# Tasa de no retorno después de inseminación intrauterina vía laparoscópica con semen congelado de carneros australianos

## Non return rate after laparoscopic intrauterine insemination with frozen-thawed semen of Australian rams

Mellisho, E. 1 (\*); Terrel, W. 2

<sup>1</sup> Departamento de Producción Animal, Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú. <sup>2</sup> SAIS Pachacutec S.A.C., Junín-Perú. emellisho@lamolina.edu.pe

#### **RESUMEN**

El trabajo fue realizado en la Unidad de Producción Corpacancha de la SAIS Pachacutec, Junín, Sierra central del Perú a 4100 m.s.n.m. El objetivo fue evaluar la tasa de no retorno (36 días) después de la inseminación intrauterina vía laparoscópica con semen congelado de carneros australianos. Se utilizaron 187 ovejas adultas (2 a 5 años) de tres razas Corriedale (n=125), Merino (n=30) y Hampshire Down (n=32) criadas en forma extensiva en pastos naturales y cultivados. La sincronización de estros se realizó con esponjas intravaginales (60 mg de Acetato de Medroxiprogesterona, MAP) insertadas por un periodo de 13 días y la aplicación de 333 UI de eCG (gonadotropina coriónica equina) al final del tratamiento progestacional. La inseminación intrauterina vía laparoscópica se realizó a tiempo fijo (62-65h post retiro de la esponja intravaginal) depositando el contenido de una pajilla de 0,25 ml de semen de carnero Australiano en ambos cuernos del útero. La tasa de no retorno al celo antes de los 36 días (posible preñez) fue de 54,7%, 58,8% y 44,4% en ovejas Corriedale, Merino y Hampshire Down, respectivamente, mostrando diferencias estadísticas (p>0,05) entre la raza Hampshire Down con respecto a las razas Corriedale y Merino. En conclusión, la inseminación intrauterina vía laparoscópica utilizando semen congelado, es una herramienta muy útil para poner en marcha programas de mejoramiento genético a gran escala en ovinos.

Palabras clave: inseminación, laparoscopía, oveja, sincronización

## Abstract

The work was carried out at Corpacancha Production Unit of SAIS Pachacutec, Junin, Sierra Central of Peru. The objective was to evaluate the non return rate (36 days) after the intrauterine insemination via laparoscopy with frozen semen of Australian rams. 187 adult (2 to 5 years) ewes from three breeds: Corriedale (n=125), Merino (n=30) and Hampshire Down (n=32) bred in range system with natural and cultivated pasture. The estrus synchronization was done with intravaginal sponges (60 mg of Acetate of Medroxiprogesterone, MAP) inserted for a 13 days period and the application of 333 UI of eCG (equine chorionic gonadotrophine) at the end of the progestational treatment. The intrauterine insemination via laparoscopy was performed at fixed time (62-65 h post withdrawal of the intravaginal sponge) depositing the content of a 0,25 ml straw of semen from an Australian ram, into both uterine horns. The pregnancy was determine with non return rate at 36 days. The non return rate after 36 days (possible pregnancy) was 54,7%, 58,8% and 44,4% for Corriedale, Merino and Hampshire Down ewes, respectively. Hampshire Down ewes showed statistically significant differences (p>0,05) respect to the other breeds, Corriedale and Merino. In conclusion, the intrauterine insemination via laparoscopy using frozen semen is a useful tool to be implemented at large scale in sheep genetic improvement programs.

Key words: Insemination, laparoscopic, sheep, synchronization

## Introducción

La inseminación artificial (IA) con semen congelado juega un rol muy importante en programas de mejoramiento genético. Para cumplir este propósito es esencial lograr altas tasas de preñez. Sin embargo, la inseminación con semen congelado vía vaginal o cervical es de uso reducido debido a los pobres resultados de fertilidad (Salamon y Maxwell, 2000) a causa de la reducción de la viabilidad espermática producida por el proceso de congelación y descongelación (Salomon y Lightfoot, 1970). Varios investigadores (Eppleston y Maxwell, 1995; Salamon y Maxwell, 2000; Mellisho *et al.*, 2007) han reportado que esta técnica de inseminación laparoscópica permite lograr altas tasas de preñez.

Un factor importante para lograr una eficiencia apropiada de la inseminación es el momento del depósito del semen con respecto a la ovulación, lo cual en gran parte esta influenciado por el método de sincronización de celos y respuesta ovulatoria en un medio ambiente dado. En la Sierra del Perú, varios criadores ven la potencialidad de usar semen congelado comercial mediante inseminación vía laparoscópica en los programas de mejoramiento genético.

El siguiente trabajo tiene como objetivo de evaluar la tasa de no retorno al celo de la inseminación intrauterina vía laparoscopia con semen congelado de carneros Australianos en la Sierra Central del Perú.

## Materiales y Métodos

## Lugar

El trabajo se realizó en la Unidad de Producción Corpacancha de la SAIS Pachacutec, ubicado a 4100 m.s.n.m. en la provincia de Yauli, Junin-Perú, durante abril y mayo de 2007. Se utilizaron 187 ovejas adultas (2 a 5 años) con mas de 5 meses post parto (paridas en octubre del 2006) de tres razas (125 Corriedale, 30 Merino y 32 Hampshire Down) criadas en forma extensiva en pastos naturales y cultivados.

#### Sincronización de estro

Los ovejas fueron sincronizadas en estro con esponjas intravaginales (60 mg de acetato de medroxiprogesterona, MAP) insertadas en la vagina por un periodo de 13 días y al final del tratamiento progestacional se aplicaron 333 UI de eCG (gonadotropina coriónica equina, Folligon®, Lab. Intervet), similar al protocolo utilizado por Mellisho *et al.*, (2006).

## Inseminación artificial

Se utilizó el semen de tres carneros australianos de las razas Corriedale (CEP 04 5220), Hampshire Down (RAMSAY PARK 01 77) y Merino Dohne (MD 04 1792) que tenían una concentración aproximada de 45 millones de espermatozoides totales y una motilidad individual progresiva entre 50 a 60%. La inseminación se realizó en hembras detectadas en celo (60-65h post retiro del la esponja intravaginal), depositando el contenido de una pajilla de semen de 0,25 ml del carnero de la raza respectiva en la luz de ambos cuernos. La pipeta de inseminación fue acondicionada insertando una Scalp Vein Needle (aguja para vena del cuero cabelludo ó alitas) 23 G X 3/4 pulgadas de largo dentro de una funda de inseminación de vaca (ver Figura 1)



Figura 1. Pipeta de inseminación intrauterina en ovinos

La descongelación del semen se realizó extrayendo la pajilla del tanque criogénico con ayuda de una pinza y colocándolo en baño de agua a 38 °C por 15 a 20 segundos, para luego verter el contenido dentro de un tubo de ensayo de vidrio (seco y estéril) manteniéndolo a 33 °C previo a la inseminación intrauterina.

Las ovejas detectadas en estro fueron encerradas dentro de corrales al interior del galpón de esquila sin comida y agua 24 horas previo a la inseminación. Previamente se realizó el corte y rasurado del vellón de la zona del abdomen (área 7 cm debajo de los pezones) con el fin de limpiar y desinfectar adecuadamente la zona donde se ubicarían los trócares. El procedimiento de inseminación se inicia colocando a las ovejas encima de una camilla, sujeta de las patas y manos en posición cubito dorsal a 45°, para introducir el trocar de 7 mm y 5 mm a 5 cm (aprox.) debajo de la ubre, en el primero para colocar el endoscopio y en el segundo para introducir la pipeta de inseminación.

Después de aplicar el semen, se retiraron los instrumentos (pipeta de IA, endoscopio y trócares) y se desinfectó la zona utilizando un producto antiséptico, cicatrizante y antimiasis (Curabichera®, Lab. Pfizer). Luego se retiró a la oveja de la camilla a un lugar limpio donde se las mantuvo tranquilas antes de ser trasladadas a su corral o alojamiento.

La duración del procedimiento, desde colocar la oveja en la camilla para inseminar hasta dejarla en un lugar limpio, fue entre 4 a 5 minutos por lo que no fue necesario utilizar sedantes ni tranquilizantes durante el proceso de inseminación.

#### Evaluación de resultados

Las tasas de no retorno al celo (36 días post inseminación) entre las diferentes razas se compararon mediante el análisis estadístico el Z-Test (prueba de dos proporciones), a un nivel de significación de a <0,05. El procedimiento estadístico fue ejecutado con el software Statistical Minitab for Windows 2000 versión 13,2.

## Resultados y Discusión

Las tasas de ovejas en celo detectadas con machos enteros (con pechera) post retiro de esponja intravaginal fue 60%, 57% y 56% para las ovejas Corriedale, Merino y Hampshire Down, respectivamente, resultados por debajo a los reportados en otros estudios en ovejas Merino: 96,7% (Tekin *et al.*, 1992; 80,1% (Moses *et al.*, 1997) y en ovejas Black Belly: 95% (Mellisho *et al.*, 2006). Según Wildeus (2000), existen muchos factores que pueden afectar las respuestas de celo a la sincronización tales como raza, edad, alimentación, intervalo parto-inseminación, manejo, estación, efecto macho, tipo de hormona, técnica de sincronización etc. Esta reducida respuesta al celo en este experimento, podría deberse a la elevada condición corporal (3,0 a 5,0) que presentaron las ovejas sincronizadas, ya estas estaban siendo alimentadas en pasto cultivado. Ademas, posteriormente presentaron algunas complicaciones durante el proceso de inseminación vía laparoscopia, por el excesivo deposito de grasa en el peritoneo.

En el Cuadro 1 se muestra las tasas de no retorno al celo obtenidas en ovejas Corriedale, Merino, Hampshire Down inseminadas intrauterinamente con semen congelado vía laparoscopía. Al análisis estadístico (p>0,05) se observaron diferencias significativas en la tasa de no retorno al celo de la raza Hampshire Down, con respecto a las razas Corriedale y Merino.

Cuadro 1. Tasa de no retorno al celo (36 días post inseminación) de ovejas inseminadas con semen congelado por vía laparoscópica

Razas Corriedale	Sincronizadas 125	Inseminadas 75	Tasa de no retorno (día 36) %	
			41	54,7% a
Merino	30	17	10	58,8% a
Hampshire Down	32	18	8	44,4% b
Total	187	110	59	53,6%

Letras iguales indican que no existen diferencias estadísticas significativas.

Las tasas de no retorno al estro a 36 días después de la inseminación vía laparoscopía obtenidas en este estudio fueron similares a las tasas de preñez obtenidas: en ovejas Corriedale: 47,7% (Cueto *et al.*, 1993), en ovejas Merino 56% (Eppleston y Maxwell, 1995); 61% (Moses *et al.*, 1997) y 42% (Boretto *et al.*, 2002). Con la premisa de que la tasa de no retorno es una medida indirecta de fertilidad que parte de la condición de que una oveja que no retorna a celo está preñada.

La fertilidad esta afectada por factores tales como la técnica de inseminación, raza, edad, intervalo parto-inseminación, manejo, estación, y estado nutricional, entre otros (Anel *et al.*, 2005). Una alta tasa ovulatoria puede permitir lograr altas tasa de preñez, tal como lo reporta Mellisho *et al.*, (2006) de 72,5% en ovejas Black Belly. Además, se tienen reportes de mayores tasas de fertilidad cuando se usa semen congelado en pellets (71%) versus pajillas (56%). Esta diferencia podría deberse a la mayor velocidad en el proceso de congelamiento que favorece el mantenimiento de la viabilidad espermática (Gordon, 1997). En el presente trabajo se utilizaron pajillas de semen con una concentración alrededor de 45 millones de espermatozoides, lográndose una tasa de no retorno al celo de 53,6%. Asimismo, este resultado pudo estar influenciado por el numero de espermatozoides por dosis, tal como reporta Eppleston *et al.* (1994) que obtuvo una baja tasa de preñez (40%) al inseminar con dosis de 16 millones de espermatozoides, mientras que con dosis de 64 millones obtuvo tasas de preñez superiores (73%).

## **Conclusiones**

Es posible y más eficiente poner en marcha programas de mejoramiento genético a gran escala en ovinos utilizando semen congelado de carneros elite e inseminación intrauterina vía laparoscopía.

### Literatura citada

- Anel, L., M. Kaabi, B. Abroug, M. Alvarez, E. Anel, J.C. Boixo, L.F. De la Fuente y P. De Paz. 2005. Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. Theriogenology 63:1235-1247.
- Anel, L., J.C. Boixo, E. Anel, M. Carbajo, J.C. Domínguez, J.A. Olmedo y C. Melcon. 1992. Fertility of Churra ewes following intrauterine insemination by laparoscopy with frozen-thawed semen. Proc. 12th Intern. Congr. Anim. Reprod, The Hague, 3: 404 (abstract)
- Boretto, J.M., A.E. Gibbons, M.M. Bunge, M.I. Cueto y F. Bidinost. 2002. Calidad seminal postdescongelamiento en relación con la eficiencia reproductiva de la inseminación artificial laparoscópica en ovinos. CT-418 EEA Bariloche. 2002. En Revista de Medicina Veterinaria, Argentina 83(4):185-188
- Eppleston, J. y W.M.C. Maxwell. 1995. Sources of variation in the reproductive performance of ewes inseminated with frozen-thawed ram semen by laparoscopy. Theriogenology 43:777–88.
- Eppleston, J.; S. Salamon; N. Moore; G. Evans. 1994. The depth of cervical insemination and site of intrauterine insemination and their relationship to the fertility of frozen thawed ram semen. Anim. Reprod. Sci. 36: 221-225.
- Gordon, I. 1997. Chapter 4, Fixed-time sheep artificial insemination. In, Controlled reproduction in sheep and Goats. CABI publishing, UK. 449pp
- Mellisho E., Ordoñez I., Flores M. y Alvarado E. (2006) Comparación de la gonadotropina coriónica equina (eCG) convencional versus un producto comercial en la sincronización de estro en ovejas. Anales Científicos, Universidad Nacional Agraria La Molina. 2006 (aceptado para publicación, mayo 2006)
- Mellisho, E., R. Pinazo, L. Chauca, P. Cabrera y V. Rivas. 2006. Inseminación Intrauterina Vía Laparoscópica de Ovejas Black Belly con Semen Congelado. Rev. Investig. Vet. Perú, 17(2): 131-136.
- Moses, D., A.G. Martinez, I.G. Dorio, A. Valcarcel, A. Ham, H. Pessi, R. Castañon y A. Maciá y M.A De las Heras. 1997. A large-scale program in laparoscopic intrauterine insemination with frozen-thawed semen in Australian merino sheep in Argentine Patagonia. Thenogenology 48:651-657.
- Salamon, S. y W.M.C. Maxwell. 2000. Storage of ram semen. Animal Reproduction Science, 62:77-111.
- Salamon, S. y R.J. Lightfoot. 1970. Fertility of ram spermatozoa frozen by the pellet method. III. The effects of insemination technique, oxytocin and relaxin on lambing. Journal Reproduction and Fertility, 22:409-423.
- Tekin, N., A. R. Gunzelapel, N. Yurdaydin, Y. Yavas, A. Daskin, O. Keskin y H. Etem. 1992. Investigations upon oestrus synchronization and artificial insemination in ewes of different breeds. Zuchthygiene (Berl.) 27:141-147.
- Wildeus S. 2000. Current concepts in synchronization of estrus: Sheep and goats. J. Anim. Sci. 77:1-14