

Inseminación artificial en pequeños rumiantes

C. G.^a Artiga, I. Vázquez; E. Martínez (1); J. Garde; J. Pérez (2)
Dpto. Producción Animal CIT/INIA. Madrid

La utilización de la Inseminación Artificial (IA) en la especie ovina y caprina es una técnica reproductiva que ofrece una serie de ventajas que podemos resumir en:

- Mejora genética de la cabaña ovina y caprina.
- Intensificación de la producción.
- Control higiénico-sanitario de los sementales.

Su difusión en nuestro país sigue siendo limitada en comparación con otras especies, debido a una serie de factores:

- Repercusión económica de los programas de IA, principalmente por la existencia de insuficientes machos probados que rentabilicen la IA.
- Especial anatomía del tracto genital de la oveja que dificulta la deposición del número suficiente de espermatozoides viables en el lugar adecuado.
- Reducido número de dosis por eyaculado, así como dificultades para la conservación de la viabilidad espermática tanto en la refrigeración como en la congelación.

FACTORES QUE INTERVIENEN EN LOS RESULTADOS DE FERTILIDAD

Los resultados de fertilidad en IA se encuentran íntimamente relacionados con las características del macho y por las condiciones fisiológicas de las hembras que son inseminadas. La utilización de dicha técnica lleva consigo una

serie de factores que inciden de manera directa sobre la fertilidad entre los cuales mencionamos:

- Calidad inicial del semen.
- Tratamiento del semen.
- Lugar de deposición del semen.
- Número de espermatozoides por dosis.
- Momento de la inseminación.
- Número de inseminaciones.
- Sincronización del celo.

Calidad inicial del semen

La calidad inicial del semen entre otros factores, de la edad del animal, individuo, época del año, raza al margen del estado sanitario, la nutrición y el ambiente social.

La edad del morueco incide notablemente sobre la producción de espermatozoides tanto desde un punto de vista cuantitativo como cualitativo. El volumen, la concentración y la producción total de espermatozoides es inferior en machos jóvenes que en machos adultos (Wiemer y Ruttle, 1987; Osinovo y col., 1988). Desde un punto de vista cualitativo, la motilidad, el porcentaje de formas anormales y el número total de espermatozoides vivos también se ven notablemente influenciados por la edad, presentando los primeros eyaculados una mala motilidad, un gran número de morfoanomalías y una baja proporción de células vivas.

Diversos trabajos ponen de manifiesto diferencias entre machos, en cuanto a los resultados de fertilidad, cuando utilizaron monta natural, inseminación artificial con semen refrige-

rado y congelado. En pruebas orientadas a determinar *in vitro* las variaciones de resistencia individual a los procesos de congelación (García y col., 1992), encontraron diferencias significativas entre el eyaculado de distintos machos cuando fueron sometidos a procesos de congelación en ausencia de glicerol.

Por último, la estacionalidad reproductiva del ganado ovino, parece que también tiene realidad en la calidad seminal del morueco. Estas variaciones estacionales pueden estar relacionadas con la duración de la luz a lo largo del año (Roca y Folch, 1979; Colas, 1985), repercutiendo sobre la producción espermática y el porcentaje de fertilidad. Como podemos observar en el cuadro I la fertilidad en primavera desciende con relación al otoño.

En la raza Manchega se registra una variación estacional, tanto en las características seminales como en su comportamiento copulativo, de tal manera, que los mínimos se producen en primavera con una elevación sustancial en el resto del año (Pérez, y col., 1987). Gabiña y Folch (1987) sostienen que la intensidad del anoestro estacional y la estacionalidad seminal en la Rasa Aragonesa es menos marcada que en la Ile de France.

Tratamiento del semen

Según sea el tratamiento realizado sobre el semen (puro, diluido, refrigerado y congelado) se van a ver afectados los índices de calidad seminal y de fertilidad.

En el cuadro II se reflejan distintos resultados de fertilidad dependiendo si el semen es refrigerado o congelado.

La fertilidad con semen congelado es de un 20-25% más baja que con semen diluido. Los bajos resultados de fertilidad con semen congelado después de la inseminación artificial, están

(1) Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.
(2) Facultad de Veterinaria. UCM.

Cuadro I		
Fertilidad según estación del año		
Autor	Primavera	Otoño
Colas, 1980-1981	47,1%	68,4%
Olmedo, 1988	28,7%	36,1%

relacionados con el reducido índice de recuperación espermática que se consigue tras el proceso de congelación-descongelación.

Lugar de deposición del semen

En la oveja, dada la anatomía de su tracto genital, existen ciertas dificultades para establecer un número suficiente de espermatozoides viables en el cérvix para que después del recorrido a través de éste y del útero lleguen al oviducto una población espermática óptima necesaria en los procesos de fertilización. Este problema se hace más evidente cuando se emplea dosis de semen congelado. En los últimos años, la utilización de la técnica laparoscópica ha permitido mejorar notablemente los resultados de fertilidad principalmente cuando se insemina con semen congelado (cuadro III). Dicha técnica de inseminación intrauterina puede ser una de las vías que impulse el desarrollo de la IA.

Número de espermatozoides por dosis

Otra de las causas por las que IA no se ha desarrollado adecuadamente en la especie ovina es el bajo número de dosis que se obtiene por eyaculado. El número de dosis está relacionado con el tratamiento del semen (puro, diluido, congelado) y el tipo de inseminación.

Entwistle y Martin (1972) no encontró diferencias significativas cuando inseminó con semen diluido y semen fresco, siempre que la calidad seminal no sea afectada por la dilución y la temperatura, variando el volumen de 50 µl a 200 µl y el número de espermatozoides de 50-100x10⁶, obteniendo un 48,7-57,1% de fertilidad en comparación con semen fresco cuyos resultados utilizando 100x10⁶ espermatozoides fueron de un 60,2% de fertilidad. Colas (1979) no encuentra diferencias significativas cuando insemina con 500 - 400 - 300 x 10⁶/0,25 ml por vía vaginal si el semen se conserva a 15°C menos de 5 h, pero si se mantiene más de 5 h se ve afectada la concentración.

Zlatarev (1976) indica que el óptimo en semen diluido se encuentra en 80 x 10⁶ y el volumen en 0,2 ml. Trabajó con concentraciones del 60 a 100

x 10⁶ con resultados de 64,5% y 65,4% de fertilidad, llegando a la conclusión que si utilizamos un 40 x 10⁶/0,2 ml la fertilidad disminuía significativamente. Martin y Watson (1976) utilizaron 100 x 10⁶, consiguieron una fertilidad significativamente mejor que con 25 x 10⁶, sin afectar el volumen de la dosis (50-250 µl). Schindler y Amir, en 1973 variaron la concentración espermática, no encontrando diferencias significativas en los porcentajes de fertilidad: para 120 x 10⁶/0,15 ml lograron 68,3% de fertilidad; para 80 x 10⁶/0,10 ml lograron 67,4% y para 40 x 10⁶/0,05 ml lograron 55,5%.

Laghford (1982) realizó una experiencia con semen diluido donde no encontró diferencias significativas cuando la inseminación se realizaba con 400-200 x 10⁶/0,5 ml, siendo similar a los resultados obtenidos con monta natural en ovejas con celo inducido. Si se utiliza una concentración inferior a 100 x 10⁶/0,5 ml, la fertilidad disminuye marcadamente.

El empleo de laparoscopia en la IA intrauterina ha disminuido notablemente el número de espermatozoides por dosis. Maxwell (1986) empleó un volumen de 0,04 ml con 20 x 10⁶ y 0,1 ml con 100 x 10⁶ ml de semen fresco, obteniendo 57,4% para el primer caso y 47,5% para el segundo inseminando

por vía vaginal. Cameron y col. (1986) comprobaron que para la obtención de máxima fertilidad por vía vaginal es necesario aumentar la concentración del número de espermatozoides hasta un 250 x 10⁶/0,25 ml. Davis (1984) utilizando semen diluido inseminó 0,1 ml con 100-50-25-12 x 10⁶, empleando 0,05 ml en cada cuerno uterino, no encontrando diferencias significativas en cuanto a la fertilidad dependiendo de las dosis empleadas. Anel y col., en 1992, no observaron diferencias en el porcentaje de fertilidad utilizando dosis que variaban de 12 a 80 x 10⁶, consiguiendo una media del 63% de fertilidad.

Momento de la inseminación

La utilización de la IA está íntimamente relacionada con el momento de la ovulación. La aplicación de dosis seminales debe realizarse después de la descarga de LH y pasadas 48 horas de la retirada del progestágeno (Robinson, 1988).

López Sebastián en 1991 realizó una experiencia orientada a determinar el momento de ovulación (64,3 ± 0,4 h) en ovejas de raza Manchega en estación desfavorable con celo sincronizado utilizando (FGA y MAP) y PMSG, así como la aparición del celo (33,7 ±

Cuadro II			
Fertilidad según tratamiento del semen			
Autor	M. natural	Diluido	Congelado
Dziuk, 1972	69%	48%	—
Langford, 1979	—	78%	43%
Fukui, 1976	—	64%	50,9%
Fukui, 1979	—	62%	39%
Armstrong, 1984	95%	83%	50%
López, 1988	—	54%	32%
Sánchez, 1991	55%	59,3%	—

Cuadro III		
Fertilidad dependiendo del tipo de inseminación		
Autor	IA (Cev.)	IA (Intraut.)
Graham, 1978	31%	73%
Fukui, 1976	20%	51%
Maxwell, 1986	—	57,4%
Vallet, 1988	47% (*)	57%
B. de Heredia, 1989	25-48%	35-52%
L. Sebastián, 1992	—	55,4-58,3%
Anel y col., 1992	38% (*)	63%

(*) Semen diluido.

La aplicación de dosis seminales debe realizarse después de la descarga del LH y pasadas 48 horas de la retirada del progestágeno.



1,2 h) y la descarga de LH ($37,1 \pm 1,8$ h). Urarte y col. (1992) trabajaron en la raza Laxta, determinando la aparición de celo (36,8 h) y el pico preovulatorio de LH ($44,3 \pm 6,30$), habiendo ovulado a las 60 h el 70% de las ovejas.

Langford *et al.* en 1983 sincronizó ovejas de raza Dam strans synthertic en Canadá empleando esponjas de acetato de fluorgestona (FGA) 30 mg en junio ó 40 mg en octubre durante 12 días, inyectando 500 u.i. de PMSG, inseminando 55 h de la retirada de las mismas, obteniendo un 60% y 74% de nacimientos respectivamente. Maxwell en 1986 con ovejas de raza Merina en Australia 30 mg. 12 días 400 u.i. de PMSG insemina a las 55 h con semen fresco y a las 72 h por laparoscopia dándole un 57,4% de fertilidad.

Hunton en 1987 consigue un 55,4% de fertilidad por vía intrauterina inseminando entre las 59 y 63 h. Findlater (1988) inseminó Colbred x Welsh Montain y OM Forest inseminando a las 48, 60 y 72 h de la retirada de esponjas, obteniendo los mejores resultados a las 48 y 60 h. Robinson *et al.* en 1989 obtienen los mejores resultados de fertilización cuando inseminan a las 60 h (67%) frente a las 36 y 48 h. Gabiñas y Folch (1987) sincronizan con 30 mg de (FGA) y utilizan 500-600 u.i. de PMSG inseminando a las 54 h.

Olmedo (1988) utiliza 30 mg (FGA) y 500 u.i. de PMSG en primavera y 286-403 u.i. en otoño inseminando 55 h de la retirada de las esponjas. Navarro y col. (1989) realizaron una experiencia para determinar el efecto del intervalo entre la retirada de esponja y el momento de la IA sobre la fertilidad en ovejas con celo inducido. Los mejores resultados los obtuvieron a las

56 h de la retirada de las esponjas. Anel y col. (1992b) no encontraron diferencias significativas entre distintos tiempos de inseminación (58/59 h, 65,7%; 62/63 h, 74,4% y 68/69 h, 64,3%), utilizando IAI.

Número de inseminaciones

Cuando se emplea semen refrigerado, la vía de inseminación utilizada es la vaginal profunda. Si las dosis seminales son congeladas y se realiza dicho tipo de inseminación, Visser y Salomon (1974) obtuvieron un incremento de la fertilidad con dos inseminaciones.

En el cuadro IV podemos comprobar distintos porcentajes de fertilidad cuando se utilizan una o dos inseminaciones.

Para Smith *et al.*, en 1978 la utilización de dos inseminaciones puede tener un efecto perjudicial debido al stress producido por el manejo a que son sometidas las ovejas en una segunda inseminación. Obtuvo una fertilidad significativamente más baja cuando realizó dos inseminaciones 68% frente a una sola inseminación, 78,3%. Langford (1982) no encuentra diferencias significativas haciendo una o dos inseminaciones, 76% de fertilidad ob-

tuvo con una inseminación y un 72% con doble inseminación. Curnock en 1984 realizó dos inseminaciones con semen congelado, obteniendo un 48% de fertilidad frente a un 28% con una sola inseminación, pero el total de espermatozoides por dosis no afecta el grado de concepción.

Sincronización

La sincronización del celo o reproducción controlada son términos para indicar el proceso seguido para que grupos de hembras muestren celo a la vez en respuesta a alguna forma de tratamiento. La posibilidad de realizar inseminaciones en períodos de inactividad ovárica, son factores favorables de la sincronización. La utilización de progestágenos (FGA, acetato de fluorgestona y MAP, acetato de medroxiprogesterona) en combinación con la acción de la PMSG han dado buenos resultados de sincronización. Dichos progestágenos se aplican incorporados en esponjas por vía vaginal. El empleo del afecto macho o el flushing alimenticio son otros métodos que se utilizan como técnica de sincronización (Notter, 1989; Folch, 1990).

La utilización de estos productos puede tener al mismo tiempo afectos negativos; (Hawk, 1982) demostró que el empleo de la prostaglandina F_{2a} o progestágenos son claramente depresivos de la progresión espermática. La causa no es conocida, pero supone que existe algún factor espermicida o ausencia de elementos que protegen al espermatozoide. Este mismo autor en 1987 demuestra que los tratamientos de superovulación reducen el número de espermatozoides en oviducto, útero y segmento de la parte anterior del cérvix e incrementa el porcentaje de espermatozoides muertos con alteración en la membrana.

Cuadro IV		
Número de inseminaciones		
Autor	(1) Inseminación	(2) Inseminaciones
Smith, 1978	78,3%	68%
Langford, 1982	76%	72%
Curnock, 1984	28% (*)	48% (*)
González, 1991	37,5%	52%
Cruz Mira, 1992	57,9%	83%

(*) Semen diluido.

RENTE AL DOLOR, LA FIEBRE Y LA INFLAMACION

SEGURO



FINADYNE[®]
INYECTABLE

De una vez por Todas



Schering-Plough, S. A.
División Veterinaria

Km. 36 Ctra. Nacional I. San Agustín de Guadalix (Madrid). Tels. 841 82 50 - 571 10 56

En este sentido Trejo en 1988 realizó una prueba de sincronización, obteniendo un 68-75% de celo en ovino sincronizado y un 100% en el grupo control con unos porcentajes de fertilidad con semen congelado de un 15,3% y 20% en ovejas sincronizadas y un 35% en el grupo control.

En España, la utilización de la IA en la especie caprina es todavía más limitada que en la especie ovina. En los últimos años se han realizado distintas experiencias orientadas al estudio de la calidad seminal de razas autóctonas a lo largo del año así como la puesta a punto de diferentes técnicas de conservación del semen en los procesos de refrigeración y congelación.

Roca y col. (1992a) y Pérez y col. (1991, 1992) han puesto de manifiesto la influencia de la época del año sobre la libido y la calidad seminal en las razas Murciano-Granadina y Verata respectivamente. Encontraron los resultados más bajos de calidad seminal y los tiempos de reacción (libido) en primavera. Dichos autores afirman que aunque existe una estacionalidad significativa, los eyaculados de los machos cabríos tienen unos parámetros tanto cualitativa como cuantitativamente aceptables a lo largo del año.

Dunner en 1991 en una experiencia encaminada a observar el efecto de diferentes diluyentes en la refrigeración del semen caprino, realizó una prueba de fertilidad con unos resultados del 30%.

Por último, con relación a los trabajos que se llevan a cabo en cuanto a procesos de crioconservación, sólo podemos reflejar resultados obtenidos a nivel de laboratorio. Estos estudios tienen como objetivo determinar la influencia de la estacionalidad sobre los procesos de congelación. Pintado y col. (1992) comprobaron *in vitro* la calidad postdescongelación en cuanto al porcentaje de motilidad y calidad de movimiento en la raza Verata siendo significativamente peor durante primavera, aunque la media de espermatozoides móviles a lo largo del año fue siempre igual o superior al 30%, estando el porcentaje de acrosomas normales en primavera por debajo de dicho valor. Roca *et al.* (comunicación personal) observaron que la motilidad postdescongelación en el semen de la raza

Murciano-Granadina, fue significativamente superior durante el otoño.

Por todo lo mencionado anteriormente, el conseguir que la IA no se limite únicamente a programas de selección sino que sea una técnica más dentro de los esquemas de producción, pasa por resolver una serie de puntos como son: 1.º Facilitación del tránsito cervical. El transporte espermático a través del cérvix es uno de los factores limitantes del porcentaje de fertilidad y 2.º congelación espermática, siendo su interés indudable para la difusión masiva de la técnica.

BIBLIOGRAFIA

ANEL, L.; BOIXO, J. C.; ANEL, E.; CARBAJO, M.; DOMÍNGUEZ, J. C.; OLMEDO, J. A.; ALVAREZ, M.; CHAMORRO, C. y PAZ, P. 1992a. VI Jornadas Inter. Reprod. An. I. A. Salamanca. 354-359.

ANEL, L.; BOIXO, J. C.; ANEL, E.; CARBAJO, M.; DOMÍNGUEZ, J. C.; OLMEDO, J. A. and MELCON, C. 1992b. 12th. Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. The Hague, 3. 1384-1386.

ARMSTRONG, D.T. and EVANS, G. 1984. J. Reprod. Fert. 71: 89-94.

BELTRÁN DE HEREDIA, I.; ARRESE, F.; URARTE, E.; LÓPEZ DE MUNAIN, J. M.; GABIÑA, D. y UGARTE, C. 1989. ITEA 4 250-252.

CAMERON, A. W. N.; TILBROOK, A. J.; LINDSAY, D. R.; KEOGH, E. J. and FAIRNIE, I. J. 1986. Anim. Reprod. Sci. 12: 189-194.

COLAS, C. 1979. Livestock Production Science 6: 153-166.

COLAS, G. 1980. Reprod. Nutr. Dévelop. 20 (6): 1789-1799.

COLAS, G. 1981. Reprod. Nutr. Dévelop. 21 (3): 339-407.

COLAS, G.; GUERIN, Y.; CLANET, V. and SOLARI, A. 1985. Reprod. Nutr. Dévelop. 25 (1A) pag. 101-111.

CURNOCK, R. M.; REED, H. C. B. and LOGUE, D. N. 1984. Anim. Prod. 38: 546.

CRUZ MIRA, M. 1992. VI JIRAIA, 323-341.

DAVIS, I. F. 1984. Australian Academy of Science. Camberra. Australia. 304-305.

DUNNERS, S. 1991. Tesis Doctoral.

DZIUK, P. J.; LEWIS, J. M.; GRAHAM, E. F. and MOYER, R. H. 1972. J. Anim. Sci. 35 (3): 572-575.

ENTWISTLE, K. W. and MARTÍN, I. C. A. 1972. Aust. J. Agric. Res. 23: 467-472.

FINDLATER, R. C. F. 1988. 11th. Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Dublín. 3: 12.

FOLCH, J. 1990. ITEA 86A (3): 145-163.

FUKUI, Y. and ROBERTS, E. M. 1976. 8th. Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem.

FUKUI, Y. 1979. Japan J. Anim. Reprod. 25: 160-169.

GABIÑA, D. y FOLCH, J. 1987. ITEA, 68: 15-25.

GARCÍA ARTIGA, C.; J. GARDE; A. GUTIÉRREZ; V. MONTORO; I. VÁZQUEZ. 1992. 43 Reunión Anual FEZ. 2. 235.

GONZÁLEZ, J.; MATEOS, I.; AMBRONA, J.; MATEOS, L. y ALVAREZ, J. 1989. ITEA, 9. 352-353.

GRAHAM, E. F.; CRABO, B. G. and PACE, M. M. 1978. XII Biennial Symposium on Anim. Reprod. vol. 47 suppl. II. 80-118.

HAWK, H. W.; CONNLY, H. H. and COOPER, B. S. 1982. Theriogenology. 18 (6): 671-681.

HUNTON, J. R.; FLICKER, S. F. and MAXWELL, W. M. C. 1987. J. Agric. Sci. Camb. 109: 189-191.

LANGFORD, G. A.; MARCUS, G. J.; HACKETT, A. J.; AINSWORTH, L.; WOLYNETZ, M. S. and PEETERS, H. F. 1979. Can. J. Anim. Sci. 59: 685-691.

LANGFORD, G. A. 1982. J. Anim. Sci. 54 (6): 1205-1211.

LANGFORD, G. A.; MARCUS, G. J. and BATRA, T. R. 1983. J. Anim. Sci. 57 (2): 307-312.

LÓPEZ, G. A. P. and PÉREZ, R. C. 1988. 11th. Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Dublín. 3, 271.

LÓPEZ SEBASTIÁN, A. 1991. Inv. Agr. Prod. Sanid. Anim., 6 (2), 123-131.

LÓPEZ SEBASTIÁN, A. 1992. ITEA 88A n.º 1, 70-75.

MARTÍN, I.C.A. and WATSON, P. F. 1976. Theriogenology, 5: 29-35.

MAXWELL, W. M. C. 1986. Anim. Reprod. Sci. 10: 301-308.

NÁVARRO, M. A.; TIRADOS, C. y LÓPEZ SEBASTIÁN, A. 1989. 4.ª Jornadas Inter. Reprod. An. I. A. León. 275.

NOTTER, D. K. 1989. Anim. Reprod. Sci. 19: 265-272.

OLMEDO OLMEDO, J. A. y MERINO LONGUE, E. 1988. ITEA, 74: 40-45.

OSINOVO, O.; AHMED, M. and EKPE, G. 1988. Theriogenology, 29 (2): 381-386.

PÉREZ, G. T.; CALDERÓN, F. F.; CUÉLLAR, C. L.; VIGIL, M. E.; PÉREZ, B.; MATEOS, E.; PINTADO, B. 1991. ITEA, 40-44.

PÉREZ, B.; MATEOS, E.; PINTADO, B. 1991. V Inter. Conference on goats. p. 273.

PINTADO, B.; PÉREZ, B.; MATEOS, E. 1992. V Inter. Conference on goats. p. 273.

ROBINSON, J. J. 1988. Aust. J. Biol. Sci., 41, 1-13.

ROCA, M. y FOLCH, J. 1979. ITEA, 37: 51-61.

ROCA, J.; MARTÍNEZ, E.; VÁZQUEZ, J. M.; COY, P. 1992. Anim. Reprod. Sci. (en prensa).

SÁNCHEZ, J.; GARDE, J.; MONTORO, V.; PONS, P.; G.ª ARTIGA, C.; FERNÁNDEZ, J. y RUIZ Poveda, J. 1991. ITEA 11, 2, 55-57.

SCHINDLER, H. and AMIR, D. 1973. J. Reprod. Fert. 34: 191-196.

SMITH, P. A.; BOLAND, H. P. and GORDON, I. 1978. J. Agric. Sci. 91: 511-512.

TREJO, G. A.; MUÑOZ, L. M.; RICO, P. O. and SILVA, M. C. 1988. 11th. Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Dublín, 302.

URARTE, E.; COGNIE, Y.; GABIÑA, D.; BELTRÁN DE HEREDIA, I. 1992. 43 Reunión Anual de la FEZ, 2. 181.

VALLET, J. C.; CASSOU, B.; DESPIERRES, E. and KOYMUJIV. 1988. 11th. Int. Congr. Reprod. Anim. Artif. Insem. Dublín. 303.

VISSER, D. and SALOMON, S. 1974. Aust. J. Biol. Sci. 27: 423-425.

WIEMER, K. and RUFFLE, J. 1987. Theriogenology, 28 (5): 625-629.

ZLATAREV, S. T. 1976. 8th. Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem. Cracow. 235.