

Estudio comparativo del comportamiento del semen de carnero diluido en leche conservada en ampollas de vidrio a temperatura ambiente, con relación al método clásico de yema de huevo - citrato de sodio

Dr. Carlos H. Carlevaro Castellá (1)

Departamento de Genética e Inseminación Artificial
de la Facultad de Veterinaria. Montevideo - Uruguay.
Fecha de recepción: 15 de Mayo de 1966

RESUMEN. — Por medio de la técnica de división de la muestra, se realizó una experiencia de campo, para determinar, de acuerdo al grado de fertilidad obtenido, el valor como diluyente de semen de carnero, de la leche descremada, calentada, mantenida a la temperatura ambiente, en ampollas de vidrio, comparándola con la clásica, yema de huevo (50 %) - citrato de sodio (50 %).

En el experimento fueron utilizadas 38 muestras de semen, provenientes de 2 carneros Corriedale, para inseminar 192 ovejas, de la misma raza.

El promedio de nacimientos de corderos para la parte de la muestra con leche descremada y conservada a temperatura ambiente, sobre 96 servicios, fue del 49 %, mientras que el mismo semen diluido con yema de huevo-citrato, sobre 96 servicios, tuvo un valor equivalente, (49 %).

Concluyendo, estos resultados demuestran, que sobre las bases de estas experiencias, no se constatan diferencias entre ambos diluyentes.

INTRODUCCION. — Cuando la Inseminación Artificial se efectúa en vasta escala, en su medio ambiente natural, el establecimiento rural, resulta muy oneroso mantener un laboratorio con instrumental especializado.

(1) Jefe del Departamento de Genética e Inseminación Artificial. Profesor Titular de Ginecología. Profesor Titular (int.) de Inseminación Artificial y Fisiopatología de la Reproducción de la Facultad de Veterinaria.

Las instalaciones deben ser adaptadas a las condiciones estacionales del trabajo y poseer un mínimo de comodidades que aseguren un normal procesamiento del semen.

El laboratorio de campo, dentro de su sencillez debe de estar necesariamente capacitado, para permitir manejar el elemento vivo recogido, mantenerlo en condiciones durante breve permanencia para dar el visto bueno a cada muestra colectada, y someterla a la dilución requerida por la demanda.

Durante esos manejos pueden actuar agentes físicos, químicos o microbianos, que aminoren o destruyan la capacidad fecundante inicial.

Las reglas exigidas por la técnica son ineludibles, todas sus etapas se deben cumplir, una desviación para acelerar el trabajo, por inofensiva que parezca, puede ser motivo del fracaso de todo el andamiaje cuidadosamente preparado.

De acuerdo a las precedentes consideraciones, todo método que acorte el proceso, que simplifique esa rigidez de proceder, debe ser acogido con beneplácito.

En los últimos años ha experimentado amplia difusión el empleo de la leche de vaca descremada; pero lo que confiere particular importancia a este hecho, es el método de conservación y presentación del diluyente. Se le encuentra en el comercio en ampollas de vidrio de capacidad variada de 2 c.c. a 5 c.c., que se pueden mantener con precauciones mínimas a la temperatura ambiente.

Lógicamente para lograr este objetivo, se ha llevado a cabo, luego de la etapa del descremado, un calentamiento a bañomaria, generalmente tres veces a 90 grados centígrados, con posterior cierre a la llama y esterilización de las ampollas. Al ser destruidos todos los gérmenes y prevenidas, mediante el cierre hermético, las nuevas contaminaciones, se asegura así la estabilidad del producto.

De la manera descripta se puede tener la seguridad de trabajar con leche proveniente de fuentes conocidas, con pH controlado, que confieren al diluyente una regularidad, solo posible de obtener en el laboratorio especializado.

Toda técnica que se transporta a utilización masiva en la práctica diaria, requiere una comprobación experimental de carácter estadístico para que asegure la consiguiente confianza a los encargados de su empleo.

El Departamento de Genética e Inseminación Artificial de la Facultad de Veterinaria, en su actividad docente, ha incluido, temas de investigación, que a la vez de crear en el estudiante la necesaria inquietud y la consiguiente metodología de trabajo, permiten extraer conclusiones de utilidad o efectuar comprobaciones, que pueden servir ulteriormente de guía en el campo de la práctica corriente.

La experiencia del título ha sido planeada y llevada a cabo bajo la dirección del suscrito y puesta en práctica por 4 grupos de estudiantes, encargados de la actividad directa en el Campo Experimental de la Facultad de Veterinaria.

MATERIAL Y METODOS. — Fueron seleccionados 2 carneros de raza Corriedale, identificados como Z. C. 29 y S, aceptados para la reproducción luego del respectivo exámen de aptitud.

La majada encargada de proveer las ovejas, fue de la misma raza Corriedale y cada una de ellas identificadas mediante, caravana numerada. No se efectuaron apartes, se encontraban mezcladas borregas con ovejas de variada edad, donde se habían excluído solamente aquellas que por desgaste dentario, aconsejaban su eliminación por incapacidad para el futuro mantenimiento del cordero.

La selección se efectuó al azar, de acuerdo a la aparición de los celos, y la división en dos lotes también se realizó en forma indiscriminada, para que no incidieran factores selectivos encargados de desvirtuar los resultados.

El método de colección de semen fue el corriente mediante empleo de Vagina Artificial.

El exámen de semen, microscópico en platina termostática.

Obtenido el visto bueno, se recurrió a la técnica de "split sample", división del eyaculado en dos partes iguales.

Los diluyentes: a) Leche de vaca, descremada presentada en ampollas de vidrio de 2 y 5 c.c., obtenidas en comercio de plaza y mantenidas a temperatura ambiente y b) el clásico medio de Salisbury, preparado en cada oportunidad de su empleo, integrado por yema de huevo de gallina de la postura del día: (50 %), más solución de citrato de sodio al 2'9 % en agua bidestilada (en recipientes de vidrio): (50 %).

El tipo de dilución como puede comprobarse en el Cuadro N° 1, no excedió de 1:3, pues la demanda de ovejas en celo era muy limitada.

La dosis empleada 0'1 de c.c..

El método de administración, pistola inseminadora.

A los efectos de esta experiencia fueron tomados en cuenta solo primeros servicios; en caso de haber sido inseminada la oveja en un celo anterior, no se tomó en consideración el diluyente empleado en esa oportunidad. Se han contabilizado los resultados expresados por nacimiento de un cordero, luego del último servicio con el diluyente motivo de este estudio.

La idoneidad de los inseminadores, se basaba en conocimientos adquiridos durante el transcurso del año escolar y posteriormente en un cursillo de capacitación de dos semanas de duración, dictado por el suscrito. Por el motivo expresado, fue practicada doble inseminación en el mismo celo: primera a las 8 de la mañana,

segunda, a las 16 horas de la tarde. Se ha justificado este proceder, al estimar que los alumnos actuantes, sobre todo en los dos primeros días de desempeño, aun no habían adquirido la suficiente manualidad en el proceso de inseminación, particularmente en la localización del cerviz y de esta manera se proporcionaba una nueva oportunidad para compensar errores y poder incrementar el porcentaje de procreo.

RESULTADOS. — En el Cuadro N 1, se presenta en forma demostrativa todo el trabajo realizado.

En la columna primera la fecha de las inseminaciones. Se puede observar que el día 17 - III -, se inseminó sólo por la mañana. Los días 19 - 21 - III -, y 4 - IV -, se procedió a coleccionar semen únicamente por la mañana, efectuadas las colecciones correspondientes, se dividieron las dos muestras obtenidas a su vez en dos partes. Se llevaron dos de las muestras a la refrigeradora (a 5 grados centígrados), colocadas previamente en un recipiente con un litro de capacidad llevando agua a 30 grados centígrados, para provocar un descenso lento de la temperatura con finalidad de prevenir choque térmico y poder emplearlas por la tarde.

Las otras dos muestras fueron inseminadas de inmediato. En los días siguientes se practicaron dos colecciones, una por la mañana y otra por la tarde. Cada colección lleva su número identificativo, pues luego del exámen se confecciona ficha donde se registran todos los datos obtenidos.

La calidad de todas las muestras fue catalogada como DD/5 a D/5, de la escala de Milovanov.

Solamente el día 24 - III, último del empleo del carnero Z.C.29, los resultados de las inseminaciones practicadas con ambos diluyentes fueron negativos, demostración evidente que las causas obraron por igual en los dos casos. Observada la ficha de exámen, solo se comprobó un ligero aumento de la temperatura corporal consecuencia de alguna leve indisposición del sujeto. Todos los demás datos suministrados por los exámenes, fueron favorables lo que induce a sospechar que el insuceso puede ser atribuido a un posible error de técnica, completamente justificado por tratarse de elementos con experiencia aun muy limitada.

En la tercera columna, símbolos de identificación de los carneros, se observa que el Z.C.29, se utilizó únicamente durante tres días, se trataba de un reproductor de edad avanzada y fue sustituido por otro (S) más regular en su desempeño.

En la columna cuatro, el volumen de semen colectado, (am.) por la mañana y (p.m.) por la tarde, que osciló de un mínimo de 0,5 c.c. a un máximo de 1'6 cc. con un promedio aproximado de 1 cc..

En la columna cinco los números identificativos de los 4 equipos que tuvieron intervención, compuestos por dos o tres alumnos encargados en llevar a cabo los trabajos según el plan preestablecido.

En la columna seis, los tipos de dilución que se emplearon por la mañana y por la tarde que fueron de 1 : 1 a 1 : 3, respetándose siempre la equivalencia para los dos diluyentes.

Posteriormente una columna especial titulada diluyentes, donde se incluyen los dos tipos a comparar, leche, y yema de huevo-citrato de sodio, SP y SN, significan respectivamente Servicio Positivo o Servicio Negativo, que equivalen a la comprobación o no del nacimiento de un cordero.

En la columna final, se expresa la suma de los servicios comparados durante cada día.

Los totales dan la siguiente cifra, de 38 eyaculados empleados, se obtuvieron los siguientes resultados: Para la leche descremada, conservada a la temperatura ambiente, 47 servicios positivos y 49 servicios negativos vale decir, en un total de 96 servicios, se produjo un 49 por ciento de positividad. Para la yema de huevo-citrato de sodio, utilizada como control, se constataron idénticos valores.

El total de servicios cumplidos con los dos diluyentes se elevó a 192.

DISCUSION. — Se considera que el número total de servicios 192 es limitado para extraer conclusiones absolutas. Se le confiere a la experiencia un significado exploratorio con carácter orientativo para aquellos que se decidan a utilizar un diluyente presentado en forma práctica y de sencilla metodología aplicativa.

En algunas oportunidades se han encontrado ampollas presentando grumos que no se homogeneizan luego de una conveniente agitación. Se ha evitado el uso de ese material. Como lo aconseja la técnica correcta, en todo caso, y frente a cualquier diluyente, una vez procesado el semen debe ser sometido a nueva observación microscópica, para constatar si no han ocurrido alteraciones que determinen desviaciones de la vitalidad expresadas por modificaciones en el porcentaje de espermatozoides móviles y por el tipo de movimiento de los mismos.

CONCLUSIONES. — Los resultados demuestran que, de acuerdo a las bases de estos experimentos, no se constatan diferencias entre ambos diluyentes.

CONCLUSIONS. — By means of the split sample technique one field trial was conducted to compare the fertility results obtained with heated skim milk maintained in glass vials at room temperature, and the classic egg yolk (50 %) - sodium citrate (50 %), as diluters for ram semen.

In the trial 38 semen samples from two Corriedale rams were used to inseminate 192 ewes of the same breed.

The average of lamb birth, for the split sample with heated skim milk on 96 services was 49 %, whereas the same semen diluted with egg yolk citrate on 96 services was equivalent, (49 %).

In conclusion, these results show that on the basis of these experiments there is no difference between both diluters.

Cuadro N° 1

FERTILIDAD DEL SEMEN DE CARNERO DILUIDO EN LECHE DESCREMADA CONSERVADA EN AMPOLLAS A TEMPERATURA AMBIENTE, Y EN YEMA DE HUEVO, CITRATO DE SODIO.

(Método de división de un eyaculado en 2 partes iguales).

Fecha	Colección Nº	Carnero	Volumen		Equipos Nº	Tipo de dilución		Leche		Yema de h. citrato		Total
			am	pm		am	pm	SP	SN	SP	SN	
17-III	70	S	1 cc.	—	4	1:3	1:3	2	5	2	5	14
19-III	78-78	Z.C.29	1 cc.	—	4	1:3	1:3	4	4	4	4	16
20-III	80-82	Z.C.29	0,5 cc.	0,5cc	4	1:2	1:2	2	4	2	4	12
21-III	83-83	S	1,3 cc.	—	4	1:1	1:1	3	1	1	3	8
22-III	86-88	id.	1 cc.	1,5cc	5	1:1	1:1	3	1	2	2	8
23-III	89-91	id.	1 cc.	0,75cc	5	1:1	1:1	1	2	2	1	6
24-III	93-95	Z.C.29	1 cc.	1cc	5	1:1	1:1	0	5	0	5	10
25-III	97-99	S	1 cc.	1cc	5	1:1	1:1	4	0	2	2	8
26-III	102-103	id.	1,3 cc.	1cc	5	1:1	1:1	2	3	3	2	10
27-III	105-107	id.	1,2 cc.	1cc	5	1:2	1:1	2	2	2	2	8
28-III	108-110	id.	1 cc.	1cc	5	1:1	1:1	1	4	3	2	10
29-III	112-114	id.	1 cc.	0,5cc	6	1:1	1:2	1	4	2	3	10
30-III	116-118	id.	0,5 cc.	1cc	6	1:2	1:1	5	3	3	5	16
31-III	120-122	id.	1 cc.	1cc	6	1:1	1:1	5	1	4	2	12
1-IV	121-123	id.	1 cc.	1cc	6	1:1	1:2	2	2	3	1	8
2-IV	125-127	id.	1 cc.	0,3cc	6	1:1	1:2	4	2	5	1	12
3-IV	129-131	id.	1 cc.	1cc	6	1:1	1:1	2	0	2	0	4
4-IV	133-133	id.	1 cc.	—	6	1:1	1:1	1	1	0	2	4
5-IV	135-137	id.	1,2 cc.	1cc	6	1:1	1:1	2	2	2	2	8
6-IV	139-141	id.	1,2 cc.	1,6cc	7	1:1	1:1	1	1	1	1	4
8-IV	147-149	id.	1,2 cc.	1,2cc	7	1:1	1:1	0	2	2	0	4
38 eyaculados								47	49	47	49	192

SP. Equivale servicios positivos. (Comprobación de nacimientos).

SN. Equivale a servicios negativos.

NOTA: Leche descremada conservada a temperatura ambiente 49 % servicios positivos. Yema de huevo citrato de sodio el mismo porcentaje de efectividad.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA. —

1. — Almquist J. O. — Diluters for bovine semen. V. Acomparision of heated milk and egg yolk - citrate as diluters for semen from bulls of high and low fertility. *J. Dairy Sci.* Vol. XXXVII, N° 11, pág. 1308-1315. — 1954.
2. — Almquist J. O., Flipse R. J., and Thacker D. L., — Diluters for bovine semen. IV. Fertility of bovine spermatozoa in heated homogenized milk and skimmilk. — *J. Dairy Sci.* Vol. XXXVII N° 11, pág. 1303-1307. — 1954.
3. — Flerchinger F. H., Erb R. E., and Ehlers M. H. — The use of heated homogenized milk as a diluter for bull semen. — *J. Dairy Sci.* Vol. XXXVI, N° 9, Pág. 1016-1019. — 1953.
4. — Johnson P. E., Flipse R. J., and Almquist J. O. — Diluters for bovine semen. VIII. The effects of alterations of some physical factors of a milk diluter on the livability of bull spermatozoa. — *J. Dairy Sci.* Vol. XXIX, N° 2, Pág. 180-187. 1956.
5. — Saacke R. G., Almquist J. O., and Flipse R. J. — Diluters for bovine semen. VII. Effects of time and temperature of heating skimmilk upon the livability of bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.* Vol. XXXIX, N° 1. Pág. 90-96. 1956.
6. — Salisbury G. W., y Van Demark N. L. — Fisiología de la reproducción e Inseminación Artificial de los Bóvidos. Zaragoza. España. Ed. Acribia. Pág. 456-459 y 469-473. 1964.