

# FERTILIDAD EN OVEJAS DE PELO INSEMINADAS CON SEMEN CONGELADO REDILUIDO CON PLASMA SEMINAL

## Fertility in Hair Sheep Inseminated With Freeze Spermatozoa Rediluted With Seminal Plasma

*Alvaro Domínguez Rebolledo<sup>1</sup>, Luis Navarrete Sierra<sup>1</sup>, Alvar Cruz Tamayo<sup>2</sup>, Alfonso Aguiar Loria<sup>1</sup>, Sergio Erosa Denis<sup>1</sup>, Raúl Bolio Osés<sup>1</sup>, Eugenia González Parra<sup>1</sup>, Lorenzo Paredes Monsreal<sup>1</sup> y Julio Ramón Ugalde<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Centro de Selección y Reproducción Ovina. Instituto Tecnológico Agropecuario No 2. Km 16.3 Antigua Carretera Mérida-Motul, Conkal Yucatán México. E-mail: jramon@itaconkal.edu.mx. <sup>2</sup> Investigador del Centro de Selección y Reproducción Caprina y Ovina. San Luis Potosí

### RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la viabilidad espermática del semen congelado rediluido con plasma seminal a través de la fertilidad de 146 ovejas de pelo, inseminadas vía cervical e intrauterina. La fertilidad se midió en dos tiempos; retorno a celo a los 17 días postinseminación y diagnóstico de gestación por ultrasonografía a los 45 días postinseminación. Los datos de fertilidad se analizaron mediante el test de Ji-cuadrado. Los resultados obtenidos muestran que la adición del plasma seminal en el semen fresco no mejora la fertilidad ( $P > 0,05$ ) obtenida vía cervical e intrauterina, por el contrario, el semen congelado rediluido con plasma seminal, tanto en su aplicación cervical como intrauterina, mejora ( $P < 0,01$ ) los índices de fertilidad en un 41 vs 20% y un 50 vs 16%, respectivamente, a los 17 días postinseminación, resultados que persisten a los 45 días de gestación. Estos resultados permiten concluir que la redilución del semen congelado con plasma seminal proporciona una mayor recuperación de los espermatozoides dañados por choque frío, lo cual se ve reflejado en un mayor porcentaje de fertilidad.

**Palabras clave:** Semen, plasma seminal, rediluido, ovinos de pelo.

### ABSTRACT

The objective of this study was to determine the spermatozoa viability of the frozen semen rediluted with seminal plasma through the fertility of 146 hair sheep inseminated cervical and intrauterine way. The fertility was measured in two times; return to estrus to the 17 days postinsemination and pregnancy

diagnostic by ultrasound scanning to the 45 days postinsemination. The data of fertility were analyzed by means of the Chi-Square test. The obtained results showed that the addition of the seminal plasma in the semen fresh does not improve the fertility ( $P > 0.05$ ) obtained cervical and intrauterine way, on the contrary, the semen frozen rediluted with seminal plasma, so much in its cervical application as intrauterine, improvement ( $P < 0.01$ ) the fertility in a 41% and 50%, respectively to the 17 days postinsemination, results that persist to the 45 days of gestation. The results permit to conclude that the rediluted of the frozen semen with seminal plasma provides a greater recovery of the spermatozoa damaged by cold shock, which it is seen reflected in a greater percentage of fertility.

**Key words:** Spermatozoa, seminal plasma, rediluted, hair sheep.

### INTRODUCCIÓN

En los últimos años el interés por el uso de la inseminación artificial (IA) en los ovinos ha aumentado con el fin de mejorar los sistemas de explotación, así como la calidad genética de la especie. Por otra parte, la técnica de congelación del semen incrementa la posibilidad de utilizar la IA y facilita el desarrollo de programas tendientes a mejorar la calidad genética de los ovinos, reduciendo el costo de adquisición de sementales [6]. Sin embargo, pese a que el semen ovino presenta una aceptable supervivencia espermática al proceso de descongelación, se ha demostrado que el índice de concepción con semen congelado (42,2%) es por lo menos, 20% inferior al logrado con semen fresco [4]. La utilización del plasma seminal rediluido con semen descongelado revierte los daños ocasionados por el choque térmico

por frío, induciendo una restauración de las características de la superficie espermática, aumentando la proporción de espermatozoides con membrana íntegra [7], ya que el plasma seminal contiene proteínas aisladas, las cuales son adsorbidas sobre la superficie espermática, inhibiendo la fosforilación de proteínas aisladas de membrana de los espermatozoides [5]. En este sentido, aunque ha sido demostrado que el uso del semen congelado rediluido con plasma seminal favorece el índice de fertilidad [3], bajo condiciones tropicales no existen evidencias al respecto. El objetivo del presente trabajo, consistió en determinar la viabilidad espermática del semen congelado rediluido con plasma seminal a través de la fertilidad en ovejas de pelo inseminadas vía cervical e intrauterina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en los meses de septiembre-octubre 2003, en el Centro de Selección y Reproducción Ovina (CESyRO) del Instituto Tecnológico Agropecuario No. 2, ubicada en el Km 16,5 de la carretera Mérida-Motul, México, el cual presenta un clima Awo, temperatura media anual de 26,5°C, precipitación total de 900 mm, y 9 msnm [3].

Animales y sincronización de estros: En otoño, 146 ovejas de las razas Pelibuey, Blackbelly, Santa Cruz, Katahdin y Dorper, multiparas y secas, fueron sincronizadas mediante la inserción de una esponja vaginal impregnada con 40 mg de Acetato de Fluorogestona (FGA: CRONOGEST; INTERVET) mantenidas durante 12 días y una inyección de 200 UI de Gonadotropina Coriónica equina (eCG: FOLLIGON; INTERVET), al momento de la retirada de la esponja.

Recolecta del plasma seminal: Fue recolectado con vagina artificial directamente de 3 machos adultos (3 años de edad) vasectomizados en buen estado sanitario. Los eyaculados fueron mezclados para ser posteriormente almacenados en viales a una temperatura de -20°C.

Recolecta del semen: Se recolectó mediante vagina artificial. Los eyaculados fueron evaluados por volumen, motilidad (movimiento en masa y progresivo), concentración y morfología espermática.

Congelación del Semen: El semen fue procesado en fresco, a temperatura de laboratorio (aproximadamente 22°C), utilizando un diluyente comercial (Trilady; MINITUB) añadiendo agua biodestilada y yema de huevo en una proporción de 1:3:1. Tras un reposo de 4 horas a 5°C, el semen fue envasado en pajuelas de 0,25 ml con una concentración de  $100 \times 10^6$  espermatozoides/pajuela. Después, las pajuelas fueron congeladas en vapores de LN<sub>2</sub> a 4cm sobre la superficie del LN<sub>2</sub> por 10' y luego sumergidas en LN<sub>2</sub>.

Redilución del semen: Dosis de 0,25 ml de semen fresco y descongelado fueron rediluidos con 0,25 ml de plasma seminal previamente atemperado (37°C).

Inseminación: A las 48 y 56 h de la retirada de las esponjas, las ovejas fueron inseminadas vía cervical e intrauterina, respectivamente, con semen fresco y congelado, con y sin plasma seminal.

Diagnóstico de gestación: La fertilidad promedio se midió en dos tiempos; retorno a celo a los 17 días postinseminación y diagnóstico de gestación por ultrasonografía a tiempo real a los 45 días postinseminación (Thoshiba Sonolayer, mod.SAL-32, Japón).

Análisis estadístico: Los resultados de fertilidad se analizaron mediante el test de Ji-cuadrado del programa Statistix [9].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La adición del plasma seminal, tanto en semen fresco como en semen congelado, parece actuar de manera distinta en ambos casos; cuando se rediluye el semen fresco y se aplica vía cervical e intrauterina, no se logra un incremento en la fertilidad aunque no es significativo, por el contrario, el semen congelado rediluido con plasma seminal, tanto hasta aplicación cervical como intrauterina, mejora ( $P < 0,01$ ) los índices de fertilidad en un 41 y 50%, respectivamente (TABLA I). Este resultado a los 17 días persiste a los 45 días de gestación (TABLA II). Los resultados del presente estudio, guardan relación con los reportados por Maxwell y col. [7], en ovejas de clima templado, donde obtuvieron una fertilidad con semen congelado rediluido con plasma seminal y controles, aplicados vía cervical e intrauterina de un 51 vs 28; 60,5 vs 56,8%, respectivamente. En este trabajo, la fertilidad (41,1%) lograda a través de la inseminación con semen congelado rediluido con plasma seminal aplicado vía cervical bajo condiciones de clima tropical, resulta relevante a efectos prácticos, ya que compite abiertamente con el resultado obtenido en la inseminación intrauterina (50%), la cual además de requerir equipo y material costoso, hace poco recomendable su uso bajo condiciones de campo. Por otra parte, la obtención de plasma seminal, reportada en la literatura se realiza a través de la centrifugación y filtrado del eyaculado [1, 2, 5, 7, 8], lo cual difiere del método utilizado en el presente trabajo, ya que es obtenido directamente de machos vasectomizados lo que hace de esta técnica un método más sencillo de recolección.

## CONCLUSIÓN

La redilución del semen descongelado con plasma seminal proporciona una mayor resistencia a los espermatozoides dañados por choque térmico por frío, incrementando los índices de fertilidad.

## AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido financiado parcialmente a través del proyecto COSNET 773.01-P. Los autores agradecen la cooperación de Intervet y Distribuciones Agropecuarias del Sureste por el patrocinio parcial de este trabajo.

**TABLA I**  
**FERTILIDAD A LOS 17 DÍAS POSTINSEMINACIÓN DE OVEJAS DE PELO INSEMINADAS ARTIFICIALMENTE (IA)**  
**POR VÍA CERVICAL E INTRAUTERINA CON SEMEN FRESCO Y CONGELADO, CON Y SIN PLASMA SEMINAL /**  
**FERTILITY TO THE 17 DAYS POSTINSEMINATION OF HAIR EWES INSEMINATED BY CERVICAL AND INTRAUTERINE WAY WITH FRESH**  
**AND FROZEN SEMEN, WITH AND WITHOUT SEMINAL PLASMA**

Semen	Plasma seminal	N°	IA	Gestantes	Fertilidad (%)
Fresco	Con	15	Cervical	6	40,0
	Con	19	Intrauterina	17	89,4
	Sin	17	Cervical	5	29,4
	Sin	22	Intrauterina	17	72,2
Congelado	Con	17	Cervical		41,1*
	Con	18	Intrauterina		50,0*
	Sin	20	Cervical		20,0*
	Sin	18	Intrauterina		16,6*

\* (P&lt;0,01).

**TABLA II**  
**FERTILIDAD A LOS 45 DÍAS POSTINSEMINACIÓN DE OVEJAS DE PELO INSEMINADAS ARTIFICIALMENTE (IA)**  
**POR VÍA CERVICAL E INTRAUTERINA CON SEMEN FRESCO Y CONGELADO, CON Y SIN PLASMA SEMINAL /**  
**FERTILITY TO THE 45 DAYS POSTINSEMINATION OF HAIR EWES INSEMINATED BY CERVICAL AND INTRAUTERINE WAY WITH**  
**FRESH AND FROZEN SEMEN WITH AND WITHOUT SEMINAL PLASMA**

Semen	Plasma seminal	N°	IA	Gestantes	Fertilidad (%)
Fresco	Con	15	Cervical	5	33,3
	Con	19	Intrauterina	17	89,4
	Sin	17	Cervical	5	29,4
	Sin	22	Intrauterina	17	72,2
Congelado	Con	17	Cervical	7	41,1*
	Con	18	Intrauterina	9	50,0*
	Sin	20	Cervical	4	20,0*
	Sin	18	Intrauterina	3	16,6*

\* (P&lt;0,01).

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AZERÉDO, G.A.; ESPER, C.R.; RESENDE, K.T. Evaluation of plasma membrane integrity of frozen-thawed goat spermatozoa with or without seminal plasma. **Small Rum. Res.** 41: 257-263. 2000.
- [2] BARRIOS, B.; PÉREZ-PÉ, R.; GALLEGO, M.; TATO, A.; OSADA, J.; MUIÑO-BLANCO, T.; CEBRIÁN-PÉREZ, J.A. Influencia de la estacionalidad en la composición del plasma seminal ovino. **ITEA** 63: 844-846. 2000.
- [3] GOBIERNO DEL ESTADO DE YUCATÁN. **Los municipios de Yucatán**. Centro Nacional de Estudios Municipales (CNEM). Secretaría de Gobernación. 458pp. 1998.
- [4] COLAS, G. Effect of initial freezing temperature, addition of glycerol and dilution on the survival and fertilizing ability of deep-frozen ram semen. **J. Reprod. Fertil.** 42: 277-285. 1975.

- [5] GRASA, P.; PÉREZ-PÉ, R.; MARZO, A.; CEBRIÁN-PÉREZ, J.A.; MUIÑO-BLANCO, T. Influencia de las proteínas del plasma seminal sobre la capacitación de espermatozoides ovinos. **ITEA** 63: 847-849. 2000.
- [6] MAXWELL, W.M.C. Current problems and future potential of artificial insemination programmes. In: Lindsay DR/ Pearce DT. (Eds). **Cambridge (LJK)- Cambridge University Press**. 291-298 pp. 1984.
- [7] MAXWELL, W.M.C.; EVANS, G.; MORTIMER, S.T.; GILLAN, L.; GELLATLY, E.S.; MCPHIE, C.A. Normal fertility in ewes after cervical insemination with frozen-thawed spermatozoa supplemented with seminal plasma. **Reprod. Fertil. Dev.** 11: 123-126. 1999.
- [8] PÉREZ-PÉ, R.; CEBRIÁN-PÉREZ, J.A.; MUIÑO-BLANCO, T. Semen plasma proteins prevent cold-shock membrane damage to ram spermatozoa. **Theriogenol**, 56: 425-434. 2001.
- [9] STATISTIX. Versión 1,0 para Windows. Analytical Software. 1996.