



MANUAL DE INSEMINACION ARTIFICIAL EN LA ESPECIE OVINA

**Dr. Alejandro Gibbons
Ing. Marcela Cueto**

**Reproducción & Genética
Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria
Estación Experimental Agropecuaria Bariloche
Centro Regional Patagonia Norte**

INSEMINACION ARTIFICIAL EN OVINOS

Grupo de Reproducción del INTA Bariloche
Ing. Agr. M.I. Cueto y Méd. Vet. A.E. Gibbons

INTRODUCCION	3
FISIOLOGIA DE LA REPRODUCCION EN OVEJAS.....	3
SELECCION DE LAS OVEJAS A INSEMINAR	5
SINCRONIZACION DE ESTROS.....	6
1. Métodos farmacológicos	6
2. Métodos naturales	9
PREPARACION DE MACHOS MARCADORES	10
INSEMINACION ARTIFICIAL CON SEMEN FRESCO.....	11
Manipulación y examen del semen	11
Inseminación artificial cervical	12
INSEMINACION ARTIFICIAL CON SEMEN CONGELADO.....	13
Descongelamiento y examen del semen post descongelamiento.....	14
Preparación de las hembras para inseminar.....	15
Inseminacion artificial intrauterina.....	15
INSEMINACION TRANSCERVICAL CON SEMEN CONGELADO.....	16
MOMENTO DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL	17
MANEJO DE LAS OVEJAS DESPUES DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL.....	18
ANEXOS.....	19
Fabricación de esponjas intravaginales con progestágenos.....	19
BIBLIOGRAFIA	19

INTRODUCCION

La inseminación artificial es una técnica de reproducción por la cual, el semen de los machos colectado artificialmente, es depositado en el tracto reproductivo de las hembras para producir la fecundación de los óvulos maduros.

De este modo, el hombre aplica técnicas sobre el proceso reproductivo, manejándolo de acuerdo a objetivos de producción. Fundamentalmente, se emplea para multiplicar las características productivas deseables de reproductores de alto valor genético.

La inseminación artificial incrementa notablemente el aprovechamiento de un reproductor, al permitir obtener un gran número de crías del mismo padre. Esto es posible debido a que mediante un adecuado fraccionamiento del semen, se obtiene un número importante de dosis por eyaculado.

Las técnicas de congelamiento del semen posibilitan aún más la multiplicación y difusión de genes, al tiempo que permiten su conservación en nitrógeno líquido (a -196°C bajo cero) por un período ilimitado de tiempo.

El empleo del semen congelado ovino puede producir un gran impacto en el mejoramiento genético a nivel mundial, al aumentar considerablemente el flujo de material genético de las cabañas hacia las majadas generales, así como al facilitar el transporte de semen a nivel internacional. De esta manera, se evita el costoso traslado de los reproductores y se disminuye el riesgo sanitario.

La implementación de pruebas de progenie en Estaciones de Prueba, ha brindado la posibilidad de comparar de manera muy precisa las características de producción de carneros de distintas cabañas, edades e incluso países, a través de la medición de la producción media de su descendencia, nacida de una misma majada general y en un mismo hábitat.

Por último, es de destacar la posibilidad que brinda esta técnica de conservar la variabilidad genética de la especie sujeta a un continuo proceso de mejoramiento de sus características productivas.

FISIOLOGIA DE LA REPRODUCCION EN OVEJAS

La actividad reproductiva de la especie ovina es poliéstrica estacional, caracterizada por una época del año en que la gran mayoría de las hembras presenta cíclicamente estros o celos (estación sexual), y otra época del año en que un porcentaje variable de las mismas -según la raza- presenta inactividad sexual (anestro).

La mayor actividad reproductiva se presenta en el período otoño-invernal, estimulada por el acortamiento del período diario de luz solar. Experiencias realizadas en la raza Merino, en el Campo Experimental Pilcaniyeu (Río Negro), por el Grupo de Reproducción del INTA Bariloche, demostraron que entre el 95 y 100% de las ovejas se encuentra ciclando entre los meses de marzo y julio; estos porcentajes disminuyen a valores de alrededor del 60% entre agosto y febrero.

A comienzos de la estación reproductiva, las ovejas presentan generalmente una primera ovulación, no acompañada por su comportamiento sexual característico (celo silente), debido a la ausencia de un cuerpo lúteo previo. En algunos animales se presentan celos de una duración más corta que lo normal, como consecuencia de una regresión prematura del cuerpo lúteo. Por ambos motivos, el lapso de tiempo transcurrido entre los primeros celos que se manifiestan al inicio de la estación de cría, es variable.

El celo o estro es el período fértil que se presenta en la oveja a intervalos regulares de 17 ± 1 días, a menos que haya quedado preñada. Se denomina ciclo estral al período transcurrido entre celos.

El ciclo estral se puede dividir en 2 fases: folicular y luteal. La fase folicular es relativamente corta (3-4 días), mientras que la fase luteal ocupa el resto del ciclo (14 días).

Fase folicular

El crecimiento folicular está regulado por 2 hormonas, las gonadotrofinas, que liberadas en el torrente sanguíneo por la glándula hipofisiaria, ejercen su acción en el ovario. Estas hormonas son la foliculo estimulante (FSH) y la luteinizante (LH). La FSH estimula el crecimiento temprano de los folículos, mientras que la LH es necesaria para completar la fase final de su crecimiento. Asimismo, las gonadotrofinas estimulan a los folículos en la secreción de estrógenos. Cuando el nivel de estrógenos en sangre es suficientemente alto, se produce la liberación de un pico de LH. Este llamado pico pre-ovulatorio de LH, provoca cambios en las paredes del folículo, determinando su ruptura y consiguiente liberación del óvulo, 18-24 horas más tarde.

El celo se presenta durante la última mitad de la fase folicular; los folículos maduros o de Graaf son responsables de la producción de estrógenos que determinan los cambios anatómicos y de comportamiento asociados con el estro. Los signos externos de manifestación del celo en la oveja no son muy marcados. Estos incluyen el enrojecimiento de la vulva y la secreción vaginal de mucus. Sin embargo el único signo

inequívoco de que una hembra está en celo, es que permanezca inmóvil ante el intento de cópula.

En la oveja Merino, la duración del celo varía entre 24 y 42 horas, y en las borregas 24-32 horas. El momento de la ovulación es referido al inicio del celo; normalmente se presenta 25 a 30 horas después.

Fase luteal

Luego de la ovulación, las células de la granulosa en la pared rota del folículo de Graaf proliferan y se transforman en células luteínicas que llenan el antro del folículo. Al cabo de 4-5 días, se habrá formado un cuerpo sólido y amarillo, denominado cuerpo lúteo, responsable de la secreción de progesterona. Esta hormona prepara al útero para la anidación del embrión. Los niveles de progesterona alcanzan un pico alrededor de 6 días después de la ovulación y permanecen altos durante toda la gestación. De no ocurrir gestación, el cuerpo lúteo decrece en tamaño, se vuelve pálido y su secreción comienza a decaer. Con el decaimiento del nivel de progesterona sanguínea al final de la fase luteal, se inicia el crecimiento de nuevos folículos.

La secreción de un agente luteolítico producido por el útero, la prostaglandina-F2 alfa, determina la pérdida de actividad biológica del cuerpo lúteo en las ovejas no preñadas. Esta circunstancia es de sumo interés pues la administración exógena de prostaglandinas sintéticas puede ser utilizada para sincronizar celos durante la estación reproductiva.

SELECCION DE LAS OVEJAS A INSEMINAR

Los programas de inseminación artificial (IA) y mejoramiento genético están normalmente destinados a las ovejas de alto valor genético de la cabaña o del establecimiento.

Antes de incorporar los animales a un programa de inseminación, es necesario tener en cuenta los siguientes aspectos de nutrición, sanidad y reproductivos:

- Las hembras deben alcanzar 2.5-3 puntos de condición corporal un mes antes de la inseminación. La condición corporal es un valor subjetivo o índice de la gordura de los animales. Consiste en medir la deposición grasa de los músculos lumbares, situados por debajo de las apófisis transversas de las vértebras lumbares (máximo, 5; mínimo, 0).

- Las ovejas deben estar libres de enfermedades y parásitos.

- El destete de los corderos debe realizarse 6 a 8 semanas antes de la inseminación.

- Se deben refugar las ovejas "viejas" y con problemas de ubre (pezones ciegos, ubres cortadas, mastitis), como así también aquellas ovejas que no hubieran retenido servicio por 2 años consecutivos.

SINCRONIZACION DE ESTROS

Los métodos de sincronización de estros constituyen una herramienta de gran utilidad en los programas de IA, ya que facilitan el manejo de los animales al evitarse el encierre diario para la detección de celos naturales. Se pueden dividir en: 1) farmacológicos y 2) naturales.

1. Métodos farmacológicos

Tienen la ventaja de concentrar un alto porcentaje de celos en un período corto de tiempo, lo que facilita la programación y realización de los trabajos de IA. Haremos referencia a los 2 más utilizados:

a) Las esponjas intravaginales con progestágenos y b) Las prostaglandinas sintéticas.

1a) Esponjas intravaginales con progestágenos

Simulan la acción de un cuerpo lúteo mediante la liberación lenta de progesterona. Se colocan en la vagina de la hembra por 12-14 días, período de tiempo que iguala o excede el tiempo de vida media del cuerpo lúteo.

Este método permite alcanzar una elevada concentración de celos y llevar a cabo la IA a un tiempo fijo luego de finalizado el tratamiento hormonal (IA sistemática). Asimismo concentra los estros fuera de la estación reproductiva, permitiendo la producción de corderos en contra-estación.

Debido a que hay un porcentaje variable de ovejas que no responden al tratamiento o que no presentan la ovulación sincronizada con el resto, como así también a la alteración del transporte espermático producida por efecto de los progestágenos, se aconseja la utilización de progestágenos en forma combinada con una dosis de Gonadotrofina de Suero de Yegua Preñada (PMSG).

La PMSG se administra por inyección intramuscular al momento de retirar las esponjas, en la estación reproductiva; o 48 horas antes del retiro, en el anestro estacional. La PMSG provoca un pico importante de estrógenos, induciendo la aparición

de un pico preovulatorio de LH y la ovulación, al mismo tiempo que mejora la sincronía de los celos. Las dosis utilizadas de PMSG varían entre 200 y 400 UI, dependiendo fundamentalmente del peso corporal, de la raza y de la época del año, aconsejándose probar en principio la dosis menor. Dosis elevadas de PMSG ocasionan ovulaciones y gestaciones múltiples, generando altas pérdidas de animales por toxemia de la preñez y mortalidad perinatal.

Entre las 24 y 72 horas post-retiro de las esponjas y aplicación de PMSG, se presenta un 85-95% de las ovejas en celo, alcanzándose la mayor concentración de estros entre las 36 y 48 horas (Gráfico I). La mayoría de las ovejas presenta la ovulación alrededor de las 60 horas post-retiro de las esponjas.

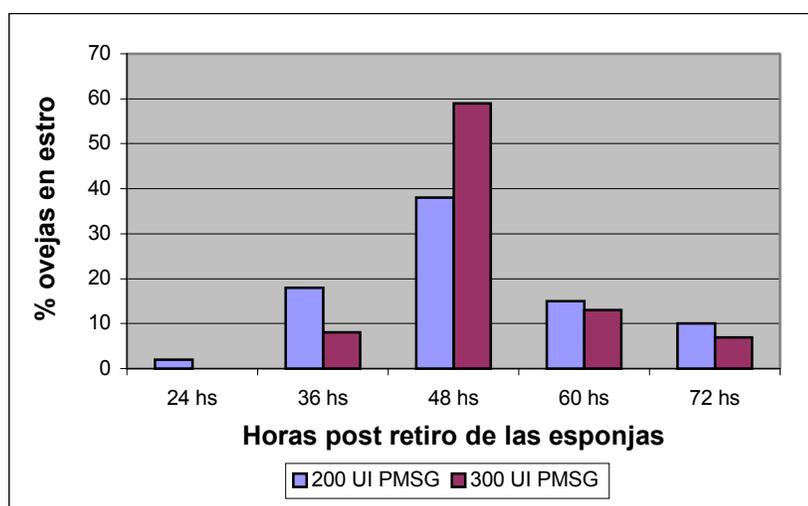


Gráfico I. Distribución de la presentación de los estros según la dosis de PMSG en ovejas Merino tratadas con esponjas intravaginales con progestógenos.

Colocación y retiro de las esponjas

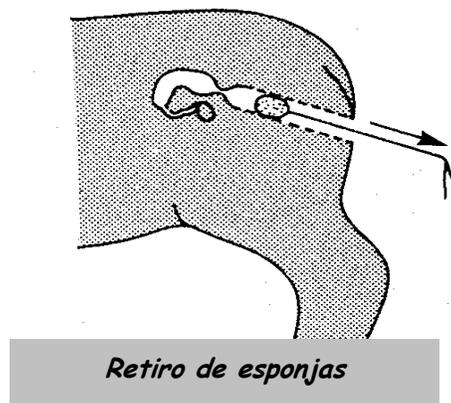
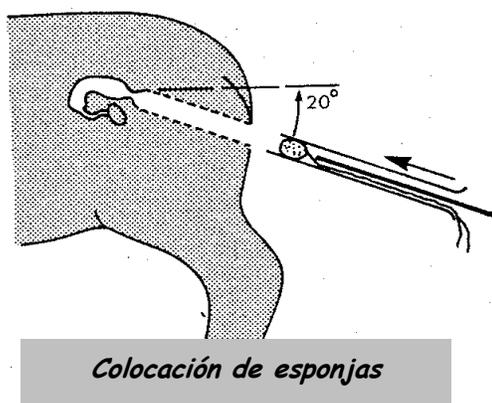
1. Antes de proceder a la colocación de las esponjas, es conveniente rociarlas externamente con un antibiótico en aerosol sin corticoides.
2. La esponja se comprime e introduce en el extremo biselado del aplicador, cuidando que el hilo cuelgue hacia afuera.
3. El vástago se coloca dentro del aplicador por el extremo libre hasta que haga contacto con la esponja.
4. El aplicador es humedecido externamente con vaselina.

5. Para facilitar la maniobra de colocación de la esponja es conveniente que la hembra esté parada en posición natural. El aplicador y vástago son introducidos suavemente hasta el fondo de la vagina.

6. El tubo aplicador se retira unos 3-4 cm manteniendo el vástago en su sitio, hasta liberar la esponja.

Para retirar las esponjas, se tira firme pero suavemente del hilo hacia atrás, manteniendo una leve inclinación hacia abajo.

Si algún animal no presentase el hilo visible, será aconsejable verificar por medio de un vaginoscopio, que la esponja no se encuentre en el interior de la vagina.



No se recomienda utilizar esponjas en las borregas de primer servicio ya que, debido a la necesidad de romper el himen durante su colocación, un gran número de animales presentará los laterales de la esponja adheridos a las paredes internas de la vagina al momento de su retiro. Una posibilidad sería romper el himen con el aplicador de esponjas, y colocar las esponjas una semana después.

El costo de sincronización de estros mediante el empleo de esponjas y PMSG es de 3 \$ por oveja. Este costo puede reducirse mediante la fabricación de esponjas (ver Anexo).

1b) Prostaglandinas sintéticas

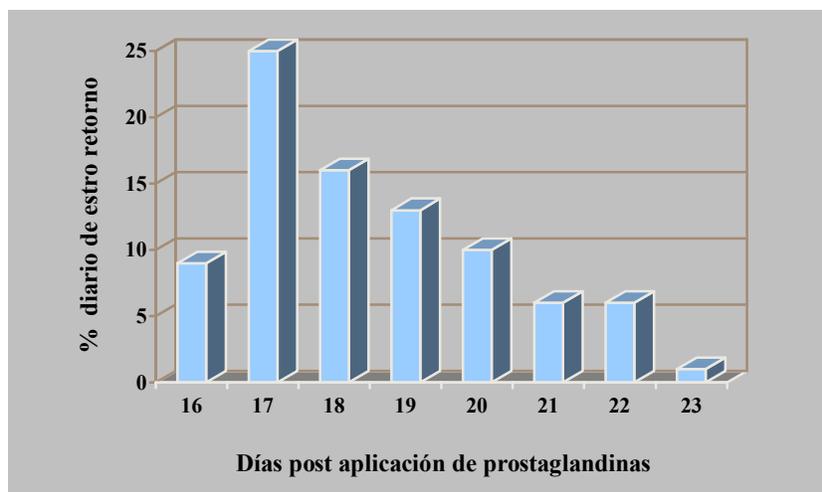
Simulan la acción de la prostaglandina F2 alfa, agente luteolítico liberado por el útero, acortando la vida del cuerpo lúteo. Por este motivo, sólo pueden utilizarse durante la estación reproductiva. Dado que los celos se presentan más dispersos que en el tratamiento con esponjas, la IA se realiza con previa detección de celos.

Las prostaglandinas inducen la regresión luteal entre los días 5 y 14 del ciclo estral en ovejas, con manifestación de celo entre las 48 y 84 horas de aplicada la inyección. Las ovejas que se encuentren entre el día 15 y 17 del ciclo, experimentarán luteólisis en forma natural y entrarán en celo dentro del mismo intervalo. En tanto que las que se encuentren entre los días 0 y 4 son refractarias a la prostaglandina y se alzarán recién 13-17 días más tarde.

Por lo tanto, nosotros recomendamos su administración en una sola aplicación, alcanzándose una concentración de celos del 65-75%. Debido a la menor fertilidad de los estros inducidos hormonalmente, es preferible inseminar sobre el segundo celo post-sincronización (celo natural), comenzándose con la detección de celos a partir del día 16 post-aplicación y durante un período de 5 días. La detección de celos puede realizarse mediante la incorporación de un 4% de machos retajos marcadores.

En nuestra experiencia, 50 microgramos/oveja de Delprostenate en 1 sola inyección intramuscular, concentran un 70% de los celos en ovejas adultas (Gráfico II). En borregas este porcentaje puede variar entre el 55 y 70% según su estado corporal.

El costo por aplicación es aproximadamente de 1 \$.



Gráfico

Distribución de la presentación de los estros retorno en ovejas Merino tratadas con prostaglandinas.

II.

2. Métodos naturales

La actividad sexual de las ovejas puede ser inducida al comienzo de la estación de cría, por la acción que sobre la fisiología reproductiva, ejerce la incorporación de los machos en una majada de hembras que haya permanecido aislada de los mismos por

un período mínimo de 4 semanas. Este estímulo sexual se denomina "efecto macho". Si bien es un método económico, se observa una concentración de celos variable.

Se utilizan machos jóvenes vasectomizados en una proporción del 4%, preferentemente no borregos y en buen estado corporal.

Para que este método sea efectivo es necesario que un gran porcentaje de hembras se encuentre en anestro, próximas al inicio de la estación de cría. Entre el 40 y 100% de las ovejas en anestro estacional responde ante la presencia de los machos, presentando 2 momentos de concentración de celos, alrededor de los días 18 y 24 post-introducción de los machos.

El conocimiento de este efecto puede ser importante para promover la salida del anestro en especies muy estacionales. Sin embargo, no se recomienda su utilización para trabajos que requieren alta concentración de celos tales como la IA.

PREPARACION DE MACHOS MARCADORES

Los machos marcadores se utilizan normalmente para facilitar la detección de hembras en celo. Pueden ser a) Machos enteros con arneses, b) Vasectomizados o c) Capones a los cuales se les induce la actividad sexual.

En Patagonia, se aconseja la utilización de machos vasectomizados. Estos se introducen a la majada con el pecho, axilas y antebrazos embebidos con Ferrite (polvo utilizado en la tinción de pisos) en agua. El Ferrite se coloca por la mañana y por la tarde, aconsejándose la utilización de los colores rojo y negro, que son bien visibles a campo. En caso de realizarse más de una detección de celos en la misma majada, será conveniente utilizar primero el color rojo y el negro en el celo retorno, que resulta visible sobre el primero.

Para la preparación de machos marcadores, será conveniente elegir animales jóvenes de buena libido, que podrán ser utilizados como marcadores por un lapso mayor de tiempo. Serán sometidos a una operación de vasectomía (deferectomía), ya sea quirúrgicamente o por laparoscopia.

- Cirugía

La operación se realiza con anestesia local, una vez esquilada y desinfectada el área escrotal. Se palpan los conductos deferentes a la altura del cuello del escroto. Se realiza una pequeña incisión para cada testículo a través de la piel y túnica vaginalis. Se procede a la exteriorización y remoción de 1-2 cm del conducto deferente. Se aplica antibiótico en polvo y se sutura la piel.

- Laparoscopia

El macho es colocado en una camilla en decúbito dorsal, previo ayuno de 24 horas. La operación consiste en la exteriorización y remoción de 1-2 cm de cada uno de los conductos deferentes, a través de 2 orificios realizados en la pared abdominal con un trócar de 10 mm. Un sistema óptico (laparoscopio), conectado a una fuente de luz por medio de una fibra óptica, e introducido en la cavidad abdominal mediante una punción, permite la visualización de los órganos internos y la exteriorización de los conductos deferentes.

Los machos exhibirán comportamiento sexual y montarán dentro de los 2 ó 3 días posteriores a la cirugía o laparoscopia. Sin embargo, será conveniente no utilizarlos hasta 10 días después de la operación.

INSEMINACION ARTIFICIAL CON SEMEN FRESCO

Manipulación y examen del semen

El semen colectado en la vagina artificial o mediante el empleo del electroeyaculador, es conservado en baño de agua a una temperatura de 28-30 °C durante su evaluación y posterior utilización.

Es de suma importancia que el tiempo transcurrido entre la obtención del eyaculado y la última inseminación sea el menor posible (alrededor de 1 hora), extremándose este cuidado en caso de tratarse de semen sin diluir.

Antes de proceder a su utilización, el eyaculado debe ser evaluado al microscopio (100 aumentos), observando fundamentalmente que el mismo posea una motilidad masal (valor subjetivo del vigor de movimiento de las ondas; 0, mínimo; 5, máximo), igual o superior a 3.

La dilución del semen obtenido se realiza en forma aproximada, asegurándose una cantidad de 100 a 150 millones de espermatozoides totales por dosis de inseminación de 0.02-0.25 cc. Por ej., si se tiene un eyaculado de 1 cc y una concentración estimada de 4000 millones de espermatozoides/ml para inseminar 30 hembras, mediante la adición de 2 cc de diluyente al semen, se completan 30 dosis de inseminación de 0.1 cc por animal (semen diluído).

En Uruguay, donde usualmente la IA se realiza con semen fresco sin diluir, en la mayoría de los casos se fija una dosis constante de 0.02 cc por oveja (semen puro).

Si bien la frecuencia con la cual se puede obtener semen de un carnero depende de su líbido, condición corporal, edad, etc., se recomienda un régimen de 2-3 saltos por día por un período de 4-5 días, seguido de un descanso de 2-3 días.

El examen del semen al microscopio durante el transcurso de la inseminación permitirá ir verificando su motilidad. El semen se homogeneizará mediante agitación, en forma periódica, durante su utilización. El material de inseminación que entre en contacto con el semen estará debidamente templado y seco.

(Para mayor información consultar el Manual de "Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino", Comunicación Técnica de Producción Animal del INTA Bariloche N° 200).

Inseminación artificial cervical

La inseminación cervical puede llevarse a cabo mediante una pistola de inseminación multidosis, que permite mediante un émbolo dentado, inseminar varias ovejas una vez cargado el semen, así como graduar el volumen de la dosis de inseminación.

El semen se aspira desde el tubo de colección, dejando previamente una cámara de aire de 2 cc.

El lugar donde se practicará la inseminación debe estar limpio, a una temperatura ambiental de 20-25 °C y libre de corrientes de aire.

Las ovejas deben sujetarse en un mínimo de tiempo, evitando causar stress innecesario en los animales.

Para realizar la inseminación cervical, las hembras se presentan inclinadas cabeza-abajo, con los cuartos traseros montados sobre una baranda o riel. También podrán sujetarse mediante un brete giratorio situado a la salida de la manda.

Se limpia la vulva con una toalla de papel descartable y se aplica una muy pequeña cantidad de vaselina para facilitar la introducción del vaginoscopio. Este se introduce lentamente hasta el fondo de la vagina de la hembra, donde se localiza el orificio de entrada al útero (cérvix). En el caso de presentarse moco abundante que dificulta su localización, mediante una vaina plástica con jeringa, se absorbe y se elimina.

Se solicita el semen a un auxiliar. La punta de la vaina de inseminación se guía hasta la entrada del orificio uterino y es introducida mediante suaves movimientos giratorios, hasta donde se presente resistencia (Gráfico III).

Una vez descargado el semen es conveniente que la hembra permanezca durante 2 ó 3 minutos en la posición de inseminación, y luego en un brete contiguo a los machos por un par de horas.

Los porcentajes de preñez logrados en inseminación cervical con semen fresco, y dosis de 100-150 millones de espermatozoides, varían entre el 60 y 70%.

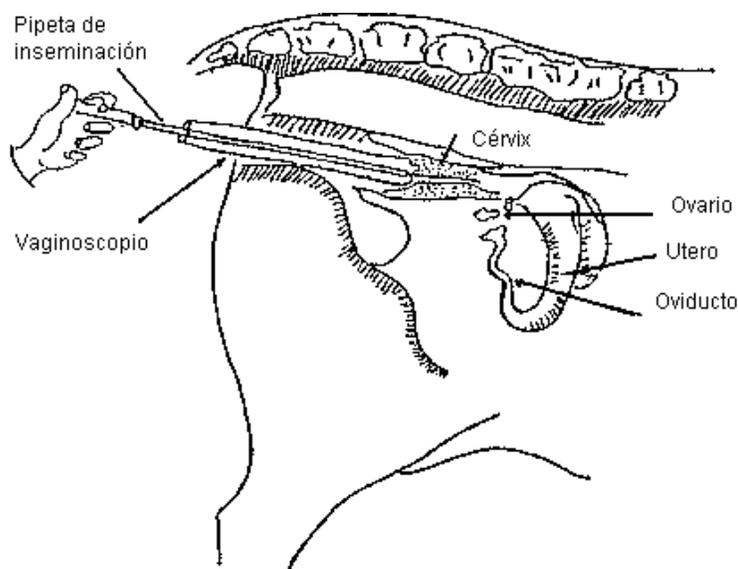


Gráfico III. Inseminación artificial por vía vaginal

INSEMINACION ARTIFICIAL CON SEMEN CONGELADO

En el ovino, el uso de esta técnica es de aplicación reciente, debido a que tanto la dificultad que presenta el cuello uterino de la oveja para ser traspuesto por la vaina de inseminación (vía vaginal), así como la reducción de la viabilidad espermática producida por el proceso de congelamiento y descongelamiento, impedían obtener tasas de preñez semejantes a otras especies. Los porcentajes de preñez obtenidos por medio de la inseminación cervical con semen congelado varían entre el 20 y el 25%.

A comienzos de la década del 80, investigadores australianos desarrollaron una técnica de inseminación intrauterina por laparoscopia, que depositando el semen descongelado directamente en la luz de los cuernos uterinos, permitía obtener porcentajes de preñez superiores al 50%.

Esta técnica permite asimismo realizar un uso muy eficiente del semen. Al depositarse la dosis de inseminación en proximidad del ovario, basta un bajo número de espermatozoides para preñar una hembra. Esto permite obtener, mediante una adecuada dilución y fraccionamiento del semen, entre 60 y 150 dosis fecundantes de un mismo eyaculado (3000-7000 millones de espermatozoides).

Descongelamiento y examen del semen post descongelamiento

El descongelamiento del semen se realiza a una temperatura de 36 °C. Una vez descongelado, es conveniente proceder a su rápida utilización. Si el semen fue congelado en pastillas, su descongelamiento puede llevarse a cabo en tubos de hemólisis secos mantenidos a esa temperatura en baño de agua. Se agitarán durante un minuto dentro del baño para asegurar un descongelamiento homogéneo.

Si el congelamiento del semen se realizó en pajuelas, éstas se agitarán durante 15 segundos bajo el agua. La pajuela es retirada del baño y secada con una toalla de papel descartable. Se le cortan ambos extremos para proceder a su vaciado, ya sea en un tubo de hemólisis o directamente en la vaina de inseminación.

La evaluación de la calidad seminal al descongelamiento es de suma importancia. Normalmente se evalúan 2 ó 3 dosis por partida. Es necesario hacer varias observaciones de la misma pajuela o pastilla.

Inmediatamente después del descongelamiento, se coloca una gota de semen en portaobjetos templado sobre platina térmica, realizándose una observación al microscopio de la motilidad masal.

A continuación se coloca una gota de semen entre porta y cubreobjeto templados. En esta observación se estima el porcentaje de espermatozoides vivos, así como la motilidad individual progresiva (valor subjetivo de la velocidad de desplazamiento hacia adelante de los espermatozoides vivos; 0, mínimo; 5, máximo).

Para aceptar una partida, el semen debe poseer:

- a) motilidad masal al descongelamiento,
- b) un porcentaje de espermatozoides vivos igual o superior al 30% y
- c) motilidad individual progresiva igual o superior a 2.5.

Preparación de las hembras para inseminar

Las ovejas se encerrarán durante la mañana del día anterior a la inseminación, permaneciendo en ayuno de agua y forraje por 24 horas. Esto reduce el contenido del rumen, facilitando la localización de los ovarios y úteros, evitando además la regurgitación desde el rumen durante la laparoscopia.

Las hembras son aseguradas en una camilla, en decúbito dorsal, donde se les esquila y lava el abdomen con jabón blanco. El animal se presenta al inseminador con los cuartos hacia arriba, en una inclinación de 45°.

Inseminación artificial intrauterina

El material de laparoscopia (endoscopio, trócares de 5 y 7 mm y cánulas correspondientes) se coloca en una bandeja con una solución desinfectante de un amonio cuaternario (DG6), y será devuelto a la bandeja entre inseminación e inseminación.

Para llevar a cabo la inseminación intrauterina, se introduce en la cavidad abdominal un trócar de 7 mm y cánula a la izquierda de la línea media de la oveja y a unos 5 cm de la ubre, cuidando de no perforar las venas visibles a simple vista. Antes de introducir el trócar de 5 mm y cánula a la derecha de la línea media, es conveniente dejar ingresar aire dentro de la cavidad abdominal, lo que facilita la visualización de los órganos internos. Reemplazando el trócar de 7 mm por el laparoscopio, se examina la cavidad abdominal para la localización de los cuernos uterinos. A través de la cánula de 5 mm, se introduce el transcap con la vaina o aspic de inseminación (aspic IVM Cassou, L'Aigle, Francia), con el volumen requerido de semen (Gráfico IV).

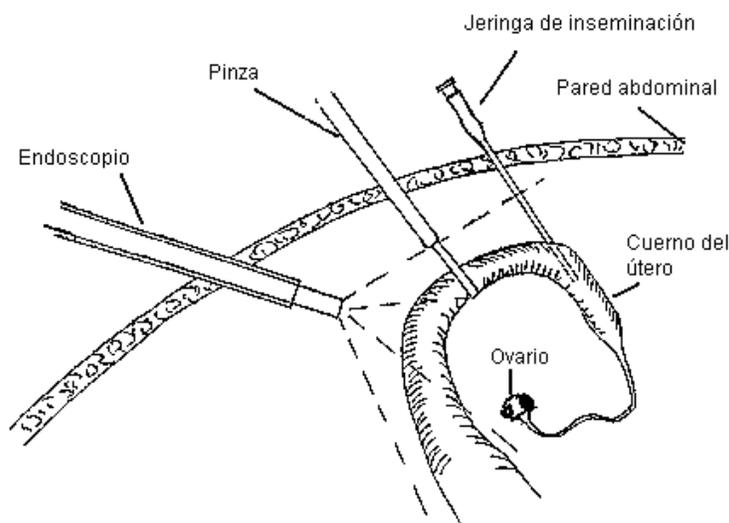


Gráfico IV. Inseminación artificial por laparoscopia

La inseminación de la dosis seminal se realiza mediante inyección en el tercio medio y en dorsal del cuerno uterino, depositándose la mitad de la dosis de semen. El semen debe fluir libremente hacia el interior del útero. A continuación, se repite la maniobra en el otro cuerno.

Luego de la deposición del semen, se retira la vaina de inseminación y el laparoscopio, permitiendo la salida de aire del interior de la cavidad abdominal, antes de retirar las cánulas.

Una vez finalizada la inseminación es conveniente que los animales permanezcan por 2-3 horas en un corral, antes de ser trasladados al campo.

El volumen de la dosis utilizado normalmente en inseminación laparoscópica es de 0.25 cc. El número de espermatozoides totales por dosis de inseminación varía entre 40 y 50 millones, obteniéndose tasas de preñez del 50 al 60%.

INSEMINACION TRANSCERVICAL CON SEMEN CONGELADO

Si bien el desarrollo de la técnica de IA intrauterina permitió difundir el empleo del semen congelado con porcentajes aceptables de preñez en la especie ovina, investigadores de distintas partes del mundo continúan buscando la posibilidad de desarrollar un método más económico y sencillo que permita realizar la deposición del semen en el útero a través del canal cervical.

Entre los distintos factores que afectan los porcentajes de preñez en IA cervical con semen congelado se citan: el momento de deposición del semen en el cuello uterino en relación a la ovulación o celo, el número de espermatozoides por dosis de inseminación y fundamentalmente la profundidad de deposición del semen en el canal cervical. En la mayoría de las ovejas rara vez se supera el centímetro de profundidad. Cuando se logra trasponer el cérvix con la pipeta de inseminación y la deposición del semen se realiza en el cuerpo del útero, se alcanzan porcentajes de preñez similares a los obtenidos por IA laparoscópica.

Recientemente un grupo de investigadores de la Universidad de Guelph (Canadá) desarrolló un método de IA (Guelph System for Transcervical Artificial Insemination, GST-AI), que permite trasponer el cérvix de las ovejas en el 80-90% de los casos, citándose porcentajes de preñez superiores al 40%. La fertilidad alcanzada con este método es hasta el momento muy variable (19-53%), dependiendo de la experiencia del técnico y en relación a la profundidad de penetración del cérvix. Se

supone, sin embargo, que existen otros factores, aún desconocidos, que determinan dicha variación.

La oveja se sitúa en una camilla especial, que permite su inmovilización en posición reclinada y dorsal, con la cabeza hacia abajo y las extremidades traseras retraídas. Se introduce un vaginoscopio que posibilita la localización del cérvix y permitirá su fijación posterior por medio de un fórceps (Bozman). El fórceps se utiliza asimismo para aplicar una suave tracción del cérvix hacia arriba, facilitando la introducción de una pipeta de inseminación de acero inoxidable y diámetro fino, en el canal cervical y hacia el lumen o cuerpo del útero.

La IA se lleva a cabo 50 a 56 horas post-retiro de las esponjas intravaginales, utilizándose dosis de inseminación que varían entre los 80 a 150 millones de espermatozoides.

Este método de inseminación fue puesto a prueba en Australia, por técnicos con distinto grado de entrenamiento -sin experiencia y con entrenamiento previo-, obteniéndose porcentajes de preñez del 19 y 26%, respectivamente. Ambos grupos de técnicos alcanzaron porcentajes de penetrabilidad del cérvix (43 y 76%, respectivamente), menores a los obtenidos en Canadá. Este hecho estaría relacionado con el tiempo transcurrido entre la última parición y el momento de inseminación o servicio de la majada, que es tradicionalmente menor a los 4 meses en las majadas canadienses y de alrededor de 7 meses en las majadas australianas.

MOMENTO DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL

De acuerdo al método de sincronización de estros que se haya utilizado, la inseminación se realizará en forma sistemática o posterior a la detección de celos. Cuando se utilizan esponjas intravaginales en combinación con PMSG, la mayoría de las ovejas presenta celo 48 horas después del retiro de las esponjas, ovulando a las 60 horas. La inseminación cervical sistemática se realiza alrededor de 12 horas antes de la ovulación, o sea entre las 48 y 54 horas post-tratamiento hormonal; mientras que la inseminación intrauterina, se realiza próxima al momento de la ovulación, o sea entre las 58 y 66 horas post-tratamiento.

Los celos naturales, sincronizados por efecto macho o por la administración de prostaglandinas (2º celo post-tratamiento), pueden detectarse mediante la utilización de machos marcadores. La detección de celos se llevará a cabo preferentemente 2 veces/día. La ovulación se presenta 25 a 30 horas después del inicio del celo, por lo que para realizar la IA cervical 12 horas antes de la ovulación, las hembras apartadas

en celo por la mañana, se inseminarán por la tarde; y las apartadas por la tarde, se inseminarán por la mañana.

MANEJO DE LAS OVEJAS DESPUES DE LA INSEMINACION ARTIFICIAL

Las hembras que no respondieron a la inseminación, pueden ser servidas en el celo retorno, a fin de obtener un porcentaje de parición mayor. En este caso, se introducen machos enteros 10-12 días después de la inseminación en una proporción del 3-4%.

Las hembras gestantes serán destinadas a los mejores potreros, especialmente en el último tercio de la gestación y en los primeros 2 meses de lactancia, cuando la demanda nutricional es más alta. Será conveniente que en estos cuadros tengan fácil acceso a las aguadas y a reparos naturales.

Si es necesario conocer la identidad de los padres, se realizará control de los nacimientos durante la parición. Los cuadros de parición no muy extensos facilitan las recorridas diarias, siendo aconsejable no llevar perros durante las mismas.

Cuando las madres han sido inseminadas sistemáticamente, se facilita el control de los nacimientos, dado que la parición es más concentrada. Sin embargo, si las condiciones climáticas suelen ser adversas durante la parición, será recomendable distanciar entre sí los días de inseminación, a fin de disminuir el riesgo de pérdidas por mortandades perinatales.

ANEXOS

Fabricación de esponjas intravaginales con progestágenos

Es necesario contar con los siguientes elementos:

- esponjas de poliuretano intravaginales para ovinos,
- acetato de medroxiprogesterona (MAP) y
- hilo de algodón grueso o de enfardar.

Las esponjas se enhebran con el hilo de algodón y luego son inoculadas con 1 cc de solución alcohólica de MAP, para lo cual se hace una dilución de MAP en alcohol 96°, tal que 1 cc tenga 60 mg de MAP (100 esponjas = 100 cc de alcohol = 6 g de MAP). Dado que el MAP en alcohol es muy inestable, es necesario agitar permanentemente la solución antes de cargar la jeringa para inyectar las esponjas. Se recomienda el uso de guantes y barbijo. Las esponjas así tratadas se dejan secar a temperatura ambiente durante 48 horas para permitir el proceso de evaporación del alcohol.

Una vez secas, los cristales de MAP se conservan por 1 ó 2 años, siempre que las esponjas se guarden en un lugar seco y oscuro.

BIBIOGRAFIA

- Cueto, M.; García Vinent, J.; Gibbons, A.; Wolff, M. y Arrigo, J. (1993). Obtención, procesamiento y conservación del semen ovino. Manual de divulgación. Comunicación Técnica de Producción Animal del INTA Bariloche N° 200.
- Evans, G. y Maxwell, W. (1987). Salomon's artificial insemination of sheep and goats. Sydney, Butterworths. pp. 185.