



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Estudio de los factores que intervienen en la fertilidad en Inseminación Artificial cervical ovina con semen refrigerado

Study of factors affecting fertility in ovine cervical Artificial Insemination with refrigerated semen.

Autor/es

José Pablo Galbe Traver

Director/es

M. Teresa Tejedor Hernández
Ángel Manuel Macías Lacarta

Facultad de Veterinaria

2016

ÍNDICE

• Resumen y palabras clave	3
• Summary and keywords.....	4
• Introducción	5
• Justificación y objetivos.....	7
• Metodología.....	8
• Resultados y discusión.....	11
• Conclusiones.....	27
• Conclusions.....	28
• Valoración personal.....	29
• Agradecimientos.....	29
• Bibliografía.....	30
• Anexo 1.....	34
• Anexo 2.....	35

RESUMEN

La fertilidad es uno de los principales estimadores del éxito de la inseminación artificial (IA). El presente trabajo es un estudio observacional analítico retrospectivo cuyo objetivo es determinar la influencia que diversos factores ambientales, intrínsecos del animal y relacionados con el manejo de los animales ejercen sobre la fertilidad. Se han considerado registros de campo de 1.336 lotes de IA (12.151 ovejas, 87 ganaderías, 67 machos) recogidos entre 2011 y 2014 por ANGRA (Asociación Nacional de Criadores de la raza Rasa Aragonesa). Las variables cualitativas se analizaron mediante Anova (análisis de varianza) y para las variables cuantitativas se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (r). Se ha obtenido un valor medio de fertilidad/lote (%) de $53,41 \pm 23,634$ (SD). Según un modelo univariante, los siguientes factores influyen de manera significativa ($p<0,050$) en la fertilidad: granja, macho, técnicos de IA y tratamiento hormonal, mes, estación, fotoperíodo, temperatura ambiental, distancia granja-centro de testaje IA, edad de la oveja, condición corporal, manejo alimentario, flushing, intervalo parto-IA, alteraciones en la sincronización, intervalo retirada de esponjas-IA, temperatura de conservación del semen, lugar de la inseminación, sujeción y reposo post IA. El modelo multivariante que incluye todas las variables significativas o de interés explica en total el 36,9% de la variabilidad de la fertilidad. Según este modelo, los factores que influyen significativamente sobre la fertilidad son: año, alteraciones en la sincronización, efectos asociados a la granja, al macho y al técnico que retira las esponjas así como la interacción año*fotoperíodo. El factor granja explica un elevado porcentaje de la variación de la fertilidad (24,1%), seguido por el factor macho (7,3%). Es necesaria una estrecha coordinación entre ganaderos y técnicos para introducir en las explotaciones buenas prácticas de manejo y técnicas de IA, orientadas a alcanzar mejores resultados de fertilidad.

PALABRAS CLAVE: fertilidad, ovino, efecto granja, efecto macho.

SUMMARY

Fertility in ewes is one of the most important estimators of AI (artificial insemination) success. In this retrospective, analytical, observational study, the aim is to establish the influence of several environmental, handling and animal factors on fertility. Field records from 1,336 AI lots (12,151 ewes, 87 farms, 67 rams) recorded through 2011 to 2014 by ANGRA (Asociación Nacional de Criadores de la raza Rasa Aragonesa) were analyzed. Qualitative variables were analyzed by ANOVA (analysis of variance) and Pearson's correlation coefficient (r) was estimated for quantitative variables. Mean fertility/lot (%) was 53.41 ± 23.634 (SD). When using univariate models, significant effects were found for the following variables ($p < 0.050$): farm, ram, technicians for AI and hormonal treatment, month of AI, season, photoperiod, environmental temperature, distance from the testing AI center to the farm, mean age for the ewes in the lot, mean body condition for the ewes in the lot, synchronization disorders, seminal conservation's temperature, IA's place, ewe's fastening and Post-AI resting of the ewe. The multivariate model, including the variables with significant effect on fertility and other variables of interest, explained 36.9% of fertility variance. From the multivariate model, significant effects on fertility were detected for year, farm, ram, technician who retired hormonal treatment, synchronization disorders and year*photoperiod interaction. Farm showed the biggest influence on fertility variance (24.1%), followed by ram effect, explaining 7.3% of fertility variance. Close coordination between farmers and technicians is needed in order to introduce in farms good handling and AI techniques, aimed to reach better fertility results.

KEYWORDS: fertility, sheep, farm effect, ram effect.

INTRODUCCIÓN

La inseminación artificial (IA) es una herramienta indispensable en el campo de la mejora genética, tanto en la etapa de selección y testaje de los moruecos y del semen que se utilizará, como en la difusión de las líneas genéticas mejorantes en las ganaderías (Tejedor et al., 2015; Santolaria et al., 2014). A diferencia de lo que ocurre en otras especies como el porcino o el bovino, la IA no se ha implantado de manera sistemática en ovino y su evolución es más lenta. Esto puede deberse a su difícil aplicación, a unas cifras de fertilidad bajas en comparación con el resto de las especies y a la situación económica adversa por la que atraviesa el sector actualmente (Anel et al., 2006). La técnica de IA ovina más implantada en España por su sencillez y mayor éxito se basa en el uso de semen refrigerado a 15°C y su depósito cervical (López- Sáez et al., 2000; Yániz et al., 2010, 2011).

La valoración del éxito de este procedimiento gira en torno a tres conceptos (Fernández Abella et al., 2006): fertilidad (proporción de ovejas inseminadas que paren), fecundidad (número de corderos nacidos por oveja inseminada) y prolificidad (número de corderos nacidos por parto). El presente estudio se centra en la fertilidad, como estimación del éxito de la IA.

Hoy en día la investigación va encaminada a conseguir una mejora en la eficiencia de la IA, por lo que resulta de vital importancia conocer los factores que afectan a su éxito (Santolaria et al. 2014). Tradicionalmente, se ha dado mucha importancia a factores dependientes de la hembra y del macho, como son la sincronización y detección de celos (Shelton, 1990; Abecia et al., 2011) y la calidad del semen (Santolaria et al., 2015). Sin embargo, el objetivo de este trabajo es valorar la importancia práctica sobre dicho éxito de diversos factores, ajenos al proceso de recogida y preparación del semen propiamente dicho.

Las granjas se diferencian en cuanto al manejo reproductivo, localización geográfica, intervalos destete-cubrición, diferencias estacionales según la localización de la explotación, edad de la primera cubrición, técnica de IA, etc., por lo que el efecto granja tiene gran influencia sobre la fertilidad (Arrebola et al., 2009).

El intervalo entre partos, la estacionalidad reproductiva, el estrés térmico y la nutrición pueden explicar alteraciones en el estado reproductivo de las ovejas, que tienen una destacada influencia en la fertilidad (Fantova et al., 1998; David et al., 2008; Santolaria et al., 2014). La edad y el número de partos de la oveja también influyen sobre la fertilidad (Anel et al., 2005; Paulenz et al., 2007; Esmailizadeh et al., 2009; Fukui et al., 2010).

Las ovejas en condiciones óptimas de condición corporal tienen una salida a celo más rápida y una tasa de ovulación mayor (Keisler y Bukrell, 1997). El flushing, un aumento del plano de alimentación previo al periodo de servicio con la finalidad de estimular la actividad y el tamaño de los ovarios, favorece la fertilidad (Thomson y Bahhady, 1988).

La sincronización del celo y la inducción de la ovulación son dos tratamientos muy utilizados en la especie ovina con el fin de determinar un buen momento para la realización de la IA, lo que repercute en la fertilidad (Jabbour y Evans, 1991; Abecia et al., 2011; Santolaria et al., 2014). Otro de los factores a tener en cuenta es la pericia del técnico que realiza la IA, así como la colocación y retirada de esponjas vaginales con progestágeno, ya que puede ser una fuente de variación importante en el resultado de la IA (Anel et al., 2005). Existen indicios de que la nutrición o el manejo estresante de las ovejas durante el proceso de IA pueden producir un descenso de la tasa de fertilidad o incluso un aumento de las muertes embrionarias precoces (Gordon, 1997).

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El presente trabajo surge de una estancia de prácticas voluntarias en ANGRA (Asociación Nacional de Criadores de la raza Rasa Aragonesa) desde el 1 de mayo de 2015 hasta el 31 de julio de 2015. Durante este período de tiempo, este alumno participó en múltiples procesos de inseminación artificial (IA) con los veterinarios D. Ángel M. Macías Lacarta y D. Adolfo Laviña Gómez, por lo que conoce de primera mano todo el proceso. Asimismo, este alumno tuvo acceso a los diversos ficheros y programas de gestión del libro genealógico de la Rasa Aragonesa. Por lo tanto, a la hora de escoger tema para el Trabajo Fin de Grado, se decantó por una materia con la que estaba familiarizado. Por otra parte, ANGRA, que lleva un registro exhaustivo desde 1990 de los datos productivos resultantes de las IA realizadas, tiene especial interés en revisar los parámetros que intervienen en la valoración del éxito de la IA y su variación a lo largo del tiempo; de ahí su interés en el conocimiento de dichos parámetros en el intervalo 2011-2014. En el éxito o fracaso de este procedimiento están en juego grandes oportunidades a nivel productivo y económico, además de potenciar el desarrollo y fomento de una de nuestras razas autóctonas por excelencia.

Dicha estancia en prácticas supone la primera fase de este trabajo, consistente en la visita a las explotaciones integradas en ANGRA y la recogida sistemática de los datos que ANGRA dispone sobre las mismas. Los resultados obtenidos en las etapas de análisis estadístico de los datos y la elaboración de conclusiones se recogen en la presente memoria.

El objetivo principal del presente trabajo es estimar en el periodo comprendido entre 2011 y 2014 la fertilidad en IA vaginal exocervical ovina con semen refrigerado y valorar la importancia práctica sobre la misma de diversos factores ajenos al proceso de recogida y preparación del semen propiamente dicho. En esencia, se pretende la elaboración de un trabajo original y con una perspectiva global del proceso de IA.

Otro de los objetivos del trabajo ha sido el de potenciar la capacidad de síntesis y gestión de datos por parte del alumno, a través del manejo de los distintos programas que han sido facilitados tanto por parte de la asociación ANGRA, como por parte de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza.

METODOLOGIA

A lo largo de los años 2011-2014, se ha trabajado con 1.336 lotes de inseminación, lo que supone un total de 12.151 ovejas, pertenecientes a 87 granjas, y se han utilizado 67 machos de inseminación (ver Tabla 1). El presente trabajo es un estudio observacional analítico retrospectivo sobre la fertilidad/lote y los factores que le afectan.

Tabla 1. Distribución de los lotes y ovejas considerados. N: número de lotes.

Variable	N	Media ± SD	Mínimo	Máximo
Lotes/granja	87	15,36±13,447	2	86
Ovejas/lote	1336	9,04±4,948	1	34
Ovejas/macho	67	181,36±173,85	1	636

Para la sincronización del celo y la inducción de la ovulación, se realizó un tratamiento hormonal basado en la aplicación de esponjas vaginales (20 mg de progestágeno sintético/ esponja) durante 12-14 días. Así se incrementaron los niveles de progestágeno en la oveja hasta alcanzar los niveles de una fase luteal natural. Cuando se retiró la esponja, se administró una inyección de PMSG (Pregnant Mare Serum Gonadotropin, 480 UI) por vía intramuscular; la bajada de progestágenos subsiguiente junto con la acción FS (folículo estimulante) de la PMSG provocan la ovulación (Abecia et al. 2011).

La calidad de los eyaculados se evalúa habitualmente en Rasa Aragonesa a partir de los siguientes parámetros clásicos, de acuerdo con Ollero et al. (1998): motilidad individual progresiva, volumen, concentración, respuesta al test de endosmosis -HOS-test- y viabilidad. En un futuro está previsto incorporar a esta valoración nuevas técnicas (Casao et al. 2015) con mejor poder predictivo de la capacidad fecundante de los espermatozoides, así como de los posibles daños que estos pueden sufrir en el proceso de elaboración y manejo de las dosis (estado de capacitación, porcentaje de espermatozoides apoptóticos, determinación de la actividad mitocondrial o la citometria de flujo).

El instrumental para IA utilizado por los veterinarios de ANGRA ha sido el siguiente:

- Vaginoscopio de pico de pato, con una fuente de luz incorporada, que facilita una correcta visualización y localización de la entrada del cérvix.
- Inyector o catéter de inseminación, donde se colocan las pajuelas para depositar el semen.

-Vainas de plástico, de un solo uso, con las que se cubre el inyector.

- Algodón y alcohol con el que desinfectar el material entre un animal.

- Vaseline para facilitar la entrada del especulo sin causar molestias al animal.

Para la sujeción de los animales se pueden utilizar los amarres de la sala de ordeño, aunque también se puede sujetar a los animales cabeza abajo elevando su tercio posterior sobre una barra (over the rail) o bien potros diseñados para este uso. En la manga de manejo se pueden colocar los animales sobre la barra lateral de la misma. Es importante que los operarios realicen la operación con firmeza, manteniendo la cadera de la oveja recta.

El protocolo para IA utilizado por los veterinarios de ANGRA ha sido el siguiente:

1. Limpieza de la vulva, evitando el uso de productos espermicidas.
2. Introducción del vaginoscopio hasta el fondo de la vagina, con las valvas cerradas y paralelamente a los labios de la vulva. Después, se efectúa un giro de 90 grados y se abren las valvas del especulo para localizar el cervix mediante movimientos laterales del vaginoscopio. Si en este momento se aprecia orina o excesivo moco se procede a su eliminación y se realiza la inseminación de este animal al final del lote. En caso de vaginitis, mucosidad u olor extraño no se debe proceder a la IA.
3. Localizada la entrada al cervix, se introduce el inyector lo más profundamente posible, sin efectuar maniobras bruscas que produzcan daño al animal. Estas lesiones pueden provocar la salida de sangre y la actuación de células de defensa que atacan al semen.
4. Deposito del semen de forma lenta, evitando el choque brusco sobre las paredes del canal y el reflujo. El semen utilizado para las IA de los lotes, se aplicó mediante pajuelas de 0,25 ml.
5. Retirada del especulo en la posición en que se introdujo.
6. Recogida de los datos de la inseminación.

De los archivos generales de ANGRA se han obtenido los siguientes datos:

-Granja, macho, inseminador y técnico en colocación y retirada de esponjas: se consideran como factores aleatorios.

-Características ambientales físicas que rodean el proceso de la IA (variables cualitativas, factores fijos): año, mes (posteriormente agrupados en estación y fotoperiodo), temperatura ambiental y distancia granja-centro de testaje de IA.

-Características intrínsecas de las ovejas analizadas (variables cualitativas, factores fijos): edad, condición corporal.

-Características relacionadas con el manejo (variables cualitativas, factores fijos): tratamiento sanitario (sangrado, vacunación o desparasitación un mes antes de IA), esquileo, cambio de alojamiento, manejo alimentario, flushing.

-Variables cualitativas que recogen las circunstancias previas a la IA (factores fijos): intervalo parto-IA, intervalo destete-IA, alteraciones en la sincronización.

-Variables cuantitativas que recogen las circunstancias previas a la IA: concentración espermática, intervalo retirada de esponjas-IA, dosis del tratamiento hormonal, tiempo de tratamiento con esponjas.

-Condiciones en que se desarrolla la IA (variables cualitativas, factores fijos): intervalo elaboración de la dosis-IA, temperatura de conservación de la dosis, lugar, comportamiento animal, ambiente, sujeción durante la IA, ayuda al inseminador durante la IA, reposo del animal post-IA.

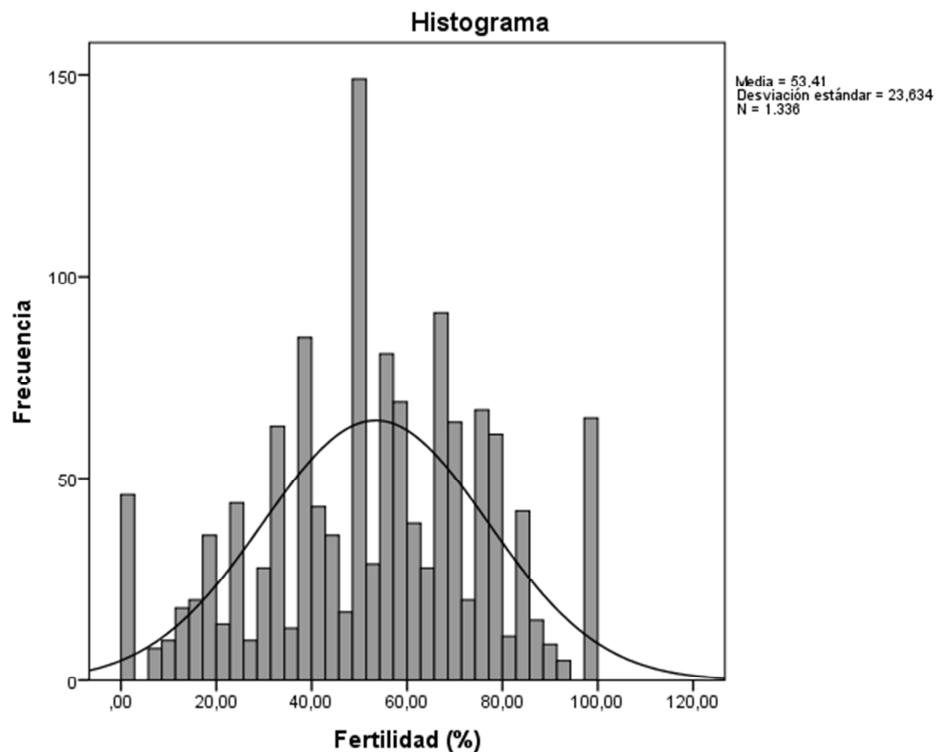
Las categorías de las diversas variables cualitativas aparecían ya en los archivos de ANGRA y se muestran en las tablas 4 a 7 y 9 y 10, de forma que se desconoce tanto el valor mínimo observado en las categorías inferiores como el máximo alcanzado en las categorías superiores. En estas tablas aparecen también las agrupaciones realizadas para una mejor interpretación de los resultados.

El programa IBM ® SPSS ® versión 22 permite describir las variables consideradas (media, desviación típica -SD-, máximo y mínimo, histogramas y diagramas de líneas) y realizar análisis uni y multivariantes. Para las variables cualitativas se utilizó el Anova (análisis de varianza) y para las variables cuantitativas se calculó el coeficiente de correlación de Pearson (r). La asociación entre distancia granja–centro de testaje de IA y temperatura de conservación de la dosis se ha analizado mediante Chi cuadrado de Pearson. Cuando se detectaron efectos significativos de alguna variable cualitativa sobre la fertilidad (grado de significación $p < 0,050$), se aplicaron comparaciones múltiples (HSD Tukey: test de la diferencia significativa honesta de Tukey) y contrastes *a posteriori*. Las variables con efecto significativo sobre la fertilidad, junto con algunas variables de interés, se integraron en un Anova general, multivariante, que incorporó factores aleatorios y fijos, interacciones entre éstos y covariables. El tamaño del efecto de las variables significativas en el Anova se estimó mediante eta² (porcentaje de la variabilidad total de la fertilidad explicado por la variable en cuestión) y la diferencia de las medias entre las categorías de los factores, con su correspondiente intervalo de confianza al 95%. Los conceptos subyacentes a este análisis estadístico han sido descritos por Petrie y Watson (1999).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha obtenido un valor medio de fertilidad/lote (%) de $53,41 \pm 23,634$ (SD). La figura 1 muestra el correspondiente histograma.

Figura1. Histograma de frecuencias (absolutas) para los valores de fertilidad/lote.



La media de fertilidad/lote obtenida durante la secuencia temporal estudiada (2011-2014) es superior a las de otros estudios realizados con procedimientos similares, sobre la misma raza, en una distribución geográfica similar a la que se ha realizado en este estudio. Entre 2000 y 2010, la fertilidad registrada por ANGRA fue de 44,9% (Tejedor et al., 2015). Un valor similar (45%) fue encontrado por Abecia et al. (2016a). La mejora de la fertilidad a lo largo del tiempo podría deberse a la implantación de mejores protocolos en IA.

La tabla 2 muestra los resultados obtenidos teniendo en cuenta las variables consideradas como factores aleatorios. Todas estas variables mostraron un efecto significativo sobre la fertilidad.

Una de las fuentes de variación de la fertilidad más importantes en ganado ovino es la granja (Anel et al. 2005; Santolaria et al., 2014). Esta variable engloba multitud de factores como el acondicionamiento y las instalaciones de la explotación, el manejo alimentario, el manejo y los calendarios reproductivos, etc... También es de gran importancia la variable

macho (Santolaria et al., 2015), que engloba múltiples factores que no ha podido tenerse en cuenta por falta de información en los archivos consultados (motilidad individual progresiva, volumen, concentración, respuesta al test de endosmosis -HOS-test- y viabilidad). Sin embargo, los controles de calidad realizados por ANGRA garantizan que todos los machos usados cumplen los mínimos habitualmente establecidos (Casao et al., 2015). Por otra parte, la pericia del técnico que realiza la inseminación puede ser una fuente de variación importante en el resultado de la IA. Los índices de penetración cervical vienen determinados por la habilidad y la técnica del operario, por lo cual, la implantación de programas de formación resulta altamente recomendable (Gordon, 1997; Anel et al., 2005). Un manejo adecuado en la aplicación y retirada del tratamiento hormonal (esponjas) puede suponer la diferencia entre unos datos de fertilidad óptimos y una IA fallida; por lo tanto en las ovejas en las que se va a realizar IA, el manejo por parte de los técnicos debe ser especialmente cuidadoso, si se quieren evitar pérdidas en la tasa de fertilidad (Folch et al., 2007).

Tabla 2. Estadística descriptiva de la fertilidad (%) y grado de significación (p) respecto a los factores aleatorios (granja, macho, inseminador y técnico en colocación y retirada de esponjas). N: número de lotes.

Variable	N	Media ± SD	Mínimo	Máximo	p
Fertilidad/Granja	87	50,98±15,959	7,57	87,62	<0,001
Fertilidad/Macho	67	54,75±10,749	27,27	100	0,015
Fertilidad/Inseminador	10	50,22±9,048	38,23	61,88	<0,001
Fertilidad/Técnico coloc. Esponjas	19	51,08±9,382	33,44	73,59	<0,001
Fertilidad/Técnico retirad. Esponjas	21	50,44±11,609	27,45	52,45	<0,001

Las tablas 3 y 4 muestran los resultados obtenidos teniendo en cuenta las variables que recogen las características ambientales físicas que han rodeado el proceso de la IA.

Como se observa en la tabla 3, se han detectado efectos significativos del mes, la estación y el fotoperíodo sobre la fertilidad. La dispersión de los valores de fertilidad considerando los meses o su agrupación en estaciones, no ha permitido que las comparaciones múltiples a posteriori detecten diferencias significativas entre todas las parejas posibles de meses individuales o estaciones. Por esta razón y para facilitar la interpretación de resultados, se han agrupado los meses en fotoperíodos, con clara ventaja del fotoperíodo decreciente. Otros estudios coinciden en señalar el efecto altamente significativo de la estacionalidad en la fertilidad de las ovejas en IA (Forcada, 2010; Palacios y Abecia, 2015). Esta agrupación en

fotoperiodos se utilizará en el Anova global. Aunque el fotoperiodo es el principal efecto ambiental responsable de la estacionalidad en la reproducción, la presencia de machos sexualmente activos inducidos con melatonina podría reducir el anestro estacional en ovejas, aumentando la actividad ovulatoria en primavera (Abecia et al., 2015). Sin embargo, este posible efecto no ha sido tenido en cuenta en el presente trabajo.

Tabla 3. Estadística descriptiva de la fertilidad/lote (%) y grado de significación (p) respecto a los factores fijos año, mes, estación y fotoperiodo. N: número de lotes.

Variable	N	Media ±SD	p
Año			0,318
2011	340	54,21±23,224	
2012	443	51,76±23,284	
2013	306	54,73±23,859	
2014	247	53,63±24,494	
Mes			<0,001
Enero	29	51,19±19,809	
Febrero	15	52,77±18,280	
Marzo	143	45,50±23,356	
Abril	109	56,90±20,3011	
Mayo	87	48,44±23,646	
Junio	135	53,14±25,207	
Julio	265	53,34±26,265	
Agosto	176	55,05±21,027	
Septiembre	99	64,64±17,489	
Octubre	71	59,73±22,195	
Noviembre	87	58,54±21,587	
Diciembre	120	48,61±25,253	
Estación			<0,001
Invierno	187	46,96±22,535	
Primavera	331	51,92±23,482	
Verano	540	55,97±23,549	
Otoño	278	54,56±23,881	
Fotoperiodo			<0,001
Decreciente (Jul- Dic)	818	55,49±23,657	
Creciente (Ene-Jun)	518	50,13±23,245	

En la tabla 4, se aprecia que no se ha detectado un efecto significativo de la temperatura ambiental sobre la fertilidad, debido al bajo número de lotes inseminados a <5°C. Por ello, se han agrupado las temperaturas, de forma que se aprecia que a partir de 26°C la fertilidad es significativamente mayor. Es de destacar que no se conoce la temperatura máxima que se ha alcanzado en el momento de la IA en el periodo de tiempo considerado. El clima tiene una

importancia muy alta en la vida reproductiva, con un efecto altamente significativo de la temperatura sobre la fertilidad; diversos estudios han encontrado resultados similares a los de este trabajo, tanto en ganado bovino (Collier et al., 2011) como en ovino (Abecia et al., 2016a). Por otra parte, existe una cierta controversia acerca del impacto de las altas temperaturas (por encima de 30 °C) sobre la fertilidad; la fase luteal podría no ser muy sensible al estrés térmico, en contraposición a los efectos que este estrés pueda tener durante la fase folicular (Mendoza et al., 2009; Santolaria et al., 2014). De acuerdo con Santolaria et al. (2014), la raza Rasa Aragonesa, distribuida en la comunidad autónoma de Aragón, con unas temperaturas elevadas en verano, tiene una gran capacidad de adaptación a estas condiciones, de forma que no se ven afectados de manera drástica sus resultados reproductivos.

Tabla 4. Estadística descriptiva de la fertilidad/lote (%) y grado de significación (p) respecto a los factores fijos temperatura y distancia granja-centro de testaje de IA. N: número de lotes.

Variable	N	Media ±SD	p
Temperatura ambiental			0,056
<5°C	31	48,34±17,041	
6-25°C	671	52,07±23,672	
≥26°C	607	54,86±24,025	
Temperatura amb. (agrupada)			0,025
≤ 25°C	702	51,90±23,422	
≥26°C	607	54,86±24,025	
Distancia granja-centro IA			<0,001
≤20Km	25	54,21±23,048	
21-50Km	211	48,16±23,617	
51-100km	532	51,78±23,686	
101-150 Km	449	56,72±23,718	
≥151Km	92	56,61±22,060	
Distancia granja-centro IA (agrupada I)			<0,001
≤ 20 Km	25	54,21±23,048	
21-100 Km	743	50,75±23,707	
≥ 101 Km	541	56,70±23,424	
Distancia granja-centro IA (agrupada II)			<0,001
≤100km	768	50,86±23,679	
≥ 101km	541	56,70±23,424	

Se ha detectado un efecto significativo sobre la fertilidad de la distancia granja-centro de testaje de la IA. De nuevo, la dispersión de los valores de fertilidad dificulta la realización de comparaciones múltiples *a posteriori*. Por esta razón y para facilitar la interpretación de

resultados, se han agrupado las distancias de dos formas distintas (I y II). Las diferencias más claras se obtienen con la agrupación II; a partir de 101 km la fertilidad aumenta. Esta agrupación se utilizará en el Anova global. Este sorprendente resultado tal vez pueda explicarse por un mayor esmero en el transporte de las dosis de semen, cuando se debe recorrer distancias más largas.

Santolaria et al. (2011) observaron diferencias notables en la tasa de fertilidad en explotaciones en las que se habían implantado técnicas de IA y manejos similares, por lo que concluyeron que las diferencias geográficas producían variaciones en la tasa de fertilidad. En este trabajo, las diferencias geográficas están consideradas únicamente como distancia al centro de IA (centro de testaje del semen).

La tabla 5 muestra los resultados obtenidos teniendo en cuenta las variables que recogen las características intrínsecas de las ovejas analizadas.

Tabla 5. Estadística descriptiva de la fertilidad/lote (%) y grado de significación (p) respecto a las características de la oveja (factores fijos: edad, condición corporal). N: número de lotes.

Variable	N	Media ±SD	p
Edad lote			<0,001
0-2 años	12	60,19±20,970	
3-4 años	521	57,71±23,916	
5-6 años	754	50,29±23,163	
≥7 años	7	73,72±18,121	
Edad lote (agrupada)			<0,001
≤ 4 años	533	57,76±23,839	
≥5 años	761	50,51±23,221	
Condición corporal			0,001
0-2,49	74	45,04±23,038	
2,50-3,49	1164	53,46±23,795	
≥ 3,5	67	59,88±21,408	
Condición corporal (agrupada)			0,002
≤2,49	74	45,045±23,038	
≥ 2,50	1231	53,81±23,709	

Se detectan efectos altamente significativos de la edad y la condición corporal. Por las razones anteriormente indicadas, de nuevo se agrupan los valores de edad y condición corporal; edades ≤ 4 años y condiciones corporales ≥2,50 muestran fertilidades significativamente superiores. Las variables edad y condición corporal agrupadas se incluyen

en el Anova global. Se ha comprobado que pesos vivos elevados al inicio de la pubertad, tienen como consecuencia una ovulación superior al inicio de la pubertad (Forcada et al., 1991). Asimismo, una alimentación y un nivel energético adecuados pueden reducir los días no productivos de las ovejas, ya que pueden acortar el anestro estacional (Forcada et al., 1991). Ovejas en condiciones óptimas (buena condición corporal, nutrición adecuada y plano de alimentación óptimo) tienen una salida a celo más rápida y una tasa de ovulación mayor (Keisler y Bukrell, 1997). La condición corporal óptima de un ejemplar reproductor se ha situado aproximadamente entre el 2,5 y el 3,0 (Forcada et al., 1992), lo que concuerda con los resultados obtenidos.

En cuanto a la edad óptima para la realización de la IA, Colas et al. (1973) situaron las mayores tasas de fertilidad en la franja de 3-5 años. Gaviña y Folch (1987) indicaron que se produce una fuerte caída de la fertilidad a partir de los 4 años de edad, situando la franja de fertilidad más elevada entre los 1,5 y los 4,5 años. Fantova et al. (1998) propusieron que el grupo de edad óptimo para la realización de la IA está entre los 2 y los 5 años. En este sentido, Alabart et al. (2002) detectaron que las mayores tasas de fertilidad correspondían a animales de 3 años, mientras que las reproductoras situadas en el intervalo entre 2 y 5 años presentaban tasas de fertilidad superiores al 50%. Un factor estrechamente relacionado con la edad es el número de partos anteriores de la oveja; en este sentido, las primíparas tienen unas medias de fertilidad inferiores a las de las ovejas multíparas (Santolaria et al., 2014). El dato sobre número de partos no estaba disponible en los ficheros utilizados; los lotes se formaban atendiendo más a la edad y a la conformación corporal que al número de partos.

La tabla 6 muestra los resultados obtenidos teniendo en cuenta las variables relacionadas con el manejo. Se han detectado efectos altamente significativos del manejo alimentario y del flushing. En el caso del manejo alimentario, la agrupación de categorías responde a la necesidad de conocer la influencia de tres niveles claramente diferentes de aporte nutricional. Las comparaciones múltiples mostraron que la fertilidad es significativamente menor en pastoreo de baja calidad, mientras que no se detectaron diferencias significativas entre los otros pastoreos y la estabulación. Por otra parte, la fertilidad fue significativamente mayor en caso de flushing, sin que se detectaran diferencias entre flushing normal y acusado.

Abecia et al. (2015) indicaron que planos bajos de alimentación durante la superovulación y el desarrollo embrionario temprano reducían el número total de embriones viables. Folch et al. (2007) demostraron que se puede introducir el flushing en estabulación

con buenos resultados, toda vez que el resto de necesidades nutricionales de la oveja estén cubiertas. El éxito de esta suplementación cuando la alimentación está basada en el pastoreo, depende de la cantidad y de la calidad del mismo; las ovejas con un acceso al pasto más constante presentaron tasas de ovulación superiores, por lo que es muy importante a la hora de obtener resultados reproductivos óptimos que el pasto se adegue al tipo de suelo y clima de la zona donde se siembre. Se aconseja la realización del flushing por lo menos durante las tres semanas previas a la cubrición, con el fin de aumentar fertilidad y prolificidad y su mantenimiento, y durante un mínimo de tres semanas posteriores a la realización de la IA, con el objetivo de evitar posibles pérdidas embrionarias (Folch et. al., 2007).

Tabla 6. Estadística descriptiva de la fertilidad/lote (%) y grado de significación (p) respecto a las características del manejo (factores fijos: tratamiento sanitario, esquileo, cambio de alojamiento, manejo alimentario, flushing). N: número de lotes.

Variable	N	Media ±SD	p
Trat. Sanitario			0,258
Sin tratamiento	1234	53,55±23,882	
Con Tratamiento	66	50,16±21,423	
Esquileo			0,286
Si	89	50,72±25,654	
No	1216	53,50±23,604	
Cambio de alojamiento			0,086
No	1249	53,66±23,736	
Si	43	40,04±23,716	
Manejo alimentario			0,001
Past.baja calidad	9	33,75±9,812	
Past.normal	321	52,57±24,540	
Past.alta calidad	182	54,72±26,372	
Past+supl.	316	49,94±23,321	
Estab.+supl.	256	55,99±23,047	
Estab.	212	56,81±20,781	
Manejo alimentario (agrupado)			<0,001
Past.baja calidad	9	33,75±9,812	
Past. normal,alta calidad o sup	819	50,35±24,54	
Estab. Sup. y no sup.	468	56,36±22,030	
Flushing			<0,001
No	808	51,36±24,519	
Normal	446	55,96±22,308	
Acusado	46	60,76±20,757	
Flushing agrupado			0,001
No	808	51,36±24,519	
Si	492	56,41±22,191	

La tabla 7 muestra los resultados obtenidos teniendo en cuenta las variables cualitativas que recogen las circunstancias previas a la IA. Sólo el intervalo parto-IA y la presencia de alteraciones en la sincronización mostraron efectos significativos sobre la fertilidad.

Tabla 7. Estadística descriptiva de la fertilidad/lote (%) y grado de significación (p) respecto a las variables cualitativas relativas a las circunstancias previas a la IA (factores fijos: intervalo parto-IA, intervalo destete-IA, alteraciones en la sincronización). N: número de lotes.

Variable	N	Media ±SD	p
Int.parto-IA			0,013
45-60 días	135	47,77±21,471	
61-90 días	910	54,21±23,526	
≥91 días	260	53,04±25,294	
Int.parto-IA (agrupado)			0,004
≤60 días	135	47,77±21,471	
≥61 días	1170	53,95±23,924	
Int.destete-IA			0,214
sin destete	27	55,22±21,620	
≤7días	109	49,54±22,433	
8-14 días	391	52,72±23,435	
15-21 días	478	53,14±22,720	
≥22 días	297	52,68±25,068	
Int. destete-IA (agrupado I)			0,105
≤ 7 días	136	50,67±22,311	
8-21 días	889	51,39±23,495	
≥22 días	297	55,54±25,068	
Int. destete-IA (agrupado II)			0,171
≤ 7 días	136	50,67±22,311	
≥8 días	1166	53,61±23,921	
Alter. sincronización			0,008
No	428	55,61±22,01	
Si	852	51,87±24,543	

En la agrupación de categorías para el intervalo parto-IA se ha tenido muy en cuenta que 60 días tras el parto marcan una diferencia clara en cuanto a la fertilidad; la menor fertilidad corresponde a intervalos cortos (hasta 60 días). Por otra parte, la presencia de alteraciones en la sincronización reduce significativamente la fertilidad. Variables asociadas a las hembras como intervalo parto-IA, intervalo destete-IA, sincronización, número total de

sincronizaciones fueron la principal fuente de variación en la fertilidad de la IA en razas francesas (David et al., 2008).

Fantova et al. (1998) concluyeron que se debe respetar un periodo de al menos 2,5 meses transcurridos desde el parto para realizar la siguiente IA en fotoperiodo favorable -otoño-, y de 3 meses en el caso de los animales con fotoperiodo desfavorable -verano-. Además, estos autores cuantificaron esta relación del intervalo parto-IA con la fertilidad; por cada día que se alejaba la IA del parto, la fertilidad se veía aumentada en 0,69 puntos. Más recientemente, se ha recomendado no realizar la IA sin haber dejado pasar al menos 50 días desde el último parto (Anel et al., 2005).

Las alteraciones en la sincronización incluyen deficiencias en la implantación y/o retirada de esponjas, que pueden ocasionar problemas sanitarios en el tracto genital, que suponen un impedimento para la fecundación y redundan en un descenso de la tasa de fertilidad (Folch et al., 2007).

La tabla 8 muestra los resultados obtenidos teniendo en cuenta las variables cuantitativas que recogen las circunstancias previas a la IA.

Tabla 8. Estadística descriptiva, coeficiente de correlación (r) con respecto a la fertilidad/ lote (%) y su grado de significación (p) para las variables cuantitativas relativas a las circunstancias previas a la IA (concentración espermática, intervalo retirada de esponjas-IA, dosis del tratamiento hormonal, tiempo de tratamiento con esponjas). N: número de lotes.

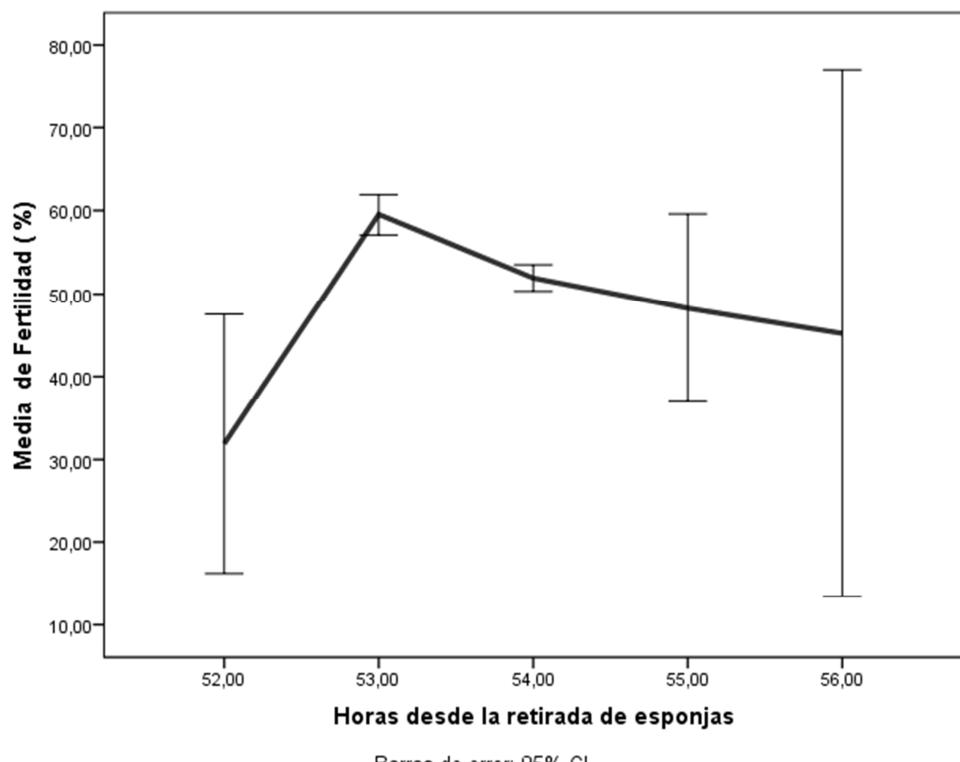
Variable	N	Media ± SD	Mínimo	Máximo	r	p
Conc. espermática (millones/dosis)	96	364,52±66,654	250	800	- 0,165	0,109
Int. ret.esponjas-IA (horas)	1292	53,77±0,498	52	56	- 0,109	<0,001
Dosis tto. hormonal (UI)	1333	474,23±36,194	120	480	0,019	0,484
Tiempo tto. Esponjas (días)	1317	12,81 ±1,590	0	42	- 0,018	0,524

No se ha detectado una asociación significativa de la concentración espermática con la fertilidad, probablemente porque sólo se dispone de información de esta variable en 96 lotes, 28 de los cuales (29%) mostraban una concentración de 400 millones/dosis. No se ha detectado asociación significativa entre la dosis hormonal y la fertilidad, ya que el 96,5% de

los lotes considerados han sido tratados con una dosis de 480UI. Tampoco se ha detectado una asociación entre tiempo de tratamiento y fertilidad ya que el 97,72% de los lotes analizados estaban entre 12 y 14 días de tratamiento.

Se ha detectado una correlación altamente significativa y negativa entre la fertilidad/lote y el intervalo retirada de esponjas-IA; al incrementarse este tiempo, la fertilidad se reduce. Sin embargo, la mayoría de los lotes analizados para esta variable (889/1222; 72,7%) presentan un intervalo de 54 horas, seguidos por 286 lotes (23,4%) con un intervalo de 53 horas. Las comparaciones múltiples han mostrado entre estos dos grupos una diferencia significativa ($p<0,05$) en cuanto a fertilidad, con clara ventaja del intervalo de 53 horas, como se puede observar en la figura 2. También se ha detectado una diferencia significativa en fertilidad de este intervalo con respecto a un intervalo de 52 horas, si bien sólo 8 de los lotes analizados mostraban este intervalo. No se han detectado diferencias con los restantes valores de duración del intervalo por el escaso número de lotes con valores de 55 y 56 horas. A la vista de estos resultados, un intervalo retirada de esponjas-IA de 53 horas parece óptimo para obtener unos resultados máximos de fertilidad.

Figura 2. Evolución de la fertilidad media en función de la duración del intervalo retirada de esponjas-IA.



Abecia et al. (2011) han concluido que el hecho de que el fotoperiodo produzca una variación tan significativa en la fertilidad, hace que un buen manejo reproductivo, a través de la administración de hormonas del ciclo estral de las ovejas, sea beneficioso a la hora de satisfacer la demanda de corderos en el mercado, fuera de la época reproductiva. Una mala dosificación de ésta puede llegar a provocar una ovulación excesivamente elevada y a tasas de partos múltiples anómalas (Abecia et al., 2011).

En Rasa Aragonesa, el celo aparece aproximadamente unas 34 horas tras la retirada de las esponjas y la ovulación se produce unas 30 horas tras la aparición del celo; considerando que los espermatozoides tardan unas 9 horas en llegar al oviducto, el intervalo de tiempo que se considera óptimo para la realización de la IA tras la retirada de las esponjas se sitúa alrededor de las 55 horas (Folch et. al., 2007). Estos investigadores concluyeron que un intervalo de tiempo inferior a 55 horas arrojaba unos resultados de fertilidad de aproximadamente un 58% y que por encima de este tiempo la fertilidad sufre un descenso de hasta 8 puntos. Los resultados del presente estudio se aproximan a estos datos.

En la actualidad el uso de tratamientos hormonales en animales de abasto es objeto de una gran controversia en la Unión Europea. Recientemente Abecia et al. (2016b) han propuesto la presencia de machos sexualmente activos en primavera inducidos con melatonina como alternativa al tratamiento hormonal para anticipar la pubertad de las corderas nacidas el otoño anterior.

Las tablas 9 y 10 muestran los resultados obtenidos teniendo en cuenta las condiciones en que se desarrolla la IA.

Como se indica en la tabla 9, sólo se han detectado efectos significativos sobre la fertilidad en el caso de la temperatura de conservación y el lugar de la inseminación. Las comparaciones múltiples sólo detectan diferencias significativas entre el uso de termo y el uso del equitainer, aparato que mantiene la temperatura a <6°C, 6°C ó 14°C. Sólo en 15 lotes se ha utilizado el termo, lo que no justifica una comparación del termo frente a las otras temperaturas agrupadas. Por otra parte, se ha detectado una asociación significativa (Chi cuadrado de Pearson=5,027; p=0,025) entre la distancia de la granja al centro de IA y el uso del termo; el 86,7 % de los lotes donde se usó el termo correspondían a distancias ≤100km, mientras que el 13,3% restante de los lotes donde se usó el termo correspondían a distancias ≥101km. Más arriba se ha detectado una menor fertilidad en distancias ≤100km; una de las razones podría ser una conservación inadecuada del semen. Por otra parte, dada esta asociación y el bajo número de lotes que usan el termo, se ha preferido usar la variable

distancia granja-centro de IA en el Anova general. En cuanto al lugar de la inseminación, dado que la fertilidad es mayor en interior que en exterior (comparaciones múltiples: $p<0,05$), se han agrupado los animales de la categoría interior-exterior (sólo 5 lotes) en el grupo de exterior, ya que no estuvieron continuamente en interiores.

Tabla 9. Estadística descriptiva de la fertilidad/lote (%) y grado de significación (p) respecto a las condiciones de la IA (factores fijos: intervalo elaboración de la dosis-IA, temperatura de conservación de la dosis, lugar, comportamiento animal, ambiente). N: número de lotes.

Variable	N	Media ± SD	p
Intervalo elab.dosis-IA			0,557
≤2h	29	50,06±23,080	
3-4h	751	52,95±23,901	
≥5h	525	54,01±23,584	
Temp. Conservación			0,006
>6°C	33	46,78±17,387	
6°C	692	53,12±23,953	
14°C	557	54,26±23,628	
Termo	15	32,49±18,839	
Lugar IA			0,011
Interior	1036	54,39±23,686	
Exterior	249	49,49±23,410	
Int-Ext	5	59,68±20,340	
Lugar IA agrupado			0,006
Interior	1036	54,39±23,686	
Resto (Ext, Int-Ext)	254	49,70±23,362	
Comport. animal			0,226
Tranquilas	1206	53,08±23,688	
Agitadas	99	56,089±24,438	
Ambiente IA			0,353
Tranquilo	1286	53,23±23,831	
Ruidoso	19	57,34±17,082	

Sólo se han detectado efectos significativos sobre la fertilidad de la sujeción y el reposo post-IA (ver tabla 10). En el caso de la sujeción, se han agrupado categorías, buscando resaltar la diferencia significativa detectada por las comparaciones múltiples entre mala sujeción y el resto de categorías, entre las que no se detectaron diferencias significativas. La fertilidad fue significativamente menor en caso de sujeción problemática. En el caso del reposo post-IA las comparaciones múltiples sólo detectaron diferencias significativas entre las categorías más numerosas, correspondientes a 1 día y 2-7 días, respectivamente. Así, la

agrupación de categorías realizada trata de profundizar en las diferencias entre un descanso inexistente o muy corto y el resto de las situaciones; la fertilidad fue significativamente menor en descansos inexistentes o muy cortos.

Tabla 10. Estadística descriptiva de la fertilidad/lote (%) y grado de significación (p) respecto a las condiciones de la IA (factores fijos: sujeción durante la IA, ayuda la inseminador durante la IA, reposo del animal post-IA). N: número de lotes.

Variable	N	Media ± SD	p
Sujeción IA			<0,001
Mal	21	33,71±19,920	
Regular	163	51,67±21,048	
Bien	1025	53,57±24,169	
Muy bien	96	57,63±22,312	
Sujeción agrupada			<0,001
Problemática	21	33,77±19,920	
No problemát.	1284	53,63±23,679	
Ayuda durante IA			0,503
No	1015	54,21±23,296	
Si	249	53,09±24,166	
Reposo post-IA			0,003
Sin reposo	185	51,06±22,648	
1 día	240	48,92±26,855	
2-7 días	852	55,07±22,777	
8-14 días	10	54,73±28,961	
15-21	6	64,91±26,353	
Reposo post-IA (agrupado)			<0,001
0-1 día	425	49,85±25,105	
≥ 2 días	868	55,14±22,860	

Los Anexos 1 y 2 muestran un resumen detallado del efecto sobre la fertilidad /lote de las variables cualitativas y cuantitativas consideradas. La tabla 11 muestra los resultados obtenidos en el Anova general, que incluye todas las variables significativas indicadas anteriormente, más las variables año e intervalo destete-IA. Es preciso tener en cuenta que uno de los objetivos del presente trabajo era analizar la variación de la fertilidad en este periodo concreto de tiempo. Por otra parte, dado que no se dispone del dato del intervalo entre partos, el intervalo entre destete e IA podría dar una idea de la intensificación del ciclo reproductivo (Godfrey y Weis, 2016). Globalmente, el modelo considerado explica el 36,9% de la variabilidad de fertilidad observada.

Se ha detectado un efecto significativo del año, que el análisis univariante no detectaba, pero no se ha detectado ahora un efecto significativo del fotoperiodo; todo ésto podría deberse a la existencia de una interacción significativa entre año y fotoperiodo. El año explica el 1% de la variación observada en la fertilidad y la interacción año*fotoperiodo el 1,4% de la misma. Se ha detectado una diferencia significativa entre las medias de los años 2013 y 2014, con una fertilidad superior en 2013.

Tabla 11. Variables con efecto estadísticamente significativo sobre la fertilidad/ lote (%).

Variable	Sig.	eta ² (%)	Diferencia entre las medias	Intervalo de confianza al 95%
Año	0,016	1,0		
2013 vs 2014			13,03	4,58÷21,47
Alt. sincronización	0,002	0,9		
No vs Si			7,13	2,53÷11,72
Granja	<0,001	24,1	-	-
Macho	0,030	7,3	-	-
Tecn. Retirada esponjas	0,031	2,2	-	-
Año * fotoperiodo	0,003	1,4	-	-

La dispersión de los datos al considerar un elevado número de variables en el Anova no permite estimar las medias marginales de dicha interacción, pero , a título orientativo, un Anova más sencillo, que sólo incluye los efectos fijos del año y el fotoperiodo y su interacción ha permitido considerar que el fotoperiodo creciente del año 2011 mostró el valor más bajo de la fertilidad de la secuencia estudiada, mientras que el fotoperiodo decreciente del mismo año presentó el mayor valor de fertilidad de dicha secuencia (ver tabla 12). Ninguna otra interacción entre los factores fijos considerados resultó ser significativa.

Tabla 12. Estadística descriptiva de la interacción año*fotoperiodo.

Año	Fotoperiodo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%
2011				
	Decreciente	57,65	1,431	54,84÷60,45
	Creciente	41,64	2,737	36,267÷47,00
2012				
	Decreciente	53,89	1,559	50,83÷56,95
	Creciente	49,57	1,584	46,46÷52,67
2013				
	Decreciente	55,96	1,715	52,60÷59,33
	Creciente	52,83	2,135	48,64÷57,02
2014				
	Decreciente	53,32	1,976	49,44÷57,20
	Creciente	54,04	2,261	49,61÷58,48

La presencia de alteraciones en la sincronización explica un porcentaje menor de la variación de la fertilidad, sólo un 0,9%; ésto se traduce en un incremento de fertilidad de 7,13% en ausencia de problemas.

Los efectos sobre la fertilidad de la granja y el macho son los más importantes; explican el 24,1% y el 7,3 % respectivamente de la variación de la fertilidad.

Como ya se ha indicado más arriba, dentro de la variable granja se incluyen múltiples efectos, geográficos, sanitarios y esencialmente de manejo. Folch et al. (2007) sostienen que el efecto de la granja sobre la fertilidad es incluso más significativo que el resto de las variables que influyen en la misma; la fertilidad tiene una variación significativa dependiendo del manejo general de la explotación y del grado de tecnificación de ésta y se sugiere que la introducción de individuos genéticamente selectos debe ir acompañada de mejoras en el manejo, ya que mejorar la genética de una granja con un nivel bajo de manejo carece de sentido.

En el efecto macho se incorporan variables que no se han podido evaluar convenientemente en este trabajo debido a la carencia de datos en los registros considerados (concentración y calidad espermática etc..). Como ya se ha indicado, tradicionalmente se ha hecho hincapié en la influencia que la calidad del semen ejerce sobre la fertilidad (Santolaria et al., 2015), pero los datos referentes a esta calidad no estaban consignados para la mayoría de los lotes. Finalmente, el efecto del técnico de retirada de las esponjas explica un no

despreciable 2,2%, lo que pone de manifiesto de nuevo la importancia del manejo. No tiene sentido establecer diferencias entre las medias de las categorías de los factores aleatorios; se trata de una muestra aleatoria de las categorías posibles y sólo interesa el impacto que la variabilidad de estos factores tiene sobre la fertilidad.

Resulta necesaria la implantación de unas óptimas prácticas técnicas y de manejo en las explotaciones donde se realicen inseminaciones artificiales, así como el desarrollo de técnicas de inseminación idóneas si lo que se desea es la obtención de tasas de fertilidad correctas.

CONCLUSIONES

1. En el periodo 2011-2014 se ha obtenido un valor medio de fertilidad/lote (%) de 53,41 ±23,634 (SD), mediante IA cervical con semen refrigerado.
2. Cuando se aplica un modelo univariante, gran cantidad de factores influyen de manera significativa en la fertilidad: granja, macho, técnicos en IA y tratamiento hormonal, mes, estación, fotoperiodo, temperatura ambiental, distancia granja-centro de testaje IA, edad de la oveja, condición corporal, manejo alimentario, flushing, intervalo parto-IA, alteraciones en la sincronización, intervalo retirada de esponjas-IA, temperatura de conservación de la dosis, lugar de la inseminación, sujeción y reposo post IA.
3. El modelo multivariante con todas las variables significativas o de interés explica en total el 36,9% de la variabilidad de la fertilidad.
4. Según este modelo, los factores que influyen significativamente sobre la fertilidad son: año, alteraciones en la sincronización, efectos asociados a la granja, al macho y al técnico que retira las esponjas así como la interacción año* fotoperiodo.
5. El factor granja explica un elevado porcentaje de la variación de la fertilidad (24,1%), seguido por el factor macho (7,3%).
6. Estos dos factores engloban gran cantidad de efectos que pueden tener una influencia importante en la variación de la fertilidad: ambientales, de manejo y sanitarios, así como características del macho que no se han podido evaluar convenientemente en este trabajo (concentración y calidad espermática, etc...).
7. Es necesaria una estrecha coordinación entre ganaderos y técnicos para introducir en las explotaciones buenas prácticas de manejo y técnicas de IA, orientadas a alcanzar mejores resultados de fertilidad.

CONCLUSIONS

1. Through 2011 to 2014, mean fertility/lot (%) was 53.41 ± 23.634 (SD), using cervical AI with cooled semen.
2. When using univariate models, significant effects were found for the following variables ($p < 0.050$): farm, ram, technicians for AI and hormonal treatment, month of AI, season, photoperiod, environmental temperature, distance from the testing AI center to the farm, mean age for the ewes in the lot, mean body condition for the ewes in the lot, synchronization disorders, seminal conservation's temperature, IA's place, ewe's fastening and Post-AI resting of the ewe.
3. The multivariate model, including the variables with significant effect on fertility and other variables of interest, explained 36.9% of fertility variance.
4. From the multivariate model, significant effects on fertility were detected for year, farm, ram, technician who retired hormonal treatment, synchronization disorders and year*photoperiod interaction.
5. Farm showed the biggest influence on fertility variance (24.1%), followed by ram effect, explaining 7.3% of fertility variance.
6. Both factors include lot of effects which may also have an important influence on fertility variance: environmental, handling and health variables and ram-related variables, such as sperm quality and concentration, which could not be analyzed in the present work.
7. Close coordination between farmers and technicians is needed in order to introduce in farms good handling and AI techniques, aimed to reach better fertility results.

VALORACIÓN PERSONAL

Este trabajo ha servido para mejorar y profundizar el conocimiento del alumno en las siguientes áreas:

1. Fisiología/ Reproducción ovina.
2. Recogida de datos en campo.
3. Administración y gestión de los datos recogidos de las IA. Manejo y gestión genealógica de la raza Rasa Aragonesa.
4. Búsqueda y extracción de los datos en los ficheros de la asociación ANGRA.
5. Creación y gestión de una base de datos a través de la elaboración de los diferentes ficheros sobre los que se ha sustentado el estudio.
6. Mejora en la capacidad de síntesis y resumen de los datos.
7. Influencia de las instalaciones en la reproducción del ganado ovino.
8. Influencias geoambientales sobre la fertilidad ovina.
9. Profundización en los conocimientos estadísticos.
10. Aprendizaje del manejo de diversas herramientas y programas para la elaboración del estudio estadístico.
11. Mejora en el uso del lenguaje técnico propio de la profesión.
12. Profundización en el uso de páginas bases de datos para la búsqueda bibliográfica de información.
13. Mejora en la capacidad para realizar buenas referencias en el estudio.

AGRADECIMIENTOS

- A la asociación ANGRA y a toda su plantilla, por el soporte informático y el apoyo que me ha brindado en todo momento cada uno de los miembros de su plantilla (Adolfo, Ángel, Pilar, Alicia, Jesús, Elena).
- A Ángel, por ser un gran profesional y un gran director: Por sus grandes consejos y enseñanzas a largo del estudio y de las prácticas.
- A Teresa, por la gran labor como directora a lo largo de todo el proyecto, tanto en sus fases iniciales como en la fase de análisis estadístico.
- A los veterinarios de ARS ALENDI, en cuyas oficinas se inició el primer esbozo de este estudio.
- Y me dejo para el final una mención especial a un pilar fundamental en la elaboración de este proyecto, como son mi familia y mis amigos (del colegio y de la universidad): gracias a todos por vuestra infinita paciencia, apoyo, cariño e interés a lo largo de todo este tiempo.

BIBLIOGRAFÍA

- Abecia JA, Forcada F and González-Bulnes A. 2011. Pharmaceutical control of reproduction in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal* 27: 67-79.
- Abecia JA, Chemineau P, Flores JA, Keller M, Duarte G, Forcada F and Delgadillo JA. 2015. Continuous exposure to sexually active rams extends estrous activity in ewes in spring. *Theriogenology* 84: 1549-1555.
- Abecia JA, Arrébola, F, Macías, A, Laviña A, González-Casquet O, Benítez F and Palacios C. 2016a. Temperature and rainfall are related to fertility rate after spring artificial insemination in small ruminants. *International Journal of Biometeorology*. Epub ahead of print DOI: 10.1007/s00484-016-1150-y.
- Abecia JA, Chemineau P, Gómez A, Keller M, Forcada F and Delgadillo JA. 2016b. Presence of photoperiod-melatonin-induced, sexually-activated rams in spring advances puberty in autumn-born ewe lambs. *Animal Reproduction Science*. Epub ahead of print doi: 10.1016/j.anireprosci.2016.04.011.
- Alabart JL, Folch J, Fantova E, Sevilla E, y Quintín FJ. 2002. Efecto de la edad de la oveja rasa aragonesa sobre la fertilidad en la IA dentro del esquema de mejora de la UPRA-OVIARAGON S.C.L. XXVII Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia. Valencia.
- Anel L, Kaabi M, Abroug B, Alvarez M, Anel E, Boixo JC, de La Fuente LF and De Paz P. 2005. Factors influencing in the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field essay. *Theriogenology* 63:1235-1247.
- Anel L, Álvarez M, Martínez-Pastor F, García-Macías V, Anel E and de Paz P. 2006. Improvement strategies in ovine artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals* 41 Suppl 2:30-42.
- Arrebol FA, Abecia JA, Forcada F, García A, Martín RA and Mesa O. 2009. Effects of annual rainfall and farm on lamb production after treatment with melatonin implants in Merino sheep: a 4-year study. *New Zealand Veterinary Journal* 57: 141-145.
- Casao A, Macías A, Laviña A, Cebrián-Pérez JA, Muiño-Blanco T y Pérez-Pé R. 2015. Importancia de la valoración de parámetros apoptóticos en muestras seminales para la selección de sementales. XVI Jornadas sobre Producción Animal de la Asociación Interdisciplinar para el Desarrollo Agrario (AIDA), tomo II: 378-380.

Colas G, Thimonie J, Courot M, and Ortavant R. 1973. Fertility and reproductive efficiency AI in ewes treated with FGA. *Annales de Zootechnie* 22:441-451.

Collier RJ, Dahl GE and VanBaale MJ. 2011. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 27:67-79.

David L, Robert-Granie C, Manfredi E, Lagriffoul G and Bodin L. 2008. Environmental and genetic variation factors on AI success in french dairy sheep. *Animal* 2: 979-986.

Esmailizadeh AK, Dayani O and Mokhtari MS. 2009. Lambing season and fertility of fat-tailed ewes under an extensive production system are associated with live weight and body condition around mating. *Animal Production Science* 49: 1086-1092.

Fantova E, Bru R, Sevilla E, Quintín FJ, Folch J, Congost S y Alabart JL. 1998. Resultados de IA en el marco del esquema de selección por prolificidad en las ganaderías Carnes Aragón. *Información Técnica Económica-Agraria* 94: 93-100.

Fernández Abella D, Guérin Y, Sterla S, Irabuena O y Dacheux JL. 2006. Efecto de dos diluyentes para conservación de semen refrigerado y del momento de inseminación sobre la fecundidad ovina. *Producción Ovina Producción Ovina* 18: 41 – 47.

Folch J, Alabart JL, Echegoyen E, Martí JI, Sánchez P, Fantova E y Roche A. 2007. Manejo reproductivo de la oveja Rasa aragonesa. Preparación de las ovejas destinadas a la I.A. En: J. Folch (coordinador) *Producción de ovino de carne en terreno semiárido*. Cap. 6, 71-94. Editado por GOBIERNO DE ARAGÓN.- Grupo Consolidado de Investigación Aplicada: Mejora de la Producción Ovina. 2^a ed.

Forcada F, Abecia JA and Zarazaga L. 1991. A note of attainment of puberty of september born early maturing ewe lambs in relation to level of nutrition. *Animal Production* 53: 407-409.

Forcada F, Abecia JA and Sierra I. 1992. Seasonal changes in oestrus activity and ovulation rate in Rasa aragonesa ewes maintained at two different body condition levels. *Small Ruminants Research* 8: 313-324.

Forcada, F.2010. Actividad reproductiva en el ganado ovino. En: Abecia A. y Forcada F. Manejo reproductivo en ganado ovino. Cap. 5, pp. 57-65. Servet editorial/Grupo Asís Biomedia, Zaragoza (España).

Fukui Y, Kohno H, Okabe K, Katsuki S, Yoshizawa M, Togari T and Watanabe H. 2010. Factors affecting the fertility of ewes after Intrauterine AI with frozen thawed semeng during the non breeding season. *Journal of Reproduction and Development* 53:959-962.

Gaviña D y Folch J. 1987. La I.A ovina. Resultados de su aplicación en un programa de selección en la raza Rasa aragonesa. *Información Técnica Económica- Agraria (ITEA)* 68: 15-25.

Godfrey RW and Weis AJ. 2016. Effect of weaning age on hair sheep lamb and ewe production traits in an accelerated lambing system in the tropics. *Journal of Animal Science* 94: 1250-1254.

Gordon I. (1997). Controlled reproduction in sheeps and goats. Cab. International(U.S.A)

Jabbour HN and Evans G. 1991. Fertility of superovulated ewes following intrauterine or oviductal insemination with fresh or frozen-thawed semen. *Reproduction, Fertility and Development* 3:1-7.

Keisler DH and Buckrell BC. 1997. Breeding strategies. Current therapy in large animals theriogeonology. Ed by Robert S. Youngquist. 1st edition.

López-Sáez A, Ortiz N, Gallego L and Garde JJ. 2000. Liquid storage (5 degrees C) of ram semen in different diluents. *Archives of Andrology* 44: 155-164.

Mendoza MR, Montaldo HH, Sanchez JAB and Ceron JH. 2009. Serum progesterone levels in Pelibuey and Suffolk ewes under thermal stress. *Veterinaria Mexico* 40: 197-202.

Ollero M, Pérez-Pe R, Muiño-Blanco T and Cebrián-Pérez JA. 1998. Improvement of ram sperm cryopreservation protocols assessed by sperm quality parameters and heterogeneity analysis. *Cryobiology* 37:1-12.

Palacios C and Abecia JA. 2015. Meteorological variables affect fertility rate after intrauterine artificial insemination in sheep in a seasonal-dependent manner: a 7-year study. *International Journal of Biometeorology* 59: 585-592.

Paulenz H, Adnoy T and Soderquist L. 2007. Comparison of fertility results after vaginal using different thawing procedures and packages for frozen Ram semen. *Acta Veterinaria Scandinavica* 49: 26-32.

Petrie A and Watson P 2013. Statistics for veterinary and animal science, 3rd edition.

Blackwell Science Ltd, Oxford, United Kingdom.

Santolaria P, Palacín I and Yániz J. 2011. Management factors affecting fertility in sheep AI in farm animals. In: Dr. Milad Manafi (Ed.) Artificial Insemination in Farm Animals. Cap 11, 167-190. InTech, Rijeka, Croatia.

Santolaria P, Yániz J, Fantova E, Vicente-Fiel S and Palacín E. 2014. Climate factors affecting fertility after Cervical insemination during the first months of the breeding season in Rasa Aragonesa ewes. 2013. International Journal of Biometeorology 58: 1651-1655 .

Santolaria P, Vicente-Fiel S, Palacín I, Fantova E, Blasco ME, Silvestre MA and Yániz JL. 2015. Predictive capacity of sperm quality parameters and sperm subpopulations on field fertility after artificial insemination in sheep. Animal Reproduction Science 163: 82-88.

Shelton JN. 1990. Reproductive technology in animal production. Revue Scientifique et Technique 9: 825-845.

Tejedor MT, Monteagudo LV, Laviña A y Macías A. 2015. Factores ambientales que influyen en el éxito de la inseminación artificial en la raza ovina Rasa Aragonesa. XI Congreso de la Federación Iberoamericana de razas criollas y Autóctonas. Zaragoza. (España).

Thomson EF and Bahhady FA .1988. A note on the effect of live weight at mating on fertility of awassi ewes in semi-arid Northwest Syria. Animal Production 47:505-508.

Yániz JL, Marco-Aguado MA, Mateos MA and Santolaria P. 2010. Bacterial contamination of ram semen, antibiotic sensitivities and effects on sperm quality during storage at 15 degrees. Animal Reproduction Science 122:142-149.

Yániz JL, Mateos JA and Santolaria P. 2011. Zwitterionic buffers preserve ram semen quality more efficiently than TRIS during storage at 15 degrees. Small Ruminants Research 95:54-60.

Anexo 1. Tabla resumen del efecto sobre la fertilidad /lote (%) de las variables cualitativas estudiadas (p: grado de significación; NS: p>0,05; *:p<0,05; **:p<0,01; eta² : porcentaje de la variabilidad total de la fertilidad explicado por la variable en cuestión; SE: error estándar).

Variable	p	eta ² (%)	Comparación de categorías	Diferencia entre las medias ± SE
Granja	<0,001**	27,7		
Macho	0,015*	6,9		
Inseminador	<0,001**	6,1		
Tecn.coloc.esponjas	<0,001**	5,7		
Tecn.retir.esponjas	<0,001**	9,3		
Año	0,318NS			
Mes	<0,001**	4,7		
Estación	<0,001**	1,7		
Fotoperiodo	<0,001**	1,2	Decreciente vs Creciente	5,36±1,319
Temperatura ambiental	0,056NS			
Temperatura ambiental(Agrupada)	0,025*	0,4	≥26°C vs ≤25°C	2,95±1,314
Distancia granja-centro IA	<0,001**	1,8		
Distancia granja-centro IA (Agrupada)	<0,001**	1,5		
Distancia granja-centro IA (Agrupada II)	<0,001**	1,5	≥101km vs ≤100km	5,83±1,323
Edad lote	<0,001**	2,8		
Edad lote (Agrupada)	<0,001**	2,3	≤4 años vs ≥5 años	7,26±1,326
Condición corporal	<0,001**	1,1		
Condición corporal (Agrupada)	0,002**	0,7	≥ 2,50 vs ≤2,49	8,76±2,833
Trat.sanitario	0,258NS			
Esquileo	0,286NS			
Cambio alojamiento	0,086NS			
Manejo alimentario	0,001**	1,6		
Manejo alim. (Agrupado)	<0,001**	1,2	Estab. Sup. y no sup. vs Past.baja calidad	22,61±7,942
Flushing	<0,001**	1,2		
Flushing(Agrupado)	0,001**	1,1	Flushing VS No Flushing	5,04±1,353
Int. Parto-IA	0,013*	0,7		
Int.parto-IA (Agrupado)	0,004**	0,6	≥61 días s vs ≤ 60 días	6,17±2,153
Int.destete-IA	0,214NS			
Int-destete-IA(Agrupado I)	0,105NS			
Int.destete-IA (Agrupado II)	0,171NS			
Alter.sincronización	0,008*	0,5	No vs Si	3,74± 1,406
Interv.elab.dosis-IA	0,557NS			
Temp. conservación	0,006**	1	14 °C vs Termo	21,76±6,181
Lugar IA	0,011*	0,7		
Lugar IA (agrupado)	0,006**	0,6	Interior vs Resto (Ext, Int-Ext)	4,70±1,654
Comport. Animal	0,226NS			
Ambiente IA	0,353NS			
Sujeción IA	<0,001**	1,4		
Sujeción IA(agrupado)	<0,001**	1,1	No prob. vs problemática	19,86±5,198
Ayuda durante IA	0,503NS			
Reposo post-IA	0,003**	1,2		
Reposo post-IA(agrupado)	<0,001**	1,1	≥2 días vs 0-1 días	5,29±1,398

Anexo 2. Tabla resumen del efecto sobre la fertilidad/lote (%) de las variables cuantitativas estudiadas (p: grado de significación; NS: p>0,05; **: p<0,01; r: coeficiente de correlación de Pearson).

Variable	r	p
Conc. Espermática	-0,165	0,109NS
Int.ret.esp-IA	-0,109	<0,001**
Dosis tto. Hormonal	0,019	0,484NS
Tiempo tto. Esponjas	-0,018	0,524NS