



216
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMPARACION DE LA FERTILIDAD DEL SEMEN
DE OVINO ENVASADO EN PAJILLA FRANCESA
UTILIZANDO DIFERENTES RITMOS DE
DESCONGELACION.

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

EDUARDO SALAS REYES

ASESORES: DEBORAH FELDMAN STEELE
ANTONIO ORTIZ HERNANDEZ

MEXICO, D. F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1989





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

RESUMEN -----	1
INTRODUCCION -----	2
HIPOTESIS -----	3
MATERIAL Y METODOS -----	4
RESULTADOS -----	7
DISCUSION -----	8
LITERATURA CITADA -----	10

RESUMEN

SAIAS REYES EDUARDO. Comparación de la fertilidad del semen de ovino envasado en pajilla francesa utilizando diferentes ritmos de descongelación. (bajo la dirección de M.V.Z. Deborah Feldman Steele y M.V.Z. Antonio Ortiz Hernández).

El objetivo del presente trabajo fué comparar la fertilidad del semen de ovino envasado en pajilla francesa de 0.5 ml y descongelado a tres ritmos que son fáciles de realizar a nivel de campo. El trabajo se realizó en el Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México. Se utilizó un total de 101 hembras y cinco sementales de las siguientes razas: Suffolk, Hampshire, Finnish Landrace y dos Poll Dorset.

El semen se obtuvo por medio de una vagina artificial, se evaluó y diluyó con el diluyente de Tris, glicerina y yema de huevo. El semen diluido se congeló en pajillas francesas de 0.5 ml - con 300 millones de espermatozoides móviles. Se hizo la detección de calores dos veces al día utilizando machos vasectomizados provistos de un mandil. Las hembras detectadas en celo por la mañana se inseminaron en la tarde y las detectadas en la tarde, en la mañana del día siguiente. La descongelación del semen se hizo sumergiendo las pajillas en agua caliente a 36°C durante 8 segundos (Grupo I), a 40°C durante 11 segundos (grupo II) y a 55°C durante 8 segundos (Grupo III).

La inseminación de las hembras fue intracervical. La comparación de la fertilidad se realizó tomando en cuenta el número de ovejas paridas por grupo, utilizando la prueba de JI-CUADRADA. La fertilidad de los grupos I, II y III fue 14.70, 28.57 y 28.12 % respectivamente. No hubo diferencia entre los tres grupos ($p > 0.05$).

INTRODUCCION

La inseminación artificial (IA) en los ovinos ha tenido limitantes al hacerse comunmente con semen fresco, por lo que su uso generalizado se ve disminuido, ya que es necesario tener al semen tal cercano al lugar de las hembras limitando así el número de inseminaciones (5,14,19).

Al poder conservar el semen del ovino mediante la técnica de congelación se incrementan las posibilidades de usar la IA en los ovinos. Los programas de mejoramiento genético se verían acelerados y disminuirían los costos al evitar la adquisición de sementales probados (5,14,19) y al no tener que afrontar problemas de adaptación al medio (19).

El semen del carnero tiene una aceptable supervivencia espermática al ser descongelado. Sin embargo, los índices de fertilidad son inferiores por lo menos en un 20% respecto a los obtenidos al usar semen fresco, encontrándose una tasa de parición de 25-45% (5,13,19) y en el mejor de los casos de un 55% (14).

Algunas de las causas que afectan la viabilidad del semen congelado del ovino son; pérdida de membranas celulares e inactivación de un 20% de enzimas acrosomales (5,8,16) y pérdida de fosfolípidos (5,8,15). Estos daños se deben a que durante la congelación hay salida de agua intracelular hacia el medio que suspende las células para la formación de hielo (8).

La presencia de un crioprotector en el diluyente mejora la recuperación espermática. Se ha encontrado que un 5% de glicerol en el diluyente le brinda la suficiente protección a los espermatozoides para soportar el proceso de congelación y descongelación favorablemente (9,12,23).

Existen algunos trabajos que sugieren que los ritmos rápidos de descongelación a altas temperaturas son benéficos para la integridad acrosomal y fertilidad del semen en los bovinos (1,3,11,17).

Pero otros autores no han observado lo mismo, ellos recomiendan descongelar a temperaturas más bajas, cercanas a la corporal (2,7,10,26).

Existen pocas investigaciones en los ovinos (4,5,17,18,19-20) en las que se mencionan ritmos óptimos para descongelar semen de ovino envasado en pajilla francesa. Se ha observado una mayor motilidad progresiva con temperaturas de descongelación de 35°C que a 5°C, sin embargo no se encontraron diferencias entre 35°C y 75°C (19), aunque también se han observado mejores porcentajes de partición con semen descongelado a 75°C que con semen descongelado a 35°C (4,18). Algunos trabajos sugieren que no se obtienen diferencias significativas de fertilidad descongelando a 40°C durante 10 segundos y a 36°C durante 8 segundos que con la obtenida al descongelar a 70°C durante 4 u 8 segundos (5,17,20). Es importante mencionar que la descongelación a 70°C-75°C es difícil de realizarse a nivel de campo, debido a que es problemático mantener estas temperaturas fácilmente.

La finalidad del presente trabajo fue comparar la fertilidad del semen de carnero descongelado a una temperatura relativamente elevada pero fácil de manejar, con dos temperaturas cercanas a la corporal.

HIPOTESIS

El semen del ovino descongelado a 55°C durante 8 segundos es superior en fertilidad al descongelado a 36°C durante 8 segundos, así, como al descongelado a 40°C durante 11 segundos.

MATERIAL Y METODO

El presente trabajo se realizó en el Centro Ovino del Programa de Extensión Agropecuaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional Autónoma de México, ubicado en el km 29.5 de la carretera libre México-Guernavaca - que se encuentra a 19° 10' latitud norte y 99° 10' longitud oeste a 2760 m s.n.m. con 19°C de temperatura media anual y una precipitación de 800-1200 mm anuales (13).

Se utilizaron cinco sementales de las siguientes razas; Suffolk, Hampshire, Finnish Landrace y dos Foll Dorset. Se recolectó el semen usando una vagina artificial con una hembra como estímulos. Ya obtenido el semen, se llevó en un termo con agua a 35 C al laboratorio del Centro y se procedió a evaluar las características macroscópicas y microscópicas como son; volumen, movimiento en masa, movimiento progresivo, concentración y porcentaje de anomalías (14). Sólo se utilizaron eyaculados que contenían una concentración mayor a 2,000 millones de espermatozoides móviles por mililitro, con un movimiento progresivo no menor a 60% y con menos de 20% de anomalías morfológicas (5). Se utilizaron en total diez eyaculados.

El semen y el diluyente se mantuvieron a temperatura ambiente durante la evaluación y dilución.

1. El semen se diluyó en una proporción de 1:9 con el diluyente de Tris (Tris(hydroximetil) aminometano: 36.05 g, ácido cítrico: 20.24 g, fructosa: 14.88 g, agua bidestilada: 100 ml), adicionado de 20 % de yema de huevo y 5% de glicerol.
2. Se procedió a centrifugar a 200 μ durante 15 minutos.
3. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el vacuete de espermatozoides con el diluyente en la proporción requerida para obtener

una dosis de 300 millones de espermatozoides móviles por pajilla.

4. El envasado del semen diluido se hizo en pajillas francesas de 0.5 ml con una jeringa adaptada a un tubo de latex. Posteriormente el sellado se realizó con alcohol polivinílico.

5. Las pajillas se colocaron dentro de un vaso de poliuretano con agua a 22°C y se introdujeron al congelador durante dos horas, para su equilibramiento, tiempo en que el semen alcanzó una temperatura de 5°C.

6. El congelamiento de las pajillas se realizó por exposición a los vapores de nitrógeno líquido durante 10 minutos, a una distancia de 4.5 cm sobre el nivel del nitrógeno líquido.

7. Se depositaron en un termo de nitrógeno líquido y se almacenaron por un periodo de cuatro meses, hasta el día en que se utilizaron.

Se detectaron calores con machos vasectomizados provistos de un mandil, haciendo la detección por la mañana (7:00) y en la tarde (15:00). Las hembras que presentaron estro por la mañana se inseminaron en la tarde y las que se detectaron en la tarde se inseminaron en la tarde y las que se detectaron en la tarde se inseminaron en la mañana del día siguiente.

Para inseminar se utilizó una pistola de inseminación, fundas y puntas flexibles y un espéculo provisto de iluminación propia *, depositando el semen lo más profundo posible en el cervix

El primer grupo de hembras se inseminó con semen descongelado en agua a 36°C durante 9 segundos, el segundo grupo se inseminó con semen descongelado a 40°C durante 11 segundos y el tercer grupo con semen descongelado a 55°C durante 8 segundos.

* I.M.V. (Instruments de Médecine Veterinaire) Francia.

Durante los 50 días que duro el empadre se inseminaron un total de 101 hembras mayores de un año de las siguientes razas; Dorset, Suffolk, Terset, Tabasco y cruas de las mismas, siendo 34 para el primer grupo, 35 para el segundo y 32 para el tercero. Las pajillas utilizadas de los cinco sementales se distribuyeron al azar

La evaluación de la fertilidad se llevó a cabo tomando en cuenta el número de ovejas paridas por grupo, se comparó la fertilidad utilizando una prueba de JI-CUADRADA (25).

RESULTADOS

Al comparar los tres ritmos de descongelación se observó que no hubo diferencia significativa en la fertilidad de las ovejas.

Cuadro I Porcentaje de Fertilidad en ovejas inseminadas con semen descongelado a tres ritmos.

Tratamiento	No. De hembras inseminadas	No. De hembras paridas	Porcentaje de fertilidad
Semen descongelado a 36°C durante 8 segundos.	34	5	14.70%
Semen descongelado a 40°C durante 11 segundos.	35	10	28.57%
Semen descongelado a 55°C durante 8 segundos.	32	9	28.12%
Total	101	24	23.76%

($p > 0.05$)

DISCUSION

Como se observa en los resultados, no se encontró diferencia estadísticamente significativa en la fertilidad, entre los tres ritmos de descongelación utilizados. Esto coincide con los hallazgos de algunos autores (5,21,22) que tampoco encontraron diferencias al utilizar diferentes ritmos de descongelación. Por otro lado, algunos autores han observado que el descongelar a elevadas temperaturas (70°C-75°C) es benéfico para la integridad acrosomal y fertilidad del semen (1,3,11,17).

Existen trabajos en ovinos donde los porcentajes de parición son semejantes a los del presente trabajo (5,13,21,22) los que no llegan a un 30%. Sin embargo se ha encontrado una fertilidad de 42.2% al descongelar a 36°C durante 8 segundos (9), siendo aparentemente superior a lo encontrado en este trabajo. El manejo de las ovejas debe de ser cuidadoso después de inseminar y durante los siguientes días, para que no sea un factor que influya en la fertilidad, en este trabajo las ovejas sufrieron el manejo normal de la explotación pero en algunos momentos llegó a ser excesivo este manejo.

La mayoría de los autores esta de acuerdo en que la estructura anatómica del cervix de la oveja es determinante en el resultado de la inseminación, en virtud de que no permite fácilmente el flujo hacia el interior del semen depositado en él (14,19,24), lo que coincide con el hecho de que, al momento de inseminar, una parte del semen depositado tenía reflujo hacia el exterior del cervix, evitando que la dosis completa penetrara y disminuyendo así las posibilidades de fertilización del ovulo.

Este fenómeno ha conducido a ensayar técnicas diferentes, como la inseminación intrauterina (6,14,19), donde la fertilidad con semen congelado ha sido de 51% (6). Existen dos tipos de IA intrauterina; quirúrgica y no quirúrgica, la segunda se realiza como la intracervical, pero la pipeta está provista de una punta muy flexible que le permite atravesar los pliegues del cervix (19) sin embargo no es posible de realizarse en todas las ovejas, debido a la disposición irregular de estos pliegues, que no permiten el paso de la punta de la pipeta, además del riesgo de llegar a perforar el cervix (4). La quirúrgica se ayuda de la laparoscopia para localizar al útero, ya localizado se perfora con la pipeta de inseminación y se deposita el semen en el lumen uterino debe de realizarse por una persona entrenada, ya que podría no perforar por completo la pared del útero y no depositar el semen en él. Por lo anterior, la práctica de la IA intrauterina no es posible de realizarse a nivel masivo, por que requiere de equipo y personal capacitado.

Al no existir diferencia entre los tres tratamientos, se puede descongelar a 40°C durante 11 segundos, ya que es el método más sencillo de realizarse a nivel de campo, porque no varía demasiado la temperatura del agua después de sumergir la vejilla y se restablece esta sin dificultad, con los tres segundos de más, estos nos dan un margen de seguridad para realizar el procedimiento con tranquilidad y así evitar errores.

Es recomendable en trabajos posteriores con semen congelado en ovinos, ensayar una técnica de IA que permita obtener tasas de perición superiores a las del presente trabajo, para que se difunda su uso y mejorar la producción ovina al tener acceso a semen de animales genéticamente superiores.

LITERATURA CITADA

1. Ahmad, K.: Effect of thaw rates on survival of buffalo spermatozoa in straws. J. Dairy Sci. 67: 1535 - 1538 (1984).
2. Almquist, J.C., Grube, H.E. and Rosenberger, J.L.: Effect of thawing time on fertility of bovine spermatozoa in french straws. J. Dairy Sci. 65: 824 - 827 (1982).
3. Almquist, J.C., Rosenberger, J.L. and Brannan, R.J.: Effect of thawing time in warm water on fertility of bovine spermatozoa in plastic straws. J. Dairy Sci. 62: 772-775 (1979).
4. Andersen, K., Aamdal, J. and Fougner, J.A.: Intrauterine and deep - cervical insemination with frozen semen in sheep. Zuchthg 8: 113-115 (1973).
5. Angulo, M.R.B.: Determinación de la temperatura y tiempo óptimos para la descongelación del semen de ovino. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M., D.F. 1988.
6. Azzarini, M., Valledor, F.: Inseminación intrauterina con semen congelado en ovejas. Boletín Técnico, Cvinos y Ianas. 16: 7-14 (1987).
7. Brown, J.L., Senger, P.L. and Hillers, J.K.: Influence of thawing time and post-thaw temperature on acrosomal maintenance and motility of spermatozoa frozen in 0.5 ml french straws. J. of Animal Sci. 54: 938 - 944 (1982).
8. Bustamante, C.G.: Acción del Sulfoxido de dimetilo y glicerol como agentes crioprotectores del acrosoma del espermatozoide del carnero durante la congelación. Tesis de Maestría. Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. (1980).
9. Colas, G.: Effect of initial freezing temperature, addition of glycerol and dilution on the survival and fertilizing ability of deep frozen ram semen. J. Reprcd. Fert. 42: 277 - 285 (1975).

10. Chandler, J.E., Adkinson, R.W. and Nebel, P.J.: Thawing optimum for bovine spermatozoa processed by three methods and packaged in continental and french straws. J. Dairy Sci. 67: 398-404. (1984)
11. De Abreu, R.M., Berndtson, W.E., Smith, R.J. and Pickett, B.W.: Efecto of post-thaw warming on viability of bovine spermatozoa thawed at different rates in french straws. J. Dairy Sci. 62: 1449 - 1454 (1979).
12. Fiser, P.S. and Fairfull, R.W.: The effect of glycerol concentration and cooling velocity on cryosurvival of ram frozen in straws. Ann. Rech. Centre Cryobiology 26: 542- 551 (1984).
13. García, W.E.: Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen. 3a. ed. Offset Larios, México, D.F. (1981).
14. Gareth, E.: Salamon's insemination of sheep and goats. 2nd. ed. Star Printery Pty Ltd, Australia, (1986).
15. Jones, R. and Mann, T.: Damage to ram spermatozoa by peroxidation of endogenous phospholipids. J. Reprod. Fert. 50: 261- 267 (1977).
16. Jones, R. and Mann, T.: Lipid peroxides in spermatozoa, formation role of plasmatogen and physiological significance. Proc. R. Soc. B. 193: 317 - 321 (1976).
17. Jillo, A.: Lambing rates after single inseminations of ewes with liquid or deep-frozen semen. 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Illinois 1984. 373 -374. University of Illinois. Urbana, Champaign (1984).
18. Linze, P.: Field trials with frozen semen. I.B.A. 41: 1679 (1972).
19. López, P.G.A.: Evaluación de diferentes técnicas para la congelación de semen ovino. Tesis de Maestría. P.E.S. Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. Edo. de México (1987).

20. Mattos, R., Gunzel, A.R. and Neves, J.: Effect of different cryo biological factors on quality and fertility of frozen ram semen. A.B.A. 53: 3686 (1985).
21. Maxwell, W.M.C. and Hewitt, I.J.: A comparison of vaginal, - cervical and intrauterine insemination of sheep. A.B.A. 54: 3837 (1986).
22. Muñoz, L.M. y Trejo, G.A.: Comparación de la fertilidad del semen congelado en ovejas con estro natural y sincronizado con progestagenos. Memorias, Reunión de Investigación Pecuaria en México. 1986. 185. F.E.S. Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México Edo. de Mex.
23. Crizaga, V.J.A.: Efecto del congelamiento sobre la movilidad progresiva y la estructura acrosomal del espermatozoide de morrueco. Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. U.N.A.M. México, D.F. (1982).
24. Riera, G.S.: Some similarities and differences in female sheep and goat reproduction. 10th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. Illinois, 1984. vii. University of Illinois. Urbana Champaign (1984).
25. Said, I.G., Zárate, P.G.: Métodos Estadísticos. Trillas. México. (1984).
26. Vera, O.N.A.: Influencia de diferentes temperaturas de descongelación sobre acrosomas y movimiento progresivo de semen bovino envasado en pajuela francesa. Archivos de Med. Vet. XII: 287-288 (1980).