

FECUNDIDAD DEL SEMEN CONGELADO EN PELLET POR EL TEST DE TERMORRESISTENCIA

A. Fleitas*
L. Bonifacino**
M. Aragunde***
A. Ferraris*
A. Carbo*

RESUMEN

El test de termorresistencia es utilizado para valorar el grado de fecundidad del semen congelado en forma de pellet.

El método trata de reunir aquellas condiciones que sean prácticas y económicas y capaz de aplicarse como rutina en todo semen congelado que ingresa a un banco de semen.

Rodeos pertenecientes a diferentes zonas del Uruguay, integrados por 1381 vaquillonas y vacas falladas del servicio anterior, de las razas Hereford y Aberdeen Angus fueron inseminadas con semen congelado en pellet, de las razas Hereford, Aberdeen Angus, Marchigianna y Chianina de calidades **muy buenos y discretos (mediocres)**, lográndose 60,1% y 28,7% respectivamente, de porcentajes de no retorno al primer servicio.

Se obtiene un coeficiente de correlación ($r: + 0,72$ $P < 0,01$), altamente significativo entre las calidades de semen utilizados y el porcentaje de no retorno.

Es posible calificar el valor fecundante de semen congelado en pellet, contando con un método seguro y sencillo, como el test de termorresistencia.

INTRODUCCION

Para valorar el semen fresco, contamos con la posibilidad de realizar un espermiograma, o utilizar los test de congelación.

Cuando se trabaja con semen congelado la valoración se puede realizar por la apre-

ciación subjetiva de la reviviscencia; por el método descrito por Elliot et al. (1973) (3) en el que se determinan células vivas, en microfotografías obtenidas por microscopio de campo oscuro y platina térmica.

El primero de los métodos, de apreciación subjetiva de la reviviscencia, es el más empleado en los centros de I.A. de nuestro medio, pero no nos permite determinar el valor fecundante del semen empleado; y por otra parte no es aplicable

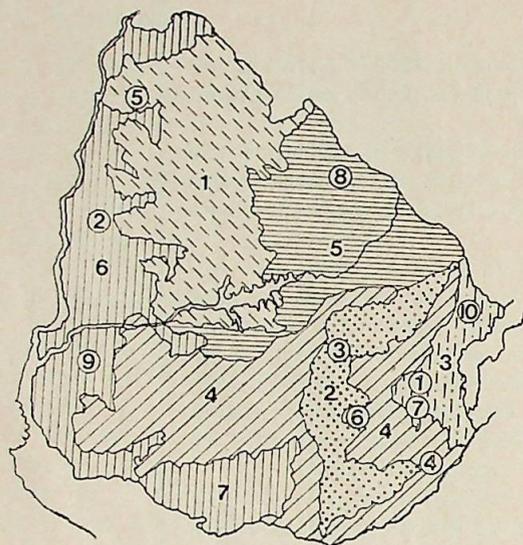
* Med. Veterinario. Cuerpo Técnico de Insarco S.R.L. Ramón Anador, 3525. Montevideo - Uruguay.

** Med. Veterinario. Inst. Prod. Animal. Fac. Veterinaria. Montevideo. Lasplaces 1550 Fac. Veterinaria Montevideo-Uruguay.

a nuestras condiciones, el descrito por Elliot et al. (1973) (3).

Dimitropoulos (1967) (2) ha propuesto un método, el test de termorresistencia, que en un corto tiempo (5 Hs.) y en condiciones prácticas de campo, se puede medir en una forma más precisa la fecundidad del semen congelado.

El objetivo del presente trabajo fue establecer si el test de termorresistencia es representativo en la valoración de la calidad del semen empleado.



* Mapa con la ubicación de los establecimientos por zonas (fuente: Cardelino et al. 1972) (1).

Se ha simplificado el número de observaciones que describe Dimitropoulos (1967) (2) y se realiza una calificación del semen más sencilla, o sea que materiales que eran desechables para la calificación original, son utilizados.

A los efectos del trabajo se seleccionaron 10 establecimientos en distintos departamentos del Uruguay (mapa y cuadro 1) por reunir condiciones similares.

La clasificación por zonas está basada en los estudios hechos en relación con el tipo de suelo (Cide 1962, cit. Cardelino et al 1972), estando distribuidos los establecimientos en forma similar, fundamentalmente sobre Basalto y en la zona de la Cuenca de la Laguna Merín.

Se consideraron aquellos establecimientos que reunían condiciones similares en cuanto a manejo y calidad de pasturas, siendo la mayoría de éstas mejoradas, por lo que los rodeos eran homogéneos en peso, perteneciendo fundamentalmente a una misma raza (cuadros 2 y 3).

Se trabajó con toros de las razas Hérford y en una oportunidad Aberdeen Angus, Marchigianna y Chianina (cuadro 2); se obtuvieron 3232 pellet, de los que se utilizaron 1381 para realizar la primera inseminación en los distintos rodeos. Para la congelación del material seminal en pellet, se utilizó la técnica de Nagase y Niwa (1964) (4).

Las razas que constituían los rodeos en que se realizó la primera I.A. en estudio

CUADRO 1

UBICACION DE LOS ESTABLECIMIENTOS POR DEPARTAMENTO, TIPO DE SUELO Y CLASE DE PASTURA

| Nº ESTABLECIMIENTO | DEPARTAMENTO | TIPO DE SUELO (ZONA CIDE) | PASTURAS |
|--------------------|----------------|---------------------------|----------------------|
| 1 | TREINTA Y TRES | 3 (3) | PRADERA CONVENCIONAL |
| 2 | PAYSANDU | 6 (9) | CAMPO MEJORADO |
| 3 | TREINTA Y TRES | 2 (2) | CAMPO MEJORADO |
| 4 | ROCHA | 4 (4) | CAMPO NATURAL |
| 5 | ARTIGAS | 1 (1) | PRADERA ZAPATA |
| 6 | LAVALLEJA | 4 (4) | CAMPO NAUTRAL |
| 7 | LAVALLEJA | 3 (3) | PRADERA CONVENCIONAL |
| 8 | RIVERA | 5 (6) | CAMPO NATURAL |
| 9 | SORIANO | 6 (9) | CAMPO NATURAL |
| 10 | TREINTA Y TRES | 3 (3) | CAMPO MEJORADO |

CUADRO 2

DISTRIBUCION DE LOS ESTABLECIMIENTOS POR N° DE TOROS, EDAD, RAZAS, NUMERO DE MUESTRAS, NUMERO DE PELLETS POR MUESTRA Y CALIDAD DEL SEMEN EMPLEADO

| ESTABL. NUMERO | N° TOROS/ ESTABL. | EDAD (AÑOS) | RAZAS | NUMERO MUESTRAS | NUMERO PELLETS/ MUESTRA | CALIDAD SEMEN |
|----------------|-------------------|-------------|----------------|-----------------|-------------------------|---------------|
| 1 | 1 | 3 | HEREFORD | 1 | 200 | |
| 2 | 1 | 2 | HEREFORD | 1 | 250 | DISCRETO |
| 3 | 1 | 2 | MARCHIGIANNA | 1 | 319 | (MEDIOCRE) |
| 4 | 1 | 3 | HEREFORD | 4 | 746 | |
| 5 | 1 | 5 | HEREFORD | 4 | 222 | |
| 6 | 1 | 4 | HEREFORD | 1 | 30 | |
| 7 | 1 | 3 | HEREFORD | 3 | 687 | MUY BUENO |
| 8 | 1 | 3 | HEREFORD | 5 | 381 | |
| 9 | 1 | 2 | HEREFORD | 1 | 221 | |
| 10 | 2 | 3-2 | ANGUS/CHIANINA | 2 | 150/26 | |
| TOTAL | 11 | 2-5 | | 23 | 3232 | |

CUADRO 3

DISTRIBUCION DE LOS RODEOS POR N° DE VACAS, EDAD PROMEDIO Y RAZAS

| ESTABLECIMIENTO N° | EDAD (AÑOS) | RAZAS | VACAS INS./EST. |
|--------------------|-------------|----------|-----------------|
| 1 | 2 | HEREFORD | 154 |
| 2 | 2 y 1/2 | HEREFORD | 18 |
| 3 | 4 | HEREFORD | 111 |
| 4 | 3 | HEREFORD | 178 |
| 5 | 2 y 1/2 | HEREFORD | 19 |
| 6 | 3 | HEREFORD | 29 |
| 7 | 3 y 1/2 | HEREFORD | 176 |
| 8 | 4 | HEREFORD | 309 |
| 9 | 2 y 1/2 | HEREFORD | 221 |
| 10 | 3 y 1/2 | A. ANGUS | 166 |
| TOTAL | 10 | 2 - 4 | 1.381 |

(1381) fue mayoría Hereford y Aberdeen Angus, en un caso, con una edad que oscilaba entre dos y medio y cuatro años.

El material de laboratorio constaba de:

microscopio (75 X-450X), platina térmica a 37°C, Baño María con gradilla para tubos de ensayo a 37°C (mantenido por termostato eléctrico).

PROCEDIMIENTO

Con el Baño María a 37°C, se dispone en la gradilla de tantos tubos de ensayo, como pellet de saltos a valorar. Se agrega a cada tubo 0,9 cc. de suero fisiológico estéril y de pH neutro. Se espera que llegue a 37°C y se coloca en un tubo el pellet de la muestra a valorar, elegido al azar.

Las lecturas de cada muestra desconge-

lada se realizan, enseguida de la misma y a dos, tres y cuatro horas, sobre platina térmica a 37°C. En planillas se registra el porcentaje de espermias vivos con movimiento progresivo, rectilíneo y uniforme.

En el cuadro 4 se presenta la clasificación en cinco categorías diferentes: **muy bueno, bueno, aceptable, discreto (mediocre) y malo.**

CUADRO 4
CALIDAD DE SEMEN SEGUN TEST DE TERMORRESISTENCIA

| CALIDADES | Nº DE OBSERVACION | % DE MOTILIDAD | TIEMPO DE LECTURA |
|------------------------|-------------------|----------------|-------------------|
| MALO | 1º | 5 - 10% | 0 hs. |
| | 2º | ALGUNOS EN R. | 2 hs. |
| | 3º | 0% | 3 hs. |
| | 4º | 0% | 4 hs. |
| DISCRETO (MEDIocre) | 1º | HASTA 20% | 0 hs. |
| | 2º | 5 - 10% | 2 hs. |
| | 3º | ALGUNOS EN R. | 3 hs. |
| | 4º | 0% | 4 hs. |
| ACEPTABLE | 1º | HASTA 25% | 0 hs. |
| | 2º | 10 - 15% | 2 hs. |
| | 3º | 5 - 10% | 3 hs. |
| | 4º | ALGUNOS EN R. | 4 hs. |
| BUENO | 1º | 30 - 40% | 0 hs. |
| | 2º | 15% | 2 hs. |
| | 3º | 5 - 10% | 3 hs. |
| | 4º | ALGUNOS EN R. | 4 hs. |
| MUY BUENO | 1º | 30 - 40% | 0 hs. |
| | 2º | 15 - 20% | 2 hs. |
| | 3º | 15 - 20% | 3 hs. |
| | 4º | MINIMO 10-15% | 4 hs. |

Como base para esta clasificación se tienen en cuenta dos hechos fundamentales: a) el porcentaje de células vivas con motilidad rectilínea, progresiva y uniforme con que descongela un material y b) hasta que tiempo (dos, tres o cuatro horas) ese porcentaje se mantiene, disminuye o desaparece.

De los pellets obtenidos, 1.717 pertenecían a la calidad de **muy bueno** y 1.515 **fueron de calidad discreto (mediocre)**, de los que se usaron 1.381 de las dos

categorías. (Ver cuadro 5.) El método de inseminación utilizado fue el recto-vagino-cervical.

RESULTADOS

Luego de la primera I.A., se registró el porcentaje de no retorno que se observa en el cuadro 5.

Trabajando con pellets provenientes de un semen catalogado como **discreto (mediocre)**, se obtenía un porcentaje de no

CUADRO 5

RELACION ENTRE LA CALIDAD DE SEMEN EMPLEADO POR ESTABLECIMIENTO
CON EL N° DE NO RETORNO

| NUMERO ESTABL. | CALIDAD SEMEN. | NUMERO MUESTRAS | NUMERO VACAS | NUMERO NO RETORNOS (60D). | % NO RETORNO |
|----------------|----------------|-----------------|--------------|---------------------------|--------------|
| 1 | DISCRETO | 1 | 154 | 43 | 27,8% |
| 2 | (MEDIOCRE) | 1 | 18 | 4 | 22,2% |
| | 5-10% MOT. | 1 | 111 | 29 | 26,0% |
| 4 | 2 hs. | 4 | 178 | 56 | 31,4% |
| S/TOTAL | | 7 | 461 | 132 | 28,7% |
| 5 | | 4 | 19 | 11 | 58,0% |
| 6 | MUY BUENO | 1 | 29 | 20 | 69,0% |
| 7 | 15-20% MOT. | 3 | 176 | 102 | 58,0% |
| 8 | 2 hs. | 5 | 309 | 162 | 52,4% |
| 9 | | 1 | 221 | 144 | 65,0% |
| 10 | | 2 | 166 | 114 | 68,7% |
| S/TOTAL | | 16 | 920 | 553 | 60,1% |
| TOTALES | | 23 | 1.381 | 685 | 49,6% |

retorno que oscilaba entre 22,2 y 31,4%, con una media de 28,7%; mientras que si se utilizaban los de calidad **muy bueno** los porcentajes se incrementaban entre 52,4 y 69,0% con un promedio de 60,1%.

Las diferencias fueron significativas y la correlación hallada entre los porcentajes de no retorno al primer servicio y porcentaje de motilidad seminal a las dos ho-

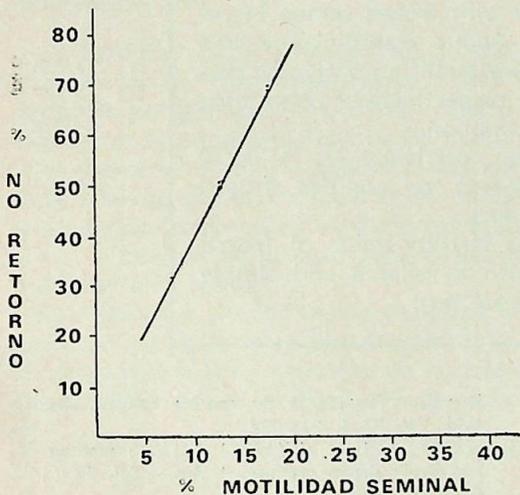
ras (calidad de semen empleado), fue $r: + 0,72$ ($P < 0,01$), representándose la regresión en el gráfico 1.

Mediante la línea de regresión se puede predecir con precisión el valor fecundante de una muestra de semen; por lo que al incrementarse la motilidad, al trabajar con semen de calidades altas, se obtienen valores altos de porcentaje de no retorno.

DISCUSION

Los resultados que se presentan, concuerdan con los obtenidos por Dimitropoulos (1967) (2), que encontró una correlación positiva y altamente significativa ($r: + 0,78$), entre el porcentaje de no retorno y el porcentaje de espermatozoides con movimiento progresivo después de cinco horas de incubación a 38°C. Por otra parte Roussel et al, (cit. Dimitropoulos (1967) (2) habían obtenido una correlación similar entre las mismas variables ($r: + 0,79$ $P < 0,01$).

La clasificación por calidades seguida por Dimitropoulos (1967) (2) es diferente a lapresentada en este trabajo, ya que las cinco categorías de semen que él utiliza (entre 5 y 25 % de motilidad a las cinco horas), son agrupadas para este caso en una sola.



Gráfica 1. Relación entre % de no retorno y % de motilidad seminal a las 2 hs. por regresión lineal ($Y: + 1,56$ $r: + 0,72$ $P < 0,01$).

El valor que se presenta en el gráfico 1 (de calidad intermedia o **aceptable**) corresponde a un rodeo Hereford en las mismas condiciones que en los anteriores y confirma los resultados obtenidos, hallándose en este caso un porcentaje de no retorno de 51,6%.

Mediante este test es posible entonces, disponer de un método seguro y práctico para evaluar "in vitro" el valor fecundante de semen congelado en pellet, frente a otros métodos más costosos o a tener que trabajar con una calidad única de semen.

CONCLUSIONES

—Es posible en condiciones prácticas de trabajo en un banco de semen, adoptar un método como el test de termorresistencia para poder valorar la calidad de un semen congelado en pellet.

—Con materiales calificados como **discretos (mediocres)**, se obtuvieron luego de

una primera I.A. 28,7% de no retorno, mientras que al hacerlo con calidades de **muy bueno** se logró 60,1%.

—Se recomienda entonces, que los materiales calificados desde **muy bueno, bueno** o **aceptable** sean utilizados, mientras que los valorados como **discreto (mediocre)** o **malos** sean descartados.

—Al encontrarse una correlación positiva y altamente significativa entre el porcentaje de no retorno y el porcentaje de motilidad seminal, permite disponer de una forma precisa de evaluar la muestra de semen congelado en pellet, utilizándose con buenos resultados materiales normalmente descartados en cualquier centro de I.A.

AGRADECIMIENTO

Se agradece a la Br. Ana Gamenara la colaboración prestada en el presente trabajo.

SUMMARY

The thermoresistance test is used to value the fecundity of frozen semen in pellet.

This method tries to meet practical and economic conditions and can be applied as herds pertaining to different zones of Uruguay, by 1381 beifers and cows that failed the anterior service, of Hereford and Aberdeen Angus breeds, were inseminated with frozen semen in pellets, of Hereford, Aberdeen Angus Marchinianna and Chianina breeds, of **high** and **low** qualities, obtaining percentages of 60,1% and 28,7% respectively of non-return to the previous artificial insemination.

It was obtained a correlation coefficient ($r: + 0,72$ $P < 0,01$) highly significant between the qualities of used semen and non-return percentages.

It is possible to qualify the fertility value of frozen semen in pellets, counting with a reliable and simple methods, as the thermoresistance test.

REFERENCIAS

- 1) CARDELLINO, R. et al. Relevamiento básico de la producción ovina en el Uruguay. Montevideo. Ed. Secretariado Uruguayo de la Lana. 1972. pp. 12-17.
- 2) DIMITROPOULOS, E. (1967). La signification du test de la thermorésistance dans l'appréciation de la valeur fécondante du sperme congelé. *Annls. Méd. Vét.* N° 4: 215-224.
- 3) ELLIOT, F. I. et al (1973) A photo method of measuring sperm motility. *J. Anim. Sci.* 37 (1): 310-311.
- 4) NAGASE, H. y NIWA, T. (1964) Deep freezing bull semen in concentrated pellet form. *Proc. Vth. Int. Congr. Anim. Reprod.* Trento. v3: 410-415.