

**Artículo original:**

**INVESTIGACIÓN, DESARROLLO E IMPLEMENTACIÓN DE LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL Y LA TRANSFERENCIA DE EMBRIONES EN LAS ESPECIES OVINA Y CAPRINA**

**Research, development and implementation of artificial insemination and embryo transfer in sheep and goats**

Gibbons, A.; M. Cueto

**INTRODUCCIÓN**

*Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Estación Experimental Agropecuaria Bariloche, Río Negro, Argentina*

*Email. agibbons@bariloche.inta.gov.ar*

La implementación de los programas de mejoramiento para el aumento de la producción de los hatos y majadas ha promovido la difusión de material genético de alto mérito productivo en las especies ovina y caprina. La inseminación artificial (IA) y la transferencia de embriones (TE) son biotecnologías reproductivas apropiadas para cumplir con este objetivo a nivel local, regional o internacional.

La crioconservación de semen y embriones es una de las metodologías recomendadas por la FAO para la conservación de los recursos genéticos denominada "ex situ in vitro". Garantizar el resguardo del germoplasma mediante su congelamiento o vitrificación, permite disponer de una fuente de material genético para la preservación de las diferentes razas o biotipos.

En la Argentina, la alta demanda de reproductores genéticamente superiores por parte de los productores, ha determinado la necesidad de implementar programas de apoyo interinstitucionales, para diseminar y/o introducir genotipos de alto valor productivo de origen nacional o importado. En este contexto, teniendo en especial consideración el sistema productivo, el Grupo de Reproducción del INTA Bariloche, desarrolló e implementó una serie de biotecnologías de la reproducción asistida para ovinos y caprinos de la Patagonia Argentina.

**Palabras Clave:**

*Ovino, Caprino, IA, ET, mejoramiento*

En forma resumida, se presenta a continuación información de referencia con respecto a la IA en la raza Merino.

Los estudios de preservación del semen permitieron extender la vida fértil de los espermatozoides durante periodos prolongados, mediante métodos de enfriamiento o congelamiento seminal (Salamon y Maxwell, 2000). La preservación del semen junto con la IA posibilita:

- La difusión del material seminal a nivel regional e internacional.
- Evitar los movimientos de carneros entre establecimientos, disminuyendo el stress y el riesgo físico y sanitario de los reproductores (transporte, cambios de ambiente y de alimentación).
- Contribuir a disminuir el riesgo sanitario en las majadas.

La implementación de la IA dependerá del esquema propuesto para la difusión del semen de los machos con alto mérito genético.

En general, si bien el semen colectado con vaginal artificial se utiliza mayoritariamente en forma inmediata (semen fresco puro: dosis IA: 100 millones spz/oveja), también puede preservarse diluido y enfriado a 15 °C por periodos de 8 a 12 h (semen diluido 1:2 v/v en leche descremada al 10%), siendo la dosis mínima de 150 millones/spz oveja.

La fertilidad media que hemos obtenido mediante IA a tiempo fijo (IATF) por vía vaginal, realizada a las 52-56 h post tratamiento progestacional de sincronización de estros con esponjas intravaginales y 200 UI de eCG (Gonadotrofina coriónica equina), ha sido del 40% (semen enfriado) y 65% (semen fresco puro) (Naim *et al.*, 2009; Cueto y Gibbons, 2010).



*Arreo de ovejas en la Patagonia Argentina*



La IA por laparoscopia (IAL) es una técnica reproductiva práctica y eficiente para el empleo del semen congelado, ya que permite depositar el semen descongelado directamente en la luz de los cuernos uterinos. En el ovino, la dosificación del semen congelado/descongelado mediante la inseminación utilizando la técnica laparoscópica, se realiza debido a la dificultad que presenta el cuello uterino ovino para ser transpuesto por una pipeta o vaina de inseminación (vía vaginal), así como a la reducción de la viabilidad espermática producida durante el proceso de congelamiento y descongelamiento, estos factores condicionan obtener valores aceptables y repetibles de preñez.

Nosotros hemos utilizado la IAL por más de 10 años, inseminando 6300 ovejas con semen congelado de 71 carneros, para la evaluación genética de la raza Merino en la Argentina (Cardellino y Mueller, 2009). Esta metodología nos permitió evaluar carneros nacionales y extranjeros, sin necesidad de transportarlos y aún cuando estos no eran contemporáneos. La IATF con semen congelado es realizada a las  $60 \pm 2$  h de finalizado el tratamiento hormonal con progestágenos (esponjas intravaginales y eCG (200 UI)), y permite alcanzar valores promedios de preñez del 50% (Gibbons *et al.*, 1998). Siendo más eficiente cuando se realiza la IA 12 h post detección del estro, ya que se obtienen porcentajes medios de preñez del 65% (Cueto y Gibbons, 2005).



*Inseminación artificial vía vaginal con semen fresco, utilizando vaginoscopio*

Los métodos de sincronización de estros constituyen una herramienta de gran utilidad en los programas de IA. En la Argentina, se utilizan con mayor frecuencia dos tipos de tratamientos hormonales: prostaglandinas sintéticas o esponjas intravaginales con acetato de medroxiprogesterona (MAP, 60 mg). Las prostaglandinas inducen la regresión luteal entre los días 4 y 14 del ciclo estral ovino, por lo cual sólo pueden utilizarse durante la estación reproductiva. En la actualidad, aconsejamos la utilización de dos dosis de prostaglandinas (Cloprostenol, 125 ug/animal), distanciadas entre sí por 14 días, siendo factible obtener una concentración de estros del 90% entre las 24 y 72 h luego de finalizado el tratamiento hormonal. Este tratamiento de sincronización de estros permite una fertilidad media del 65-70% al inseminar con semen fresco puro en ovejas detectadas en celo o bien a tiempo fijo (IATF) entre las 53 a 56 h post segunda dosis de prostaglandina (Cueto y Gibbons, 2011).

Las esponjas intravaginales con progestágenos se colocan en la vagina por 12-14 días; la aplicación de eCG al retirar las esponjas favorece la ovulación sincronizada, permitiendo realizar

la IATF. La dosis recomendada es de 200 UI para la raza Merino y 300 UI para las razas Corriedale o Texel (debiéndose ajustar la dosis según cada raza, estado corporal y época reproductiva).

En la raza Merino, entre las 36 y 72 h post-retiro de las esponjas y conjuntamente con la aplicación de 200 UI de eCG, se presenta un 85-95% de las ovejas en celo, alcanzándose la mayor concentración de estros entre las 48 y 60 h. Cuando los tratamientos de sincronización de estros se realizan en contraestación reproductiva, es recomendable incrementar la dosis de eCG a 250-400 UI, según la raza y el sistema de producción. Cabe destacar que mediante la IATF vía cervical con semen fresco, ya sea aplicada sobre celos sincronizados con esponjas intravaginales o mediante la doble dosis de prostaglandinas, se alcanza una eficiencia reproductiva aceptable, lo que permite emplear esta última técnica, evitando la detección diaria de estros y reduciendo el tiempo de trabajo de inseminación y el número de juntas y encierres de las ovejas.

Al considerar la eficiencia alcanzada por IAL con semen congelado luego de un tratamiento con progestágenos y gonadotrofinas, se observa una mayor fertilidad al realizar la IA 12 h post detección de estros, en comparación a la obtenida mediante la IATF a las  $60 \pm 2$  h de finalizado el tratamiento hormonal (50 vs. 65%, respectivamente), indicando la importancia del momento de deposición del semen congelado en relación al momento de ocurrencia de la ovulación. Si bien la eficiencia global (porcentaje de ovejas preñadas sobre el total de ovejas para inseminar) alcanzada mediante la IATF es similar a la observada en la IA post detección de celos, se deberá tener en cuenta que en la inseminación a tiempo fijo se estará utilizando un mayor número de dosis seminales congeladas de muy alto valor comercial, al inseminar todas las ovejas y no solamente las detectadas en estro. A su vez, recomendamos iniciar un programa de IA con semen congelado detectando estros, a fin de facilitar la logística al disponer de más tiempo para su correcta implementación.

El factor de mayor incidencia que determina la variación en el porcentaje de preñez cuando se utiliza semen congelado es la calidad seminal post descongelamiento, a su vez relacionada con la variabilidad individual al congelamiento espermático y con su proceso de congelamiento. Los análisis seminales desarrollados hasta la actualidad para evaluar la capacidad fecundante del semen post-descongelamiento mediante IAL no permiten estimar con exactitud la eficiencia reproductiva de una partida de semen congelado. Sin embargo, Boretto *et al.* (2002) determinaron que la motilidad individual progresiva ( $R^2 = 0.67$ ,  $P = 0.0036$ ) fue el factor que mejor explicó la variabilidad observada en la eficiencia reproductiva en la IATF en los ovinos.



*Inseminación intrauterina con semen congelado*



Implementación de la IA con semen congelado en un programa de mejoramiento genético en caprinos de raza Angora

Un programa de mejoramiento genético animal requiere de la utilización intensiva de los machos superiores, los cuales deben ser evaluados y seleccionados en base a las características de producción de interés para la raza. Sin embargo, su disponibilidad según la raza, ubicación geográfica y sistema de producción, puede estar condicionada debido al corto período de servicios en la época reproductiva, la dispersión geográfica de los hatos, el número de machos disponibles, la libido y la producción seminal.

Una técnica que reduce considerablemente estos inconvenientes es la inseminación artificial con semen congelado. Esta técnica reproductiva incrementa la utilización de los machos genéticamente superiores y amplía las posibilidades de su difusión a gran escala. La conformación de un banco de semen congelado permite disponer con tiempo del material genético y programar su distribución en los diferentes hatos de los productores. Por consiguiente, la aplicación de la IA con semen congelado fue la herramienta indicada para lograr un amplio impacto en el incremento de la producción del sistema caprino de la raza Angora en una amplia zona del norte de la Patagonia Argentina. La selección de las hembras de los productores por las características productivas, así como los aspectos nutricionales y sanitarios, en cada uno de los establecimientos destinatarios del proyecto de mejoramiento genético, constituyó uno de los puntos prioritarios para la implementación del programa reproductivo.

El tratamiento de sincronización de estros que fue eficiente en las cabras de raza Angora consistió en la aplicación de esponjas intravaginales (60 mg de MAP) durante 17 días, combinado con una aplicación de 100 UI im de eCG, en el momento del retiro de las esponjas. La detección de celo a corral con macho vasectomizado se realizó a las 24, 36, 48 y 60 h de retiradas las esponjas.

Las dos técnicas que se utilizan para la IA con semen congelado en el caprino son la cervical por vaginoscopia (IAC) e intrauterina por laparoscopia (IAL). A partir de los trabajos de Corteel y Leboeuf (1990), en cabras lecheras, con la IAC se recomienda una dosis de 100 millones de espermatozoides totales. Comparativamente según Ritar *et al.* (1990), en la raza Cashmere, con la IAL se incrementa el porcentaje de preñez en un 20% con respecto al valor medio de la IAC (40%). También se han registrado diferencias en la preñez de cabras lecheras cuando se realiza la inseminación laparoscópica (IAL: 62,6% vs. IAC: 49,3%) (Vallet *et al.*, 1992) y en otras razas caprinas (Moore *et al.*, 1988).

En el proyecto de mejoramiento genético de la raza Angora, se utilizaron la IAC y IAL, realizadas a las 48 h en las cabras que presentaron estro a las 24 y 36 h, y a las 60 h en las hembras que manifestaron celo a las 48 y 60 h de retiradas las esponjas. Es decir, en un día es posible inseminar un gran número de cabras con estro sincronizado. Esta metodología en comparación con la IATF, la hemos implementado debido a la variabilidad en la manifestación de los estros entre hatos, por razones logísticas para realizar la inseminación, permitiéndonos a su vez un uso más racional del semen congelado.

Nuestro primer trabajo de IA con semen congelado en la raza Angora en la Patagonia (Gibbons *et al.*, 1992), fue realizado por IAC con dosis de 200 millones de espermatozoides. A partir de la implementación de la IAL hemos reducido a la mitad la concentración espermática por dosis de inseminación. Los porcentajes de parición variaron entre

45 y 50% (883 cabras) y 46 a 60% (1.238 cabras) para la IAC y IAL, respectivamente. La reducción de la concentración espermática a 50 millones en la IAL (90 cabras), no varió significativamente el porcentaje de preñez respecto a la dosis anteriormente indicada (sin publicar).

Transferencia y vitrificación de embriones ovinos y caprinos

Otra tecnología de reproducción asistida es la transferencia de embriones (TE), que permite aumentar el número de crías de una hembra genéticamente superior y producir un promedio de 4-5 hijos por donante, que haya recibido un tratamiento de estimulación hormonal para obtener una ovulación múltiple (OM).

El uso más importante de la TE es la rápida introducción y multiplicación de nuevas razas o genotipos de alto valor productivo, así como la conservación de genes, razas o especies en riesgo de desaparición. Los embriones pueden provenir de hembras de alto valor genético, seleccionados entre una gran población o de una raza que tienen características especiales en su genotipo que merita su conservación frente a la posibilidad de su extinción. La TE debe ser cuidadosamente evaluada en el beneficio económico que justifique su implementación.

Existen numerosos tratamientos hormonales para la obtención de OM, siendo el más aceptado la aplicación de dosis decrecientes de gonadotropinas hacia el final del tratamiento progestacional. Sin embargo, la respuesta de ovulación múltiple al tratamiento multiovulatorio es muy variable entre las hembras, independientemente del régimen y tipo de FSH utilizada. En estos últimos años, hemos realizado algunos trabajos de investigación tendientes a determinar la respuesta ovárica a los repetidos tratamientos de ovulación múltiple, determinando una alta repetibilidad de esta variable en los sucesivos tratamientos hormonales. Basándose en esta premisa, la selección de las ovejas donantes según su respuesta ovárica al primer tratamiento multiovulatorio, sería un buen método para reiterar el tratamiento hormonal sólo en aquellas hembras que puedan dar una mayor producción de embriones en las recuperaciones sucesivas (Bruno-Galarraga *et al.*, 2011).



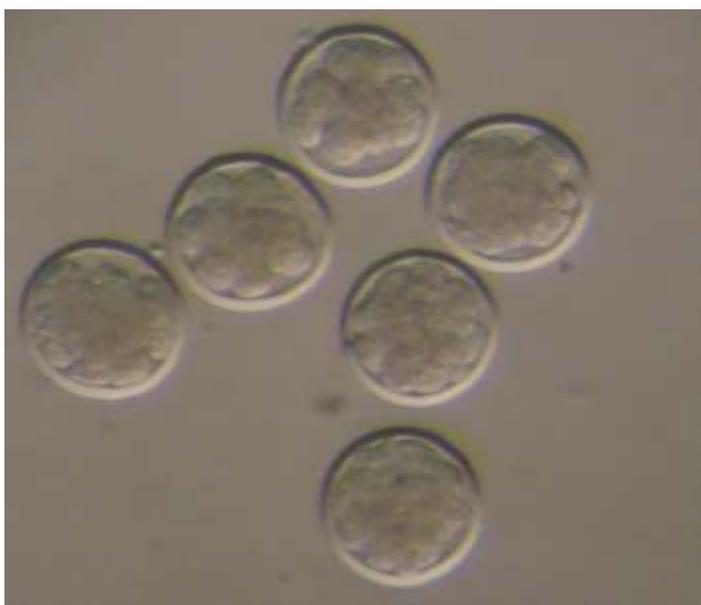
Ovario superovulado de oveja.



En la actualidad estamos utilizando el siguiente tratamiento hormonal en la TE: Los ciclos estrales de donantes y receptoras se sincronizan mediante la inserción de esponjas intravaginales con progestágenos que contienen 60 mg de MAP por un período de 14 días (ovinos) o 18 días (caprinos). Al retiro de las esponjas, las receptoras de embriones reciben 200 UI de eCG im. Las donantes de embriones son superovuladas utilizando un protocolo hormonal con una dosis total de 80 mg pFSH (Folltropin V®, Bioniche, Canadá) im -cada 12 h- en 6 dosis decrecientes (18, 18, 14, 14, 8, 8 mg), durante los últimos 3 días del tratamiento progestacional. Al retiro de las esponjas, las hembras reciben 200 UI de eCG im. El inicio del estro se detecta con la ayuda de un macho adulto (a partir de las 24 h después de retiradas las esponjas), y las donantes son inseminadas mediante laparoscopia, con semen congelado/descongelado (100 o 200 x 106 espermatozoides por oveja o cabra donante, respectivamente), a las 12-14 h en las hembras detectadas en celo a las 36 y 48 h de finalizado el tratamiento progestacional. Las hembras detectadas en celo a las 24 h son inseminadas 24 h más tarde.

A continuación presentamos los resultados de los valores medios de la OM y TE obtenidos en el INTA Bariloche en ovinos, caprinos de Angora y cabras criollas. Número promedio de cuerpos lúteos: 12, 8.6 y 16, respectivamente. Porcentaje de embriones quirúrgicamente recuperados: 45 a 60%. Tasa de preñez por la TE inmediata mediante la técnica semi- quirúrgica: 57% en caprinos y 65% en ovinos (Gibbons y Cueto, 2010).

Por último, mencionamos la vitrificación de embriones en pequeños rumiantes, la cual ha surgido después de varias investigaciones criobiológicas (ver trabajo de Holtz, 2005). Esta tecnología tiene la ventaja de ser rápida y sin necesidad de un equipo de congelación especial. El objetivo de nuestra investigación fue el de evaluar la eficiencia de preñez utilizando un método de vitrificación de embriones en tips plásticos para micropipetas. Nuestros resultados mostraron una tasa de gestación a partir de blastocistos caprinos del 64% y en ovinos se obtuvieron tasas de supervivencia de embriones del 42 (mórulas) y 47% (blastocistos), siendo la tasa de preñez del 50% para ambas edades embrionarias (siembra 2 embriones/receptora) (Gibbons *et al.*, 2011).



Mórulas obtenidas post tratamiento de ovulación múltiple

## CONCLUSIÓN

Varios factores intervienen en la obtención de un resultado favorable en la implementación de la IA en un programa de mejoramiento genético. Los machos deben ser evaluados en sus características de producción individual y en sus hijos, así como en su aptitud para el congelamiento seminal. Los manejos nutricionales y sanitarios de las majadas ovinas y hatos caprinos deben ser prioritarios, para obtener resultados satisfactorios. En cuanto a los procesos de obtención, dilución, enfriamiento, equilibramiento y congelamiento seminal, los mismos deben ser cumplidos con meticulosidad para no atribuir fallas al factor animal. El criterio para la aceptación de las dosis para inseminación, la idoneidad con que se realicen los trabajos de sincronización y detección de estros y las precauciones durante la IA, determinarán la eficiencia global del programa reproductivo. Sólo mediante la adecuación de los protocolos de sincronización de estros, inseminación artificial, ovulación múltiple y una técnica depurada para la transferencia de embriones, adaptada para los diferentes razas, se posibilitará el empleo de las biotecnologías reproductivas como herramienta eficiente del mejoramiento genético ovino y caprino. Por último, cabe consignar que el desarrollo del sistema productivo ovino-caprino tiene su futuro en el continuo desafío de incrementar la inversión en genética y prestando especial atención a las características cuantitativas y cualitativas que puedan añadir valor a su producción, resguardando la biodiversidad y manteniendo un desarrollo sustentable del sistema ganadero.

Información técnica de publicaciones y manuales de procedimientos de IA y TE en ovinos y caprinos pueden ser vistos en la página del INTA Bariloche <http://www.inta.gov.ar/bariloche/info/indices/animal/reproduccion.htm>



Siembra embrionaria, en tercio superior del cuerno uterino en ovinos



BIBLIOGRAFÍA

- Boretto, J.M.; A. Gibbons; M.M. Bunge; M. Cueto; F. Bidinost. 2002. Calidad seminal post-descongelamiento en relación con la eficiencia productiva de la inseminación artificial laparoscópica en ovinos. *Rev. Med. Vet.* 83: 185-188.
- Bruno-Galarraga, M.; M. Cueto; F. Pereyra-Bonnet; L. Escobar; A. Gibbons. 2011. Efecto de tres tratamientos sucesivos de ovulación múltiple sobre la respuesta ovulatoria y la producción de embriones en ovejas de raza Merino. *IX Simposio Internacional de Reproducción Animal*. IRAC. Córdoba, Argentina. 9-11 Septiembre.
- Cardellino, R.C.; J.P. Mueller. 2009. Fibre production and sheep breeding in south America. *Proc. Assoc. Advmt. Anim. Breed. Genet.* 18: 366-373.
- Corteel, J.M.; B. Leboeuf. 1990. Evolution technico-économique de l'insémination artificielle caprine. *Rev. Elev. Insemin.* 237: 3-17.
- Cueto, M.; A. Gibbons. 2005. Evaluación de la inseminación artificial en ovinos. En Mueller J y Cueto M (Eds) *Memorias del VII Curso de Actualización en Producción Ovina*. EEA Bariloche. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. p 57-70.
- Cueto, M.; A. Gibbons. 2010. Conservación seminal e inseminación artificial en ovinos. En Mueller J y Cueto M (Eds) *Memorias del VIII Curso de Actualización en Producción Ovina*. EEA Bariloche. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. p 61-77.
- Cueto, M.; A. Gibbons. 2011. Inseminación artificial cervical en ovejas sincronizadas con prostaglandinas. *Rev. Presencia* 58:10-14.
- Gibbons, A.; M. Cueto; P. Willems. 1992. Inseminación artificial con semen congelado en cabras de raza Angora sobre los celos concentrados post incorporación del efecto macho. *Rev. Med. Vet.* 73 (3): 122-128.
- Gibbons, A.; M. Cueto; J. Garramuño; F. Bidinost. 1998. Eficiencia de la inseminación artificial con semen congelado en ovinos. *I Simposio Internacional. Tecnologías Aplicadas en Reproducción Animal*. Argentina, Buenos Aires, 134-137.
- Gibbons, A; M. Cueto. 2010. Training manual for embryo transfer in sheep and goats. INTA EEA Bariloche. Argentina. *Comunicación Técnica PA 559*. p 1-35.
- Gibbons, A.; F. Pereyra-Bonnet; M. Cueto. 2011. A simple vitrification technique for sheep and goat embryos. *Small Rumin. Res.* 95: 61-64.
- Holtz, W. 2005. Recent developments in assisted reproduction in goats. *Small Rumin. Res.* 60: 95-110.
- Moore, R.W.; C.M. Miller; D.R. Hal. 1988. Cervical versus laparoscopic AI of goat after PMSG injection at 48 hours before CIDR removal. In: *Proc. New Zealand Soc. Anim. Prod.* 48: 69-70.
- Naim, P.; M. Cueto; A. Gibbons. 2009. Inseminación artificial a tiempo fijo con semen ovino refrigerado. *Arch. Zootec.* 58 (223): 435-440.
- Ritar, A.J.; P.D. Ball; P.J. O'May. 1990. Artificial insemination of Cashmere goats: effects on fertility and fecundity of intravaginal treatment, method and time of insemination, semen freezing process, number of motile spermatozoa and age of female. *Reprod. Fertil. Dev.* 2: 377-384.
- Salamon, S.; W.C.M. Maxwell. 2000. Storage of ram semen. *Anim. Reprod. Sci.* 62: 77-111.
- Vallet, J.C.; G. Baril; B. Leboeuf; J. Perrin. 1992. Insémination artificielle intrauterine sous controle laparoscopique chez les petits ruminants domestiques. *Ann. Zootech.* 41: 305-309.

**2012 CONGRESO PERUANO DE REPRODUCCIÓN ANIMAL**  
 Peruvian Congress of Animal Reproduction

**07, 08 y 09 de Agosto, 2012**

Universidad Nacional Agraria La Molina  
 Auditorio Principal  
 Lima - Perú

**SPRA**  
 Asociación Peruana de Reproducción Animal

**Fechas importantes:**  
 Recepción de trabajos: 30 Junio  
 Notificación de resultados: 15 Julio  
 Entrega de posters y ppt: 23 Julio

**Informes e inscripciones:**  
 Telf: (0051. 1) 3011574  
 Cel: 981910404 RPM:981910404  
 info@reproduccionanimal.org  
 www.reproduccionanimal.org

**Speakers:**  
 Alejandro Gibbons, Ph.D. (Argentina)  
 Alexandre Rodrigues Silva, Ph.D. (Brazil)  
 Calogero Sialotta, Ph.D. (Italy)  
 Cesar Ordóñez, M.Sc. (Canada)  
 Jaime Ruiz, D.Sc. (Canada)  
 Juan C. Sampedro, Ph.D. (Canada)  
 Julio Sumar, Ph.D. (Canada)  
 Luiz G. Siqueira, M.Sc. (Brazil)  
 Manuel Perez, D.Sc. (Brazil)  
 María F. Carrotero, V.D.M.V. (Argentina)  
 Pedro S. Baruselli, Ph.D. (Brazil)  
 Roberto Sartori, Ph.D. (Brazil)  
 Silvana Apichela, D.Sc. (Argentina)  
 Susana Giuliano, Ph.D. (Argentina)  
 Teodosio Hazanca, D.Sc. (Argentina)  
 Virginia Trasorras, M.Sc. (Argentina)

