

Protocolos científicos utilizados cuando se evalúan los nuevos catéteres Absolute comparados con los catéteres tradicionales de esponja

Investigadores

Assist. Prof. Kampon Kaeoket, DVM, MSc, PhD (Pig reproduction) E-mail: vskkk@mahidol.ac.th

Dr. Dusit Laohasinnarong, DVM E-mail: vsdlh@mahidol.ac.th

Faculty of Veterinary Science, Mahidol University, Salaya, Phutthamonthon, Nakorn-pathom, Thailand 73170
Tel: 66 02 4415242 ext 1526 Fax: 66 02 4410937

Objetivos

- Comparar la distribución del semen en la unión úterotubárica y el oviducto (comparando IA e IIU)
- Comparar la tasa de fertilidad (comparación entre IA y la IIU)
- Comparar la tasa de gestación (comparación entre IA y la IIU)
- Comparar la tasa de partos (comparación entre IA y la IIU)
- Comparar el tamaño de la camada (comparación entre IA y la IIU)
- Comparar la dosis de inseminación (1,5 vs 3,0 x 10⁹ espermatozoides)

Diseño experimental

En total, 60 cerdas fueron divididas en 4 grupos (15 cerdas en cada grupo). Fueron adquiridas en una granja comercial y se mantienen en la Universidad de Mahidol.

Grupo-A (15 cerdas): inseminadas utilizando un catéter de esponja clásico con una dosis de 1,5 x 10⁹ espermatozoides.

Gr.-A1 (5 cerdas): sacrificadas para ver la distribución de esperma en el útero y oviducto (5-6 h después de la IA)

Gr.-A2 (5 cerdas): sacrificadas para ver la tasa de fertilidad (3 días después de la IA)

Gr.-A3 (5 cerdas): para ver la tasa de gestación, tasa de partos y tamaño de la camada.

Grupo-B (15 cerdas): inseminadas utilizando un catéter de esponja con una dosis de $3,0 \times 10^9$ espermatozoides

Gr.-B1 (5 cerdas): sacrificadas para ver la distribución del semen en el útero y oviducto (5-6 h después de la IA)

Gr.-B2 (5 cerdas): sacrificadas para ver la tasa de fertilidad (3 días después de la IA)

Gr.-B3 (5 cerdas): para ver la tasa de gestación, tasa de partos y tamaño de la camada

Grupo-C (15 cerdas): inseminadas mediante el uso de un nuevo catéter (el Absolute Σ IU TM) con una dosis de $1,5 \times 10^9$ espermatozoides.

Gr.-C1 (5 cerdas): sacrificadas para ver la distribución del semen en el útero y oviducto (5-6 h después de la IA)

Gr.-C2 (5 cerdas): sacrificadas para ver la tasa de fertilidad (3 días después de la IA)

Gr.-C3 (5 cerdas): para ver la tasa de gestación, tasa de partos y tamaño de la camada-

Grupo D (15 cerdas): inseminadas mediante el uso de un nuevo catéter (el Absolute Σ IU TM) con una dosis de $3,0 \times 10^9$ espermatozoides.

Gr.-D1 (5 cerdas): sacrificadas para ver la distribución del semen en el útero y oviducto (5-6 h después de la IA)

Gr.-D2 (5 cerdas): sacrificadas para ver la tasa de fertilidad (3 días después de la IA)

Gr.-D3 (5 cerdas): para ver la tasa de gestación, tasa de partos y tamaño de la camada

Materiales y Métodos

DetECCIÓN DEL ESTRO Y MONITORIZACIÓN DE LA OVULACIÓN

La detección del estro fue realizada por medio de la inspección de la vulva, enrojecida e inflamada (proestro), como así también el reflejo de inmovilidad en presencia del verraco. La detección del estro fue llevada a cabo dos veces por día.

La ovulación fue seguida cada 8 hs por ecografía transrectal como se describe anteriormente Kaeoket et al., 2002; Kaeoket et al., 2005

Inseminación y sacrificio

Todas las cerdas fueron inseminadas dos veces por la misma persona a las 24 hs y a las 36 hs, después del comienzo del estro con dosis heterospérmica (dos verracos de contrastada fertilidad) conteniendo 1.5×10^9 ó 3×10^9 espermatozoides en 100 ml de BTS (Beltsville Thawing Solution: Pursel y Jonson, 1976). Después de la dilución, el semen fue almacenado a 16-18°C y fue usado dentro de las 48 h utilizando el catéter de esponja tradicional y el nuevo sistema. Las cerdas fueron agrupadas para ser sacrificadas en diferentes grupos.

Grupo-A (15 cerdas): inseminadas utilizando un catéter de esponja con una dosis de $1,5 \times 10^9$ espermatozoides.

Gr.-A1 (5 cerdas): sacrificadas para ver la distribución de esperma en el útero y oviducto (5-6 h después de la IA)

Gr.-A2 (5 cerdas): sacrificadas para ver la tasa de fertilidad (3 días después de la IA)

Grupo-B (15 cerdas): inseminadas utilizando un catéter de esponja con una dosis de $3,0 \times 10^9$ espermatozoides

Gr.-B1 (5 cerdas): sacrificadas para ver la distribución del semen en el útero y oviducto (5-6 h después de la IA)

Gr.-B2 (5 cerdas): sacrificadas para ver la tasa de fertilidad (3 días después de la IA)

Grupo-C (15 cerdas): inseminadas mediante el uso de un nuevo catéter (el Absolute Σ IU™) con una dosis de $1,5 \times 10^9$ espermatozoides.

Gr.-C1 (5 cerdas): sacrificadas para ver la distribución del semen en el útero y oviducto (5-6 h después de la IA)

Gr.-C2 (5 cerdas): sacrificadas para ver la tasa de fertilidad (3 días después de la IA)

Grupo D (15 cerdas): inseminadas mediante el uso de un nuevo catéter (el Absolute Σ IU™) con una dosis de $3,0 \times 10^9$ espermatozoides.

Gr.-D1 (5 cerdas): sacrificadas para ver la distribución del semen en el útero y oviducto (5-6 h después de la IA)

Gr.-D2 (5 cerdas): sacrificadas para ver la tasa de fertilidad (3 días después de la IA)

Los órganos genitales fueron extirpados inmediatamente después del sacrificio. El número de cuerpos lúteos fue contado

Recuperación de los ovocitos y espermatozoides del oviducto por lavado

La técnica del lavado permite una evaluación más precisa del número y la distribución de los espermatozoides en el oviducto, que la observación in situ con un microscopio electrónico de barrido (Mburu et al., 1996). Por ese motivo, la UTT (1 cm de la punta del cuerno uterino y de 1 cm del istmo) fueron lavadas dos veces con 0,5 ml e istmo y ampolla por separado dos veces con 10 ml de un buffer fosfato salino (PBS) a 37 ° C (ambos lados). Todos los lavados se hicieron directamente en frascos de plástico Eppendorf (UTJ) o placas de Petri (istmo y ampolla). Los espermatozoides del lavado de la UTT se fijaron con una solución salina de formaldehído y evaluados bajo el microscopio óptico utilizando un hemocitómetro (cámara de Bürker, ampliación X400). Los ovocitos fueron recuperados bajo una lupa y examinados con un microscopio de contraste de fase invertida (ampliación x200) para detectar la presencia de espermatozoides en la zona pelúcida. El oviducto (istmo y ampolla) de las cerdas también se lavó para recuperar los ovocitos.

Recuperación de ovocitos no fertilizados y ovocitos en división del lavado de los cuernos uterinos

Los cuernos uterinos (20 cm desde la punta de los cuernos) de las cerdas se lavaron dos veces con 20 ml de una solución salina de fosfato buffer (PBS) a 37 ° C y el líquido se recogió en placas de Petri. Los ovocitos fueron aislados y examinados bajo una lupa y un contraste de fase invertido (o microscopio Olympus, Japón; aumento x200), por su morfología y el grado de desarrollo. Un ovocito se consideró como no fertilizado cuando no se observó división. A los ovocitos divididos se los consideró normales cuando un claro espacio perivitelino fue observado y los blastómeros se distribuyeron sin signos de desintegración.

Índice de gestación, índice de partos y tamaño de camada

El diagnóstico de gestación fue realizado entre los días 18-21 después de la inseminación

usando un ecógrafo a tiempo real modelo B.
La tasa de partos y el tamaño de camada fueron también registrados.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante el uso del programa SAS (1989). El PROC FREQ (Prueba exacta de Fisher de dos colas) se utilizó para comparar la distribución de los espermatozoides, el número de ovocitos con espermatozoides accesorios a la zona pelúcida y ovocitos fecundados entre el catéter de esponja y el nuevo IUI catéteres.

Bibliografía

- Mburu, J.N., Einarsson, S., Lundeheim, N., Rodriguez-Martinez, H., 1996. Distribution, number and membrane integrity of spermatozoa in the pig oviduct in relation to spontaneous ovulation. *Anim. Reprod. Sci.* 45, 109-121.
- Kaeoket, K., Persson E., Dalin A.-M., 2002. The influence of pre- and post- ovulatory insemination on sperm distribution in the oviduct, accessory sperm to the zona pellucida, fertilisation rate and embryo development in sows. *Anim. Reprod. Sci.* 71, 239-248.
- Kaeoket, K., Tantasuparuk, W, Kunavongkrit, A. 2005. The effect of post- ovulatory insemination on the subsequent oestrous cycle length, embryonic loss and vaginal discharge in sows. *Reprod. Dom. Anim.* 40, 492-494.