparoscópica.
Efectividad	Baja casi nula.	Baja	Media (60 -80 %).	Alta por vía laparoscópica*.
Manejo del semen		Fresco	Fresco	Fresco, refrigerado o congelado
Concentraciones espermáticas (CE)		300x10 ⁶ espermatozoides	(150 -100)x10 ⁶ espermatozoides	(40 -50)x10 ⁶ y (80 -150)x10 ⁶

*La técnica transcervical por disposición anatómica de la oveja no es tan efectiva. Se reporta en algunos casos mayor facilidad a la hora de atravesar el cérvix en celos naturales. (Aisen, 2004; Cueto y Gibbons, 2007; Cueto, et al.,2007; Gordon, 1997)

3.3.3 Superovulación y transferencia de embriones

Las hembras escogidas para la superovulación fueron 53 (50 ovejas y 3 cabras), las cuales fueron inseminadas y posteriormente sometidas a colecta de embriones. Esta colecta fue exitosa en 88% (n=44) ovejas y 33% (n=1) cabras, como se puede observar en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Población de hembras superovuladas vs colectadas según el lugar de trabajo.

Lugar de trabajo	Ovejas		Cabras	
	Superovuladas	Colectadas	Superovuladas	Colectadas
Sitio Paraíso	3	1	1	0
USP-Pirassununga	2	1	2	1
Campo Verde	65	52	0	0
Total	70	54	3	1

En campo verde el protocolo fue de 14 días y en sitio paraíso y UPS fue de 12 días

En la literatura encontrada se reporta mayor éxito en cabras con el uso de protocolos de 10 (Aisen, 2004) u 11 días en cabras (Cueto y Gibbons, 2010) y 14 días en ovejas (León et al., 2008; Aisen, 2004). En ocho hembras en Campo Verde se utilizó dosis decrecientes de eCG (que tiene efecto LH/FSH), en vez de extractos pituitarios de FSH (Folltropin®) que puede dar como resultado folículos anovulatorios y dan resultados inferiores (León et al., 2008; Pliego, 2005; Baril, et al., 1995).

En VRA-USP se llevaron las hembras a monta natural; es recomendado en estos casos que el macho se mantenga con las hembras desde la extracción de las esponjas (Aisen, 2004), sin embargo, en la práctica esto no se realizó. Por su parte en Campo Verde siempre se realizaron IA a tiempo fijo por medio de laparoscopia 12 horas después de la detección de celo, de la misma manera descrita anteriormente; fue en esta finca donde se obtuvieron los mejores resultados y donde el proceso ya está más estandarizado.

Los embriones encontrados fueron clasificados en las cuatro categorías recomendadas por la literatura (uno=excelente; dos=bueno, tres=regular y cuatro=malo), utilizando

criterios como la integridad de la zona pelúcida, esfericidad, grado de desarrollo embrionario y claridad de las células (Cueto y Gibbons, 2010; León et al., 2008; Aisen, 2004; Baril et al., 1995; Forcada [s.f.]). A la hora de la siembra de embriones, estos fueron transferidos de dos en dos.

Se colectaron un total de 795 embriones en 54 hembras ovinas, en promedio 14 embriones por donadora, lo cual es alto según los datos reportados en la literatura, que varía desde cinco según Aisen (2004), 10 según Schatten y Constantinescu (2007) y 13 según Bari y Colaboradores (2001). De estos embriones 51% (n=403) se clasificaron como de excelente calidad, 35% (n=278) embriones de buena calidad y 14% (n=114) embriones de mala calidad. En la cabra colectada se recuperaron 7 embriones, 28,5% (n=2) de excelente calidad, 43% (n=3) de buena y 28,5% (n=2) mala calidad.

El procedimiento varió ligeramente dependiendo del grupo de trabajo, pero ambos fueron congruentes con lo reportado (Cueto y Gibbons, 2010; León et al., 2008; Aisen, 2004; Gordon, 1997; Baril et al, 1995). La mayor diferencia entre los dos lugares de trabajo fue el uso del laparoscopio en Campo Verde lo que se conoce como técnica mixta, en la cual se puede verificar la respuesta superovulatoria, antes de realizar una laparotomía; también permite reducir las secuelas de la manipulación, lo que da una rápida y exitosa recuperación reduciendo las adherencias (Aisen, 2004). Asimismo, se demostró una menor pérdida de los conceptos con el uso de la sonda Foley (Cueto y Gibbons, 2010) en la bifurcación uterina para la colección de los embriones de la Hacienda Campo Verde; esto al comparar el número de folículos ovulatorios observados en las hembras con los embriones colectados.

El mayor reto de la TE radica en la superovulación de las donadoras, debido a la gran variabilidad en los resultados obtenidos incluso con aplicación del mismo tratamiento

(Gordon, 1997; Barceló et al., 2007; Aisen, 2004), su éxito se basa en la elección de las donadoras (León et al., 2008) y se ha demostrado resultados exitosos en la repetición de estos tratamientos (Córdova-Izquierdo et al., 2008). Esto se pudo constatar en el historial de los registros de Campo Verde.

3.3.4 Aspiración folicular

Esta técnica se realizó en una hembra ovina que estaba destinada a matadero, de la que se logró colectar 14 oocitos. Además se colectaron oocitos con otras dos técnicas: por lavado uterino en una hembra caprina se obtuvo 12 oocitos y por rallado de la superficie ovárica, realizado con ovarios de matadero, se recuperaron 19 oocitos.

La técnica de LOPU utilizada en esta práctica fue congruente con la descrito por la literatura (Traldi, 2009; Córdova-Izquierdo et al., 2008). Su uso se restringe debido a lo traumático del procedimiento, a hembras descarte, ya que se provocan adherencias en la superficie del ovario; sin embargo, las calidades de los oocitos obtenidos por aspiración son mejores que las obtenidas por las otras dos técnicas (Schatten y Constantinescu, 2007; Córdova-Izquierdo et al., 2008; Traldi, 2009).

Todos los oocitos se clasificaron en cuatro categorías. Uno: aquellos con ooplasma homogéneo y cúmulo compacto de cuatro a cinco capas celulares (n=9); dos: los que presentaron un ooplasma homogéneo pero solamente dos o tres capas de cúmulo (n=15); tres: los que presentan un ooplasma irregular y un cúmulo ligeramente ampliado (n=13) oocitos y cuatro: oocitos desnudos con ooplasmas irregulares (n=8) (Schatten y Constantinescu, 2007).

4 CONCLUSIONES

1. Esta práctica permitió el fortalecimiento de conocimientos teóricos y el desarrollo de habilidades manuales en procedimientos de mejoramiento genético como IA, MOET y LOPU en pequeños rumiantes, de acuerdo con las particularidades de diferentes fincas y formas de manejo reproductivo.
2. Se desarrolló mayor destreza en el manejo del US, con miras a reducir el tiempo de manipulación para la interpretación de imágenes ultrasonográficas tanto para el diagnóstico de gestación, como para la evaluación de la ecografía ovárica y testicular en ovicaprinos.
3. Se logró la realización de muchas horas de práctica y adquisición de conocimientos sobre manejo productivo diario, incluyendo manejo de animales enfermos, recorte de cascos, cirugías, manejo reproductivo de diferentes tipos de producción intensiva de ovinos y caprinos, entre otros.
4. Esta pasantía permitió ver el manejo intensivo de explotaciones ovicaprinas en Brasil, el cual es muy diferente al de Costa Rica.

5 RECOMENDACIONES

1. La diferenciación de hatos de pie de cría y de producción observada durante la práctica en Brasil, es algo que se debería emular en Costa Rica, ya que esto permite un mejor manejo y mejores prácticas reproductivas según la finalidad de la finca.
2. También se recomienda antes de iniciar los protocolos de TRA garantizarse un buen manejo del hato, pues son técnicas que encarecen los costos de producción y que requieren un buen estatus sanitario y reproductivo antes de iniciar con estos protocolos.

6 REFERENCIAS

- Aisen, E. 2004. Reproducción ovina y caprina. 1ra ed. Intermedica, Buenos Aires, Argentina.
- Arrigo, J; M. Cueto; J, García; A, Gibbons y M. Wolf, 2007. Manual de obtención; procesamiento y conservación del semen ovino. INTA. Bariloche, Argentina.
- Baidar-Khan B., A. Iqbal& M. Iqbal-Mustafa. 2003. Sheep and goat production. Department of Livestock Management, University of Agriculture Faisalabad.
- Barceló, M., F. Rodriguez y A. Achondo. ca. 2007. Manual de transferencia de embriones en ovinos. Fundación PRODUCE y Universidad Autónoma de Chihuahua, Mexico.
- Bari, F., M. Khalid, B. Wolf, W. Haresign, A. Murray y B. Merrell. 2001. The repeatability of superovulatory response and embryo recovery in sheep. *Theriogenology*. 56: 147-155.
- Baril, G., P. Brebion y P. Chesné. 1995. Manual de formación práctica para el trasplante de embriones en ovejas y cabras. FAO, Roma.
- Bianchi, G y G. Garibotto. 2003. [en línea]. Producción de carne ovina. Uso práctico del ultrasonido. Plan Aropecuario. N° 105, 40- 44.
http://www.planagropecuario.org.uy/publicaciones/revista/R105/R105_40.pdf
(Consulta 10 febrero del 2014)
- Córdova-Izquierdo, A., M. Córdova-Jiménez, C. Córdova-Jiménez y J. Guerra-Liera. 2008 [en línea]. Procedimientos para aumentar el potencial reproductivo en ovejas y

cabras. Rev. Vet. 19: 1, 67-79. [http://vet.unne.edu.ar/revista/19-1/Crdova-
Procedimientos%5B1%5D...pdf](http://vet.unne.edu.ar/revista/19-1/Crdova-
Procedimientos%5B1%5D...pdf)(Consulta: 16 jul 2014)

Cueto M. y Gibbons, A. 2010. Manual de Transferencia de embriones en ovinos y caprinos. INTA, Bariloche, Argentina.

Cueto, M. y A. Gibbons. 2007. Inseminación artificial en la especie ovina. INTA. Bariloche, Argentina.

Cueto, M., A. Gibbons y M. Wolff. 2007. Inseminación artificial en la especie caprina. INTA, Bariloche, Argentina.

FAOSTAT 2012 Producción, Ganadería [en línea]. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (Consulta: 12 dic 2014)

Fonseca, A, I. Feitosa, C. Leal, L. da Silva y F. Menezes. 2003. Nematódeos resistentes a anti-helmíntico emrebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. Ciência Rural, Santa Maria, v.33, n.2, p.339-344.

Fonseca-Matos, L. 2009. Inseminação artificial transcervicalem ovinos. 1^{ra} Ed. CPT cursos presenciais. Viçosa, Minas Gerais.

Forcada, F. [s.f.]. Producción in vivo de embriones ovinos: implicaciones de I + D. [en línea] Universidad de Zaragoza, España. <http://www.unizar.es/forcada/Descargas/Curriculum/forcada%20embriones%20puebla.pdf> (Consulta: 16 jul 2014)

- Gordon, I. 1997. Controlled Reproduction in Sheep and Goat. CAB International. Massachusetts, USA.
- Karen, A. 2003. Pregnancy diagnosis in sheep. Tesis doctoral. SzentIstván University, Faculty of Veterinary Science. Üllő, Hungary.
- León, H., H. Ruiz, A. Ruiz y A. Villalobos. 2008. Manual de transferencia de embriones en ovinos. Fundación PRODUCE, Chiapas, Mexico.
- Manual Agropecuario. 2002. Tecnologías orgánicas de la granja integral autosuficiente. Fundación de hogares juveniles. Bogotá, Colombia.
- Pezzanite, L.; A. Bridges, M. Neary & T. Hutchens. 2009. [en línea]. Breeding soundness examinations on rams and bucks. PurdueUniversityCooperativeExtensionService. Indiana, USA <http://www.extension.purdue.edu/extmedia/AS/AS-599-W.pdf> (Consulta 20 febrero del 2014).
- Pliego, G. 2005. Respuesta ovárica a un estímulo superovulatorio con diferentes niveles de FSH en ovinos pelibuey. Tesis profesional y para optar por el título de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Veracruzana, Veracruz, Venezuela.
- Pugh, D (ed). 2002. Sheep and goat medicine. 1st ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia. USA.
- Radostits, O. (2001). Herd health: food animal production medicine. Philadelphia: W.S. Saunders.

- Rodríguez R., T. Mayayo, A. Lennie, E. Sanz, F. Arias y R. García. 2006. [en línea].
Ecografía testicular. Arch. Esp. Urol., 59, 4 (441-454), 2006.
<http://scielo.isciii.es/pdf/urol/v59n4/original12.pdf> (Consulta 24 febrero, 2014)
- Schatten, H & G. Constantinescu (ed). 2007. Comparative reproductive Biology. 1st ed.
Blackwell Publishing. Iowa, USA.
- Sharkey S, Callan RJ, Mortimer R, Kimberling C. 2001. Reproductive techniques in sheep.
Review. FoodAnimPract 17: 435-455.
- Traldi-de Souza, A. 2009. Produção in vitro de embriões de ovinos: uma visão crítica do
método e de seu resultado a campo. R. Bras. Zootec., v.38, (supl. especial).
- Wolfgang K. c2004. Veterinary reproductive ultrasonography. Schlütersche, Hannover.

7 ANEXOS

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

DEPARTAMENTO DE REPRODUÇÃO ANIMAL



CERTIFICADO

Certifico que a acadêmica **NATALIA SAENZ AGUILAR**, graduanda do Curso de Medicina Veterinária da Facultad de Ciencias de La Salud, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Costa Rica, realizou estágio Curricular no Centro de Biotecnologia em Reprodução Animal do Departamento de Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, área de **Biotecnologia da Reprodução Animal**, no período de 05 de setembro de 2011 a 07 de outubro de 2011, perfazendo 232 horas-estágio, com frequência regulamentar nos dias letivos, sob minha orientação.

Pirassununga, 30 de janeiro de 2012.

Andréa Toledo
Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
 Orientadora do Estágio

Av. Duque de Caxias - Norte, 225
 Pirassununga/SP - Brasil
 13635-900

Fone / Fax: +55 19 3565-4080
 +55 19 3565-4235

ANEXO 1

Hoja de horas cumplidas y calificaciones obtenidas.



AVALIAÇÃO E FREQUÊNCIA DO ESTAGIÁRIO

Nome do Aluno: **NATALIA SÁENZ AGUILAR**
 Período do Estágio: **01/11/2011 a 30/11/2011**
 Local do Estágio: **Clinica de Bovinos e Pequenos Ruminantes**
 Nome do Orientador: **Prof. Dr. Fernando José Benesi**

1.1. Aspectos Técnicos Profissionais	NOTAS
A. <u>Rendimento no estágio</u> : qualidade, rapidez, precisão com as quais executa as tarefas.	9,5
B. <u>Nível de conhecimento teórico e prático</u> : conhecimentos demonstrados no cumprimento do programa de estágio, tendo em vista sua escolaridade.	9,0
C. <u>Organização e método no trabalho</u> : uso de meios racionais visando melhorar a organização para o bom desenvolvimento do trabalho	9,0
D. <u>Iniciativa - Independência</u> : capacidade de procurar novas soluções dentro dos padrões adequados.	8,5
E. <u>Aprimoramento</u> : iniciativa em consultar livros e revistas técnicas visando ampliar seus conhecimentos.	9,0
Média (M1) = (a+b+c+d+e):5	9,0

1.2. Aspectos Humanos	NOTAS
A. <u>Assiduidade e pontualidade</u> : constância e pontualidade no cumprimento dos horários e dias de trabalho.	10,0
B. <u>Disciplina</u> : facilidade em aceitar e seguir instruções de superiores e acatar regulamentos e normas.	10,0
C. <u>Sociabilidade e desembaraco</u> : facilidade e espontaneidade com que age frente a pessoas, fatos e situações.	10,0
D. <u>Cooperação</u> : atuação junto a outras pessoas no sentido de contribuir para o alcance de um objetivo comum, influência positiva no grupo.	10,0
E. <u>Responsabilidade e conduta ética</u> : capacidade de cuidar e responder pelas atribuições, materiais, equipamentos e bens da instituição, que lhe são confiados durante o estágio. Comportamento sob o ponto de vista ético.	9,0
Média (M2) = (a+b+c+d+e):5	9,8

Total de Horas: 182 horas Média Final (M1)+(M2):2 9,4
 Obs.: O critério de notas utilizadas varia de 0 (zero) a 10 (dez), sendo 10 (dez) a nota máxima.

Data: 02/12/2011

Assinatura
 Prof. Dr. Fernando José Benesi
 Professor Titular - VCM
 FMVZ/USP
 CRMV-SP nº 1600



Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87
 Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
 São Paulo - SP - Brasil - 05508-270

Fone / Fax: +55 11 3091-1287
 +55 11 3091-1288
 +55-11-3091-1283

ANEXO 2

Examen andrológico completo realizado en la Hacienda Campo Verde.

CERTIFICADO DE EXAME ANDROLÓGICO

IDENTIFICAÇÃO		
Animal:	Tatuagem:	FBB:
Raça:	Especie Ovina	Nasc:
Proprietário: Mário A. de Castro		
Propiedade: Dormper Campo Ven Cidade: Jarinú		

EXAME CLÍNICO					
Prepúcio / Pênis / Bolsa Escrotal :					
Cordão Espermático:					
Perímetro Escrotal:					
Testículos	Direito	Esquerdo	Epidídimos	Direito	Esquerdo
Consistência			Simetria		
Mobilidade			Sensibilidade		
Simetria			Mobilidade		

ESPERMOGRAMA	
Método de Colheita:	Líbido:

CARACTERÍSTICAS FÍSICO - QUÍMICAS	
Volume: (ml)	Aspecto:
Motilidade: (%)	Vigor:
Concentração: x 10 ⁵ / ml	Turbilhão:

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS	
Defeitos Menores	Defeitos Maiores
Cabeça solta normal:	Cabeça estrita na base:
Cabeça pequena normal	Cabeça piriforme:
Cabeça gífante:	Contorno anormal:
Inserção abaxial:	Coloração anormal:
Inserção oblíqua:	Cabeça isolada:
Inserção retro-axial:	Cabeça dupla:
Cauda enrolada:	Gota Proximal:
Cauda dobrada:	Fratura de peça intermediária
Gota citoplasmática distal:	Pseudogota de peça intermediária:
Outros:	Cauda dobrada ou fortemente
	Cauda dobrada con gota:
	Cauda enrolada na cabeça:
	Formas duplas:
	Outros:

Observação:	Data de realização:
-------------	---------------------

ANEXO 3

Examen reproductivo de los machos

Identificación	Examen macroscópico de los órganos			US		Análisis macroscópico del semen				Clasificación
	Observaciones en escroto	Observaciones en testículo	Observación en pene y glande	Testículo	Glándulas	Color/aspecto	Volumen (ml)	Movilidad en masa	Ph	
1-OV-SP	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	Se encontraron	Cre moso	1,7	5	6,5	Satisfactorio
2-OV-SP	Suciedad adherida al pelo, por el largo escrotal	Consistencia elástica, temperatura aumentada	Sin alteración	Parénquima testicular hipoecoico en testículo derecho	Se encontraron	Lechoso	1,2	2	7	Sospechoso
3-OV-SP	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	Se encontraron	Cre moso	1,5	3	6,7	Satisfactorio
4-OV-SP	Sin alteración	Consistencia elástica, temperatura aumentada	Sin alteración	Parénquima testicular ligeramente hipoecoico	Se encontraron	Translucido	1	1	6	Sospechoso
5-OV-USP/PI	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	No se encontraron	Lechoso	1,2	3	6,7	Satisfactorio
6-OV-USP/PI	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	Se encontraron	Cre moso	1	3	6,5	Satisfactorio
7-OV-USP/PI	Asimetría testicular (izq de mayor tamaño que el derecho)	Consistencia tenso-elástica	Lesión a nivel del glande	Escasa vascularización en modo dopler	Se encontraron	Lechoso	1	3	7	Satisfactorio
8-OV-USP/PI	Lesiones en piel	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	No se encontraron	Cre moso ligeramente rosado	1,5	3	7	Sospechoso
9-OV-USP/PI	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	No se encontraron	Lechoso	1,4	4	6,7	Satisfactorio
10-OV-USP/PI	Sin alteración	Consistencia tensa, caliente al tacto	Sin alteración	Sin alteración	Se encontraron	Lechoso	1	2	7,2	Satisfactorio
11-OV-USP/PI	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	Se encontraron	Cre moso	1,4	4	6,7	Satisfactorio
12-OV-USP/PI	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	Se encontraron	Cre moso	1,1	5	6,7	Satisfactorio
13-CA-USP/PI	Adherencias en polo caudal	Consistencia dura	Sin alteración	Calcificaciones en el parénquima testicular	Se encontraron	Translucido	0,5	2	7	Insatisfactorio
14- CA-USP/PI	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	No se encontraron	Cre moso	1,3	4	7,2	Satisfactorio
15- CA-USP/PI	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	Se encontraron	Lechoso	1,5	3	6,7	Satisfactorio
16- CA-USP/PI	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	No se encontraron	Cre moso	1	4	6,5	Satisfactorio
17-CA-USP/SA	Asimetría testicular (izq=redondo / derecho=ovalado)	Masa de 2cm en testículo derecho	Sin alteración	Quiste hipoecoico con pared definida	Se encontraron	Lechoso	1,2	4	6,5	Satisfactorio
18-CA-USP-SA	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Sin alteración	Sin alteración	Se encontraron	Cre moso	1,5	3	6,7	Satisfactorio
19-CA-USP-SA	Sin alteración	Consistencia tenso-elástica	Lesión a nivel de prepucio	Sin alteración	Se encontraron	Cre moso	1	3	6,2	Satisfactorio