

FERTILIDAD DE SEMEN EN CARNEROS.

CASTRILLEJO, A.

D.M.V. Ejercicio Liberal.
Paysandú 372.
Paso de los Toros - Uruguay.

RODRIGUEZ, H.

D.V. MSc.

SUMARIO

Se estudió la dilución y suplementación con Prostaglandina F₂alfa en dosis de 10 microgramos/dosis de inseminación del semen fresco de carneros reproductores en trabajos rutinarios de Inseminación Artificial y su efecto en la fertilidad. Existe una tendencia a la disminución de la fertilidad de los carneros cuando el semen usado, diluido y suplementado fue calificado como de pobre calidad cualitativa, la que fue atribuible en su mayor medida al efecto "dilución".

Este efecto fue obviado y superado cuando el semen usado fue cualitativamente bueno, obteniéndose un incremento en la fertilidad de más del 10⁰/o, cuando se comparó con la fertilidad mostrada por el uso de semen puro control.

Se concluye que la adición de PGs al semen fresco de carnero aumenta la fertilidad potencial del mismo.

Veterinaria: 18 (79): 19 - 21, en - mar, 1982

INTRODUCCION

El semen de carnero es depositado en la vagina anterior durante la monta natural o en el sector posterior del cuello durante la Inseminación Artificial. El cuello uterino es pues, la primera barrera que el espermatozoide encuentra en su ascenso por el tracto genital femenino.

Uno de los factores a considerar respecto al transporte espermático a través del cervix es su propia contractilidad (1). Entre los estimuladores de la contractilidad cervical descritos hasta el presente se encuentran: la ocitocina, la relaxina y las prostaglandinas (PGs).

Hasta el momento, las PGs parecen ser las sustancias más interesantes respecto a su efecto en el transporte espermático transcervical. Así, la Prostaglandina F₂alfa (PGF₂A) tiene un marcado efecto en la motilidad del cuello uterino de oveja *in vitro* y efectos similares se han registrado en útero y oviducto (2). Altas concentraciones (del rango de 6 a 10 microgramos por ml.) de PGF₂A fueron halladas en el plasma seminal de carneros sanos (3). El significado de la presencia de estas sustancias no ha sido clarificado totalmente hasta el momento actual.

Eliasson y col. (4) demostraron que las PGs no toman parte en la regulación del metabolismo del espermatozoide de carnero. Sin embargo, ha sido demostrado que la PGF₂A en concentraciones fisiológicas aumenta la penetración y motilidad del espermatozoide a través del moco cervical humano *in vitro*, durante el período periovulatorio.

En cualquier circunstancia, las PGs presentes normalmente en altas concentraciones en el semen no diluido

de carnero, se diluyen en la misma medida que el semen. Esta ha sido la razón de base por la cual se tendió al uso de microdosis de semen puro para los trabajos de Inseminación Artificial rutinarios en lanaras.

En general, no sólo la dilución del semen, sino el almacenamiento, ya sea en forma de semen fresco, enfriado o incluso congelado, llevan a una disminución de la concentración de las PGs (5). Esto podría explicar el porqué de los menores porcentajes de retención cuando se utiliza semen diluido, respecto al semen fresco no diluido, o la aparente disparidad en la fertilidad individual de carneros, en condiciones similares de trabajo aunque no ha sido totalmente probado hasta el presente (1).

La dilución del semen se considera, no obstante, una técnica con indudables ventajas tanto por el aumento del número de dosis/eyaculado, como por los aspectos sanitarios del semen usado.

Dentro de las afecciones genitales de los ovinos ha sido reportada en nuestro país, la epididimitis a Bacilos Pleomórficos Gram Negativos (6) (7). A pesar de que su epidemiología es poco conocida, es sabido que el carnero mediante la monta, o por vía del semen, puede infectar ovejas (7).

A pesar del desconocimiento parcial de otros aspectos epidemiológicos de la afección que limitan su erradicación, un punto en la metodología de control estaría dado en el uso de la Inseminación Artificial con semen de carneros no infectados y, ante la duda la utilización de diluyentes del semen conteniendo antibióticos que eliminan el germen causante en el semen a ser usado.

Los propósitos del presente trabajo fueron: determinar el efecto de la dilución del semen de carneros con calidad desigual y el de la suplementación de dicho semen con PGF2A respecto a su influencia en la fertilidad post-Inseminación Artificial.

MATERIALES Y METODOS

El trabajo se desarrolló en un establecimiento de cría lanar ubicado en el departamento de Durazno, durante el período marzo-abril de 1981, conjuntamente con el trabajo rutinario de IA del mismo.

El semen se obtuvo de dos carneros, de dos años de edad, raza Corriedale, con notorias diferencias en calidad seminal, determinado por medio de exámenes clínicos y de laboratorio. Uno de ellos, poseía un semen considerado bueno, con menos de un 7^o/o de anomalidades totales en el espermograma sin excreción de células anormales ni Bacilos Pleomórficos Gram Negativos (BPGN). El restante, recuperado clínicamente de una degeneración testicular de etiología térmica, presentaba un porcentaje alto (entre 30 y 40^o/o) de anomalidades espermáticas, pero no excretaba células inflamatorias ni BPGN, clasificándose como semen malo. El predio está declarado libre de Brucelosis ovina.

El trabajo se realizó, con los carneros en régimen de pastoreo, con dos saltos diarios promedio, colectado por vagina artificial. Luego de la colección, el semen se evaluaba macro y microscópicamente. Un salto se utilizó como semen puro en la Inseminación rutinaria (lote control) y otro salto se diluyó post-colección, volumen a volumen con un diluyente conteniendo Buffer Fosfato 0,1 M y Glucosa al 6,4^o/o en proporciones 1:1 (pH 6.9 - 7.0). Este diluyente contenía, además, Prostaglandina F₂ alfa bajo la forma de sal de Trometamina (Tham-Dinoprost, Upjohn Co., USA) en proporción de 10 microgramos por dosis de Inseminación usada. La Inseminación de las ovejas se hizo en la forma usual, sobre ovejas Corriedale, promedio de dos años, cuyo celo se detectó con carneros vasectomizados. La Inseminación se hizo por deposición de microdosis de semen en la parte posterior de cervix.

Los resultados referidos corresponden a las semanas 3a. y 4a. de Inseminación para ambos carneros y en los dos lotes experimentales.

El no retorno al estro fue utilizado como un signo preliminar de preñez sobre las 777 ovejas utilizadas.

Los datos de concepción fueron analizados estadísticamente por el método de CHI - Cuadrado (Snedecor, 1967).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados de la adición de PGF2A al semen diluido usado para Inseminación respecto a su fertilidad se muestran en la Tabla I.

De acuerdo a estos resultados, el efecto "dilución" del semen es importante cuando se refiere a un semen clasificado como malo y este efecto negativo no es corregido aparentemente (aunque no estadísticamente significativo) con la adición de PGF2ALFA.

Sin embargo, hay un efecto inverso cuando el semen utilizado corresponde a un semen bueno, provisto por un carnero sano. En este caso no sólo no se hizo presente el efecto "dilución" negativo sino que se obtuvo un incremento estadísticamente significativo en la fertilidad del semen usado en más de un 13^o/o.

Durante los procedimientos de IA en lanares, el semen (incluso sin diluir) debe ser mantenido durante un tiempo variable a temperaturas cercanas a los 37 grados centígrados. Esto causa pérdidas en la concentración seminal de PGs. En razón de las enormes diferencias individuales en la concentración de PGs en el semen, la tasa real de este detrimento puede variar dentro de límites muy amplios (5).

La adición de PGs exógenas puede compensar estas pérdidas e incluso tener un efecto potencial sobre la fertilidad final de ese semen, como ha sido demostrado en el presente trabajo.

Los resultados obtenidos están de acuerdo a los obtenidos por Dimov y Georgiev (1977), con suplementación de semen diluido con Prostaglandinas E y F unidas, en concentraciones comparables a los totales de PGs en el eyaculado del carnero, con un incremento en la fertilidad de más del 15^o/o.

Si bien la adición de PGs al semen diluido aparentemente aumenta la fertilidad de éste, mejorando el transporte del espermatozoide y/o la supervivencia en el tracto genital femenino, hay un límite en las concentraciones de PGs (alrededor de las 600 microgr/ml.) por encima de los cuales las PGs de los grupos E y F causan lesiones significativas en el aparato acrosómico del espermatozoide. Las lesiones se incrementan proporcionalmente al aumentar el tiempo de exposición a las PGs (8).

Un gran número de experimentos con diluyentes, agentes crioprotectores, tasas de dilución, tiempo de equilibración y técnicas de congelación han permitido obtener métodos para congelar el semen de carnero con buena supervivencia post-descongelación (1). Sin embargo, las tasas de concepción parecen ser de por lo menos 20^o/o más bajas que con el semen fresco. Cuando se usan altas concentraciones de espermatozoides por dosis de Inseminación (500 millones/dosis) o doble Insemina-

Tabla I. Efecto de la PGF2ALFA en la fertilidad del semen ovino.-

CARNEROS	PORCENTAJE DE NO RETORNO Grupo Control (n: 622)	PORCENTAJE DE NO RETORNO Grupo Tratado (n: 155)
Malo	30	20,9*
Bueno	51	64,1**

* No significativo.-

** P<0.05.-

ción por celo con 12 horas de intervalo, las tasas de no retorno son tan altas como con el uso de semen fresco (9).

El uso de técnicas de deposición intrauterina del semen dan resultados mejores aún que con semen fresco sin diluir, pero técnicamente es muy laboriosa y en general, bien entrenado, no más del 50% de las ovejas puede canularse exitosamente (10).

No obstante, hay resultados muy promisorios, tendientes a superar las actuales dificultades, mediante la suplementación del semen diluido y/o congelado, con Prostaglandinas, destinadas a aumentar su transporte efectivo a lo largo del tracto genital femenino y aumentar su fertilidad final (11).

SUMMARY

The dilution and supplementation with PG F₂ alpha (10 micrograms per insemination dose) of fresh ram semen used in routine AI programs and its effect on fertility was studied. There was a tendency for a diminished fertility of the rams whose semen, diluted and supplemented - was considered of poor quality. This is considered to be caused mainly by the dilution effect. It was

eliminated when the semen used was one of a normal quality, even with an increment in fertility of more than 10% when compared with that of the control group of pure semen. It is concluded that the addition of PGs to the ram fresh semen increases its potential fertility.

Veterinaria: 18 (79): 19 - 21, ja - mar, 1982

REFERENCIAS

1. GUSTAFSSON, B. (1978). Aspects of fertility with frozen-thawed ram semen. *Criobiology*, 15: 358 - 61.-
2. EDQVIST, S., EINARSSON, S., GUSTAFSSON, B., LINDE, C. and LINDELL, J.O. (1977). The *in vitro* and *in vivo* effects of PGs E1 and F2Alfa and of oxytocin on the tubular genital tract of ewes. *Int. J. Fertil.*, 20: 234.-
3. BYGDEMAN, M. and HOLMBERG, O. (1966). Isolation and identification of PGs from ram seminal plasma. *Acta Chem. Scand.* 20 (8): 2308 - 10.-
4. ELIASSON, R., MURDOCH, R. and WHITE, I. (1968). The metabolism of human spermatozoa in the presence of PGE. *Acta Physiol. Scand.* 73: 379.-
5. DIMOV, V. and GEORGIEV, G. (1977). Ram semen PGs concentration and its effect on fertility. *J. Animal. Sci.* 44 (6): 1050 - 54.-
6. BERMUDEZ y col. (1979). Epididimitis causada por microorganismos pleomórficos gram negativos. *J. Ovinos de Tacuarembó, I, Actas.*-
7. RODRIGUEZ, H., BARRIOLA, J., CASTRILLO, A. y LABORDE, M. (1980). Morfología seminal en ovinos infectados con bacilos pleomórficos gram negativos II. *J. Ovinos de Tacuarembó, Actas.*-
8. MEMON, M.A., GUSTAFSSON, B., GRAHAM, E. F. and CRABO, B. (1980). Influence of PGs on acrosome morphology of ram spermatozoa. 9 th. *Int. Congr. Anim. Reprod. AI (Madrid) Vol. III:* 148.-
9. COLAS, G. (1975). Effects of initial freezing temperature, additional glycerol and dilution on the survival and fertilizing ability of deep frozen ram semen. *J. Reprod. Fert.* 42: 277.-
10. ANDERSON, V.K., AAMDAL, J. and FOUIGNER, J.A. (1973). Intrauterine and deep cervical insemination with frozen semen in sheep. *Zuchthygiene*, 8: 113.-
11. GAMCIK, P., MESAROS, P. and SCHVARC, F. (1980). Influence of PGs on fertility of sheep with the use of deep-frozen sperm. 9th. *Int. Congr. Anim. Reprod. AI (Madrid) Vol. III:* 149.-

Recibido para su publicación
el 7 de Octubre de 1981.