

## INSEMINACION ARTIFICIAL CON SEMEN CONGELADO EN CABRAS DE RAZA ANGORA

Gibbons, A.<sup>1</sup>

### Resumen

Se presenta una revisión de la selección y manejo de los machos donantes de semen, metodología del congelamiento seminal, utilización de la sincronización hormonal de los estros y técnicas de inseminación artificial con semen congelado para la especie caprina y con especial referencia para la raza Angora.

**Palabras clave:** *caprinos, producción seminal, congelamiento de semen, sincronización de estros, inseminación artificial.*

### Artificial Insemination in Angora goats with frozen semen

#### Summary

Selection and management of bucks used for semen production, freezing semen technology, oestrus synchronization, frozen-thawed semen for artificial insemination. are reviewed with special reference to Angora breed.

**Keywords:** *goat, seminal production, freezing of semen, oestrus synchronization, artificial insemination.*

#### Introducción

Un programa de mejoramiento genético animal requiere de una utilización intensiva de los machos superiores, los cuales deben ser evaluados, seleccionados y comparados en su valor genético en diferentes hatos por pruebas con machos de referencia. La producción de Mohair de las cabras de raza Angora puede ser incrementada mediante un programa reproductivo de hembras seleccionadas con machos de nivel genético superior. Sin embargo, la limitación en la utilización de los machos está sujeta a su disponibilidad para el 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 para el mejoramiento genético, 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. Su implementación en programas de mejoramiento genético en caprinos estaría indicada como una metodología viable para lograr un amplio impacto en el incremento de la producción del sistema extensivo de Mohair en el norte de la Patagonia.

#### Fisiología reproductiva del macho y selección de reproductores

Los machos de la raza Angora presentan una actividad reproductiva muy estacional en respuesta al fotoperíodo que determina cambios en la concentración de hormonas gonadotróficas, andrógenos y en el tamaño testicular (20), condicionando la época de colecta y congelabilidad

---

<sup>1</sup> Grupo de Reproducción Rumiantes Menores, Departamento de Investigación en Producción Animal, EEA Bariloche, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).  
Valle Verde, CC 277, (8400) San Carlos de Bariloche, Río Negro, Argentina. Tel: 0054 2944 422731, Fax: 0054 2944 424991. E-mail: agibbons@bariloche.inta.gov.ar

seminal (18). En el norte de la Patagonia, se extiende este período desde mediados de marzo a mediados de junio.

El inicio de la actividad reproductiva de los machos de esta raza está condicionada por la época de nacimientos (primavera) que determina un desarrollo tardío de la pubertad (18 meses de edad, para un peso vivo medio de 34 kg). A esta edad aún no se ha completado el desarrollo sexual y es frecuente prolongar la recría para incorporarlos en un programa de congelamiento seminal, recién a partir de los 30 meses de edad.

En una primera etapa los machos genéticamente superiores deben ser seleccionados para su futura incorporación a un centro de congelamiento seminal. Se deben eliminar los individuos que presentan problemas de aplomos, anormalidades en el tracto reproductivo, retraso en el desarrollo. En una segunda etapa, al comienzo de su primera estación sexual, se realiza una selección en base a la producción y calidad seminal (15 colectas, 2 por semana).

La producción seminal está condicionada por la raza, factores intrínsecos de cada macho, edad, estación del año, nivel nutricional. Estos factores tienen ingerencia sobre el número de colectas seminales estando supeditadas a la reserva espermática extragonadal, disponible para la eyaculación (2, 5). En comparación con los toros (11) o los carneros (24), los machos caprinos de Angora presentan una menor frecuencia eyaculatoria y por ende se reduce la capacidad de colecta seminal para los programas de congelamiento (21).

Las principales causas de eliminación de machos son: la inaptitud para eyacular en vagina artificial (10%), escaso volumen de eyaculación y baja concentración espermática (15%) y deficiente congelabilidad seminal (25%) (6).

En Francia se utilizan tratamientos con ciclos de fotoperíodo artificial, que permiten obtener una producción constante de semen. Una alternativa es uno a dos meses de días largos (16 horas de luz y 8 horas de oscuridad) y luego uno a dos meses de días cortos (8 horas de luz y 16 horas de oscuridad). Esta técnica ha permitido aumentar en 3 años la producción de dosis de semen en un 61% con respecto a animales testigos (8).

### **Obtención y congelamiento seminal**

El semen es colectado por vagina artificial en presencia de una cabra en estro inducido mediante un tratamiento estrogénico (Ej. Valerato de estradiol 1mg IM). Los machos caprinos, no presentan por lo general mayores dificultades de entrenamiento a la colecta seminal con vagina artificial. En esta especie no es habitual el uso de la electroeyaculación; técnica que induce a un aumento del plasma seminal y que ha sido mencionado como detrimental para la conservación del semen (13). En general, el programa semanal de congelamiento consta de 5 días de una colecta diaria por animal con un descanso de 48 horas. Esto permite la obtención de un eyaculado de alta concentración, volumen y un efecto positivo sobre la congelabilidad, lográndose una producción eficiente de dosis seminales.

La congelación de semen en la especie caprina presenta las dificultades comunes de otras especies, como son las alteraciones bioquímicas, funcionales y a nivel de ultraestructura espermática, que resultan en una reducción de la motilidad, viabilidad, transporte y fertilidad del semen congelado. Los primeros trabajos de congelamiento se realizaron en la década del '50 (1, 25) en base al proceso utilizado en el bovino, sin embargo los resultados de fertilidad fueron muy variables. Los trabajos de Corteel (3) demostraron la ventaja que presentaba la dilución (1:10) en solución de Krebs-Ringer Fosfato buffer y posterior reconcentración seminal, mediante centrifugación (10 a 15 minutos a 600,1.000 G), al que se denomina como "lavado seminal".

El semen caprino presenta, como característica particular, un contenido enzimático proveniente de las glándulas bulbouretrales, denominada enzima coaguladora de la yema de huevo (EYCE). Esta enzima es una fosfolipasa A que hidroliza la lecitina del diluyente en base de yema de huevo, en ácidos grasos y lisolecitina (23), afectando esta última la viabilidad espermática. Otro factor es una fracción glicoproteica del plasma seminal (SBU111), cuyo origen son las glándulas

bulbouretrales, que interacciona con el diluyente (leche) provocando inhibición de la motilidad, ruptura del acrosoma y muerte celular espermática (14). Para evitar estos efectos perjudiciales se realiza el lavado seminal, como medida previa al agregado del diluyente (base leche o yema), para incrementar el porcentaje de espermatozoides vivos y su motilidad previa y posterior al congelamiento (3). Sin embargo Ritar y Salamon (18) no consideran importante realizar el lavado seminal cuando se utiliza 1,5% de yema de huevo en diluyente en base a Tris, disminuyendo el tiempo del proceso de congelamiento y la pérdida de espermatozoides.

La evaluación inicial para el proceso de congelamiento del semen recolectado por vagina artificial, comprende la determinación de su motilidad masal microscópica, volumen y concentración espermática. La determinación subjetiva de la motilidad masal deberá ser mayor o igual a 4 (escala 0-5), o se procede a la eliminación del eyaculado. Los valores medios de volumen y concentración espermática para la raza Angora son 0,9 cc y  $2,9 \times 10^9$  espermatozoides/ml, respectivamente, ambos determinan el número de dosis seminales que se pueden obtener.

Los diluyentes utilizados para la congelación de semen deben reunir los siguientes requisitos:

- 1) Componente tampón (Tris, Citrato de sodio).
- 2) Fuente energética (glucosa, fructuosa).
- 3) Crioprotector externo (leche, yema de huevo).
- 4) Crioprotector interno (lactosa, glicerol).
- 5) Antibiótico (penicilina, estreptomocina).

Los diluyentes más utilizados son la combinación de leche descremada, glucosa y glicerol (4) y Tris, glucosa, ácido cítrico, yema y glicerol (18).

Según las distintas técnicas, se puede realizar la dilución 1:10 en solución salina (lavado seminal), en dos tiempos de 10 minutos, con centrifugación y eliminación del sobrenadante. Se agrega el volumen de diluyente en base al volumen y concentración del eyaculado, determinándose el número de dosis según la concentración de espermatozoides/dosis de inseminación (200 millones). Se realiza el enfriamiento en 1 a 2 horas hasta 4° o 5°C y el equilibramiento a 5°C durante 45-60 minutos, luego del cual se agrega el glicerol al 7%. En el método de Ritar y Salamon (15), el diluyente en base a tris, yema, glicerol se agrega al semen sin el proceso de lavado. La concentración final de yema de huevo y glicerol recomendable es del 2 y 4%, respectivamente.

El congelamiento se puede realizar en pajuelas (vapores de nitrógeno) o pastillas (goteo sobre hielo seco) para posteriormente conservarlas en termo de nitrógeno líquido. Esta última técnica es rápida, sencilla, y según Ritar y Ball (20), se obtiene una mayor tasa de motilidad seminal post descongelamiento, pero no diferencias significativas en la tasa de fertilidad. Las pajuelas son utilizadas comercialmente debido a que brindan una alta seguridad en la identificación de las dosis seminales.

En general, se recomienda el descongelamiento de las pajuelas a 37°C durante 2 minutos. Las pastillas se descongelan en tubos de ensayo, a igual temperatura hasta su dilución y sin el agregado de diluyente.

La disminución de la motilidad del semen congelado en nitrógeno líquido ha sido informada por Corteel (4) y Ritar y Salamon (18), los cuales hacen referencia a la reducción progresiva de la viabilidad espermática en semen congelado durante 6 meses. Sin embargo, se han logrado tasas de preñez medias al utilizar semen conservado en nitrógeno líquido por períodos de uno a tres años (9).

Una característica importante que se debe considerar es la variabilidad entre machos respecto a la capacidad de resistencia individual al congelamiento seminal (6, 27). La selección a edad temprana de los machos por esta característica, incrementará la eficiencia global del proceso de congelamiento.

### **Sincronización de estros**

La difusión de material genético mediante la inseminación artificial con semen congelado, requiere de una programación de la sincronización de los estros en los hatos. Cabe señalar que la época de los servicios en la Patagonia se restringe a un corto período, por lo que la implementación de los tratamientos de sincronización de estros debe estar acotada a unos 30 días.

Los tratamientos hormonales inducen el estro y la ovulación en base a una combinación de progestágenos, gonadotropina coriónica equina (eCG) y pueden combinarse con análogos de prostaglandinas. Para la raza Angora el tratamiento que utilizamos consiste en la aplicación de esponjas intravaginales de 60 mg de Acetato de Medroxiprogesterona (MAP) durante 17 días y combinado con una aplicación de 100 UI intramuscular de eCG, en el momento del retiro de las esponjas. La detección de celo a corral se realiza a las 24, 36, 48 y 60 horas de retiradas las esponjas.

La inseminación por vía vaginal o laparoscópica se lleva a cabo a las 48 horas en las cabras que presentaron estro a las 24 y 36 horas, y a las 60 horas en las hembras que manifestaron celo a las 48 y 60 horas de retiradas las esponjas. Es decir, en un día se insemina la totalidad de las cabras en estro sincronizado. Esta metodología, la hemos implementado debido a la variabilidad en la manifestación de los estros entre hatos, por razones logísticas para realizar la inseminación y a su vez nos permite un uso más racional del semen congelado.

En Francia, en cabras lecheras se utiliza como progestágeno Acetato de Fluorogestona (45 mg) en un tratamiento corto de 11 días en combinación con 50 µg de cloprostenol y eCG 48 horas previo al retiro de las esponjas (400 a 600 UI según producción y época del año). La inseminación cervical se realiza en forma sistemática (todas las cabras tratadas) entre las 43 a 45 horas de retiradas las esponjas. En Australia, en cabras de pelo, es frecuente el uso de CIDR (dispositivo vaginal), en combinación con eCG (200 UI) al momento de su retiro. La IA cervical se lleva a cabo entre las 36 a 48 horas de retirados los CIDR. La eficiencia de sincronización es similar entre tratamientos y según la raza y la época es recomendable ajustar la dosis de eCG y el momento de su aplicación.

### **Inseminación artificial**

Las dos técnicas que se utilizan para la IA con semen congelado son cervical por vaginoscopía (IAC) e intrauterina por laparoscopia (IAL). A partir de los trabajos de Corteel y Leboeuf (7) se recomienda una dosis para la IAC para cabras lecheras de 100 millones de espermatozoides totales. Ritar y Ball (22) recomiendan una dosis de 120 millones de espermatozoides totales para la raza Angora.

La utilización de la IAL permite una reducción en la concentración espermática a valores de 10 a 40 millones de espermatozoides. Comparativamente según Ritar y col. (17) en la raza Cashmere, con la IAL se incrementa el porcentaje de preñez en un 20% con respecto al valor medio 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%) (26) y en otras razas caprinas (12,17). Nuestro primer trabajo de inseminación artificial con semen congelado en la raza Angora en la Patagonia (10), fue realizado con dosis de 200 millones de espermatozoides en la IAC. 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 40 y 45% (620 cabras) y 46 y 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).

En resumen, 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. El manejo nutricional y sanitario de los hatos debe ser prioritario para obtener resultados satisfactorios. En cuanto a los procesos de obtención, dilución, enfriamiento, equilibramiento y congelamiento seminal, 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 reproductiva global.

### **Bibliografía**

1. Barker, C. A. 1957. Some aspects of artificial insemination in swine and goats. In: Proc. 10 Anm. Conv. National Assoc. Artif. Breeders, Toronto. pp. 127-132.
2. Corteel, J.M. 1967. La reproduction dans l'espece caprine. *Revue la Chevre* 48: 8-12.
3. Corteel, J.M. 1974. Viabilité des spermatozoides de bouc conservés et congelés avec ou sans leur plasma seminal: effet du glucose. *Ann. Biol. Anim., Biochim., Biophys.* 14 (4b): 741-745.
4. Corteel, J.M. 1975. Effet du lavage sur la conservation des spermatozoides de bouc a basse temperature. *Ann. Biol. Anim. Biochim., Biophys.* 15: 525-528.
5. Corteel, J.M., Baril, G., Leboeuf, B., Marcellier, N. 1978. Voies disponibles pour augmenter l'utilisation des meilleurs boucs. 4 Journées de la Recherche Ovine et Caprine INRA ITOVIC, pp. 358-366.
6. Corteel, J.M., Baril, G., Leboeuf, B. 1987. Development and application of artificial insemination with deep frozen semen and out-of-season breeding of goats in France. In: Proc. 4 Int. Conf. Goats. Brasilia vol 1, pp. 523-547.
7. Corteel, J.M., Leboeuf, B. 1990. Evolution technico-économique de l'insémination artificielle caprine. *Rev. Elev. Insemin.* 237: 3-17.
8. Delgadillo, J.A., Leboeuf, B., Chemineau, P. 1993. Maintenance of sperm production in bucks using a third year of short photoperiodic cycles. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 33: 609-617.
9. Fougner, J. A. 1979. Die intrauterine Besamung der Ziege mit tiefgefrorenem Sperma. Drei Jahre praktischer Einsatz. *Zuchthygiene* 14: 104-110.
10. Gibbons, A., Cueto, M., Willems, P. 1992. Inseminación artificial con semen congelado en cabras de raza Angora. sobre los celos concentrados post incorporación del efecto macho. *Revista de Medicina Veterinaria.* 73 (3): 122-128.
11. Hale, E.B., Almquist, J.O. 1960. Relation of sexual behaviour to germ cell output in farm animals. *Journal of Daily Science Supplement* 43: 145-169.
12. Moore, R.W., Miller, C.M., Hall, D.R. 1988. Cervical versus laparoscopic AI of goat after PMSG injection at 48 hours before CIDR removal. In: Proc. New Zealand Soc. Anim. Production vol. 48, pp. 69- 70.
13. Nunes, J. 1982. Etude des effets du plasma séminal sur la survie in vitro des spermatozoides de bouc. These de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie. Paris, 33p.
14. Pellicer, M.T. 1995. Purificación y caracterización del componente de la secreción bulbo uretral de macho cabrío implicado en la calidad de los espermatozoides diluidos en leche. Tesina de Licenciatura. Universidad de Murcia, 200 pp.
15. Ritar, A.J., Salamon, S. 1982. Effects of seminal plasma and its removal and of egg yolk in the diluent on the survival of fresh and frozen -thawed spermatozoa of the Angora goat. *Aust. J. Biol. Sci.* 35: 305-312.
16. Ritar, A.J., Salamon, S. 1983. Fertility of fresh and frozen-thawed semen of the Angora goats. *Aust. J. Biol. Sci.* 36: 49-59.
17. Ritar, A.J., Ball, P.D., O'May, P.J. 1990. Artificial insemination of Cashemere 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.

18. Ritar, A. J. y Salamon, S. 1991. Effects of month of collection, method of processing, concentration of egg yolk and duration of frozen storage on viability of Angora goat spermatozoa. *Small Ruminant Research* 4: 29-37 .
19. Ritar, A.J. 1991. Seasonal changes in LH, androgens and testes in the male Angora goat. *Theriogenology* 36: 959-972.
20. Ritar, A.J., Ball, P.D. 1991. Fertility of young Cashemere goats after laparoscopic insemination. *J. Agric. Sci.* 117: 271-273.
21. Ritar, A.J., Mendoza, G., Salamon, S., White, I.G. 1992. Frequent semen collection and sperm reserves of the male Angora goat (*Capra hircus*). *J. Reprod. Fert.* 95: 97-102.
22. Ritar, A.J., Ball, P.D. 1993. The effect of freeze thawing goat and sheep semen at a high density of spermatozoa on cell viability and fertility after insemination. *Anim. Reprod. Sci.* 31: 249-262.
23. Roy, A. 1957. Egg yolk-coagulating enzyme in the semen and Cowper's gland of the goat. *Nature* 179: 318-319.
24. Salamon, S. 1962. Studies on the artificial insemination of Merino sheep. III. The effect of frequent ejaculation on semen characteristics and fertilizing capacity. *Australian Journal of Agricultural Research* 13: 1137 -1150.
25. Smi~ A.H., Poige, C. 1950. Survival of spermatozoa at low temperatures. *Nature (London)* 166, 688-671.
26. Vallet, J.C., Baril, G., Leboeuf, B., Perrin, J. 1992. Insémination artificielle intrauterine sous controle laparoscopique chez les petits ruminants domestiques. *Ann. Zootech.* 41: 305-309.
27. Watson, P.E 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod. Fertil. Dev.* 7: 871-891.